

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

На правах рукописи

Шуганов Александр Евгеньевич

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ
У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ**

14.01.04 – Внутренние болезни.
Диссертация на соискание ученой степени
Кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

д.м.н., профессор,
член-корреспондент РАН
Палеев Филипп Николаевич

Научный консультант:

д.м.н., профессор
Салмаси Жан Мустафаевич

Москва 2018 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4.
Глава I. Обзор литературы	
1. Воспаление и его значение для организма.....	10.
2. Апоптоз как общебиологический механизм гибели клеток.....	11.
3. Воспаление и иммунная реактивность организма.....	13.
4. Хроническая обструктивная болезнь легких у взрослых.....	17.
4.1. Классификация.....	18.
4.2. Факторы риска.....	19.
4.3. Оксидативный стресс в патогенезе ХОБЛ.....	20.
4.4. Роль воспаления в патогенезе ХОБЛ.....	24.
5. Терминология, патофизиология особенности бронхиальной астмы.....	28.
5.1. Классификация.....	29.
5.2. Факторы, способствующие возникновению БА.....	30.
5.3. Роль воспаления в патогенезе БА.....	34.
6. Сравнительная характеристика БА и ХОБЛ.....	36.
Глава II. Материал и методы исследования.	
2.1. Общая характеристика больных с ХОБЛ.....	41.
2.2. Клиническая характеристика больных.....	42.
2.3. Сопутствующая патология.....	43.
2.4. Исходные показатели инструментальных методов исследования.....	44.
2.5. Медикаментозное лечение	44.
2.6. Клиническая характеристика больных с БА, критерии включения и исключения пациентов в исследование.....	46.
2.7 Методы исследования.....	48.
2.7.1. Исследование функции внешнего дыхания.....	48.
2.7.2. Иммунологические методы.....	49.
2.7.3.Выделение лимфоцитов.....	50.
2.7.4.Определение относительного и абсолютного содержания в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD3, CD4, CD8,	

CD72, CD25, CD71, HLA-DR, CD23, CD95 с помощью моноклональных антител в реакции непрямой иммунофлюоресценции.....	51.
2.8. Перекисное окисление липидов (ПОЛ).....	53.
2.8.1. Определение содержания в эритроцитах гидроперекисей липидов...53.	
2.8.2. Определение устойчивости эритроцитов к гемолизу и концентрации в них малонового диальдегида (МДА).....	54.
2.8.3. Определение активности супероксиддисмутазы (СОД).....	55.
2.8.4. Определение активности глутатионпероксидазы (ГП).....	56.
2.9. Статистические методы обработки полученных растворов.	57.
Глава III. Результаты собственных исследований.	
3.1. Анализ активационного профиля лимфоцитов у больных ХОБЛ 2 стадии в период ремиссии и обострения.....	58.
3.1.1. Характеристика поверхностных рецепторов лимфоцитов у больных ХОБЛ 2 стадии в период ремиссии и обострения.....	59.
3.1.2. Характеристика активационных антигенов лимфоцитов больных ХОБЛ 2 стадии.....	67.
3.1.3. Роль курения в патогенезе хронического воспаления у больных ХОБЛ на начальном этапе заболевания.....	76.
3.2. Сравнительная характеристика поверхностных рецепторов лимфоцитов у больных ХОБЛ и БА.....	83.
3.3. Сравнительная характеристика активационных антигенов лимфоцитов у больных ХОБЛ и БА.....	91.
Заключение.....	101.
Выводы.....	113.
Практические рекомендации.....	114.
Иммунологический алгоритм.....	115.
Список сокращений.....	116.
Список литературы.....	119.

Введение

Актуальность темы:

В настоящее время бронхиальная астма (БА) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относятся к числу наиболее распространенных болезней и занимают одно из ведущих мест по числу дней нетрудоспособности, инвалидизации и смертности, приводящей к значительному экономическому и социальному ущербу [8,9,33,315,312].

По прогнозам многих авторов в ближайшие десятилетия ожидается значительное увеличение частоты “болезней экологии”, к которым относятся ХОБЛ и БА, детерминированные неблагоприятным воздействием природных и антропогенных факторов окружающей и производственной среды [39,122,125,126]. Активность системного воспаления и степень его выраженности – важные характеристики при хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астме, его точная оценка позволяет решать задачи контроля за течением болезни и определять показания к патогенетической терапии [189,261,265,309]. До настоящего времени не сложилось пока четкого представления о патологическом процессе, происходящем в дыхательных путях при ХОБЛ и БА, нет объяснений причин персистирующего воспаления, что затрудняет до конца понять не только патогенез заболевания, но и пути эффективного лечения и определения прогноза заболеваний [41,42,152,157,247,251]. Многочисленные попытки выявить универсальные критерии воспалительного процесса при хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астме не увенчались успехом [193,228,277]. В настоящее время существенную роль в инициации, формировании и поддержании хронического воспаления при этих заболеваниях отводят нарушениям адаптивного иммунного ответа, оценить которые можно изучая экспрессию лимфоцитами активационных маркеров и мембранных иммуноглобулинов [87,90,96,127,128,144,146,147,149].

Исходя из изложенного, представляется актуальным проведение комплексного анализа клинических, функциональных и иммунологических показателей, в частности, активационного профиля субпопуляций лимфоцитов в периферической крови у больных с хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмы в период обострения и ремиссии для возможности дальнейшей оптимизации диагностических и лечебных мероприятий.

Цель исследования:

Разработать новые подходы в оценке активности и прогрессирования воспаления у больных ХОБЛ и БА на основе полученных клинико-иммунологических показателей и проведения дифференциальной диагностики этих заболеваний.

Задачи исследования:

1. Изучить функциональные характеристики лимфоцитов периферической крови у больных ХОБЛ и БА.
2. Оценить роль нарушения апоптоза в патогенезе ХОБЛ и БА.
3. Определить наиболее информативные клинико-иммунологические параметры, характеризующие особенность воспаления у больных ХОБЛ и БА и разработать иммунологический алгоритм дифференциальной диагностики этих заболеваний.
4. Оценить роль курения в патогенезе бронхиального и системного воспаления на ранних стадиях ХОБЛ

Научная новизна:

Впервые проведено изучение широкой панели поверхностных маркеров иммунокомпетентных клеток (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD23, CD25, CD54, CD56, CD71, CD72, HLA-DR, CD95, мембранные иммуноглобулины mIgM и mIgG), включающей как маркеры популяций и субпопуляций лимфоцитов, так и маркеры их активации при ХОБЛ и БА.

Впервые проведен репрезентативный количественный анализ поверхностных маркеров лимфоцитов, включающий изучение активационных маркёров и маркеров апоптоза лимфоцитов у больных ХОБЛ и БА.

Впервые показано увеличение содержащихся в крови у больных ХОБЛ цитотоксических лимфоцитов, НК – клеток и клеток адгезии как в период обострения, так и во время ремиссии. Доказано, что у больных ХОБЛ персистирующее воспаление сопровождается менее высокой готовностью лимфоцитов периферической крови к развитию апоптоза, независимо от активности клинических проявлений болезни.

Уточнена роль курения в развитии «оксидантного» стресса у больных ХОБЛ на ранних стадиях болезни, его связь с выявленными системными, иммунологическими нарушениями при этом заболевании.

Научно-практическая значимость:

Выполненное исследование позволит расширить представления о причинах персистирующего воспаления при хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астме. Поскольку нарушение апоптоза клеток, участвующих в развитии воспаления, считается одной из причин хронизации процесса, решение вопроса о ведущих механизмах апоптоза в лимфоцитах периферической крови имеет принципиальное значение, как для дальнейших медико-биологических исследований, так и для клинической практики при ХОБЛ и БА.

Выявленные различия в показателях иммунной системы могут быть использованы как в дифференциальной диагностике, так и для определения «иммунологической» ремиссии при ХОБЛ и БА. Предложен алгоритм дифференциальной диагностики этих заболеваний. Это позволит более точно и патогенетически оправданно проводить медикаментозную и иммунокорректирующую терапию у больных ХОБЛ и БА.

В ходе исследования уточнена роль курения в развитии «системного» воспаления на ранних стадиях болезни у больных ХОБЛ.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Имеются существенные различия в содержании поверхностных антигенов лимфоцитов в крови БА и ХОБЛ - при последней повышено содержание в крови цитотоксических CD 8 и NK- клеток. Значительное их увеличение при ХОБЛ свидетельствуют об активном иммунологическом процессе не только в период обострения, но и ремиссии.

2. У больных ХОБЛ и БА, независимо от стадии заболевания, сохраняется повышенное содержание в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих ранние маркеры активации.

3. У больных ХОБЛ и БА имеется высокая иммунологическая активность

В-клеточного звена иммунитета, что является отражением постоянно поддерживаемого процесса антигенной стимуляции при хроническом течении болезни.

4. Для ХОБЛ характерен невысокий уровень апоптоза из-за низкого содержания лимфоцитов, экспрессирующих FasL-антиген.

5. На начальных этапах в развитии воспаления дыхательных путей при ХОБЛ у курящих больных преобладает роль «оксидативного стресса» и отсутствуют данные о вкладе курения в «адаптивный» иммунный ответ.

Апробация работы:

Диссертационная работа была апробирована на совместном заседании секции «Терапия» Ученого совета и кафедры терапии ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского 10.10.17 г.

Основные положения диссертации были изложены на Международной научно-практической конференции (Польша, 2014), 23-ем Международном конгрессе (Валенсия, Испания, 2014).

Внедрение в практику результатов исследования:

Полученные результаты внедрены в практическую деятельность отделения профпатологии и ВТЭ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского и в ГБУЗ «Клинико-диагностическом центре № 4 ДЗ г. Москвы»

Объем и структура работы:

Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, результатов собственных данных, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературных источников, включающих 131 отечественных и 181 зарубежных источников. Диссертация содержит 10 таблиц, 17 рисунков.

Глава 1. Обзор литературы

1. Воспаление и его значения для организма.

Воспаление при ХОБЛ и БА патологический процесс, который развивается при повреждении тканей и проявляется нарушением кровообращения и соединительной ткани в виде альтерации, экссудации и пролиферации [84,206,208].

В этот, преимущественно местный, процесс в той или иной мере вовлекается весь организм и, прежде всего иммунная система [49,79,151,174].

Предполагают, что возможно, обнаруженные лимфоидные фолликулы в легких, могут формироваться в результате адаптации иммунной системы на микробную колонизацию, развивающуюся при обострении на поздних стадиях ХОБЛ, БА [143,146,148,152].

Из множества патогенетических механизмов воспаления можно выделить несколько, имеющих решающее значение, определяющих начало процесса, его развитие и исход: [119,162].

- 1) повреждение от действия патогенного агента (первичная альтерация);
- 2) выброс из клеток и образование биологически активных веществ — медиаторов воспаления, освобождение и активация лизосомальных ферментов, действие их на биологические макромолекулы (вторичная альтерация);
- 3) нарушение микроциркуляции, повышение проницаемости стенки сосудов, экссудация;
- 4) размножение клеток (пролиферация);
- 5) ликвидация дефекта;

При ХОБЛ и БА гомеостаз ткани легких и восстановление ее при повреждении зависят от комплекса механизмов, включая апоптоз, удаление апоптозных клеток и восстановление клеточного пула [88,89,92,273]. Показано,

что при нарушении этих механизмов возможно развитие эмфиземы легких. Этот механизм доказан в эксперименте – при внутриперитонеальном введении мышам каспазы – 3, играющую ведущую роль в развитие апоптоза, обнаружено повышение апоптоза альвеолярного эпителия с последующим расширением альвеолярного пространства [138, 273, 296].

«Оксидативный стресс» также может оказывать влияние на уровень апоптоза. Так, высокий уровень оксидантов является триггером апоптоза, тогда как низкие концентрации активных форм кислорода являются медиаторами клеточной пролиферации [293,294,296,297]. О роли «оксидантного стресса» в патогенезе таких заболеваний, как ХОБЛ и БА, указывают ряд авторов [119,259,261].

2. Апоптоз как общебиологический механизм гибели клеток.

Апоптоз, часто называемый физиологической гибелью клетки, является энергетически активным, генетически контролируемым процессом, который служит для элиминации дефектных или поврежденных клеток [46,106,122,257]. Апоптоз способствует сохранению порядка и нормального функционирования биологической системы, очищая от невостребованных клеток (закончивших свой жизненный цикл или появившихся в результате мутаций потенциально опасных клеток) и представляет собой фундаментальный процесс поддержания гомеостаза: как увеличение, так и уменьшение уровня апоптоза ведут к нарушению гомеостаза и развитию различных заболеваний [81,108,109,111].

Клетка или самостоятельно запускает программу собственной гибели при определенных условиях (внутренний путь апоптоза или митохондриальный), или индуцируется извне (внешний или рецепторно-опосредованный путь апоптоза) [49,58,142,143,164,184]. Процесс апоптоза проходит в три стадии: [183,201,202,237,303]

Первая стадия характеризуется морфологическими изменениями самой клетки. При этом происходит уменьшение объема клетки, уплотнение органелл и конденсация цитоплазмы, расширение цистерн гладкого эндоплазматического ретикулума. Далее наблюдается уменьшение размеров клеточного ядра, конденсация хроматина в виде глыбок по периферии ядра, дезинтеграция ядра с диссоциацией транскрипционного комплекса из фибриллярного центра. Нарушаются связи клетки с соседними клетками вследствие утраты специализированных поверхностных структур: микроворсинок и контактных зон [281,282].

Вторая стадия завершается формированием апоптозных телец, неоднородных по своему составу, содержащих фрагменты ядра и цитоплазмы с интактными органеллами [287].

На третьей стадии *in vivo* апоптотические тельца мгновенно распознаются и фагоцитируются либо макрофагами, либо соседними клетками. Благодаря данному механизму элиминации клеток, вступивших на путь апоптоза, воспалительная реакция *in vivo* отсутствует [303].

Апоптоз тесно связан с событиями клеточного цикла. В организме апоптоз в основном имеет место в пролиферирующих тканях и его наличие связывают с индукцией ассоциированных с пролиферацией генов. Клетки, вступившие на путь апоптоза, наиболее часто находятся на поздней стадии G1 или ранней стадии S фазы. При этом апоптоз запускается при связывании антигенов с рецепторами, при недостаточном количестве факторов роста или за счет активации p53. Арест на стадии G1 или ранней S1 подавляет апоптоз, несмотря на влияние различных факторов; в то же самое время арест клеточного цикла на стадии поздней G1 или S фазы может ускорить или потенцировать апоптоз. Все вышесказанное подразумевает, что в позднюю стадию G1 и S фаз имеются определенные молекулы и их активность способствует развитию апоптоза [183,273].

3. Воспаление и иммунная реактивность организма.

Между выраженностью основных признаков воспаления и силой раздражителя имеется определенная зависимость: с повышением агрессивности флогогенного фактора усиливается и ответ. Однако известно, что такая зависимость наблюдается далеко не всегда. Один и тот же возбудитель у разных людей может вызывать совершенно разную реакцию. Если реакция организма не выходит за пределы наблюдаемой наиболее часто, то такое воспаление называют нормэргическим. Если воспалительный агент вызывает лишь слабую затяжную реакцию с преобладанием альтерации, то воспаление является гипоэргическим. Это наблюдается, например, при голодании. Однако в некоторых случаях воспаление протекает настолько бурно, что возникает несоответствие между силой раздражителя и ответной реакцией (местной и общей) организма. Такое воспаление называют гиперэргическим. Его особенность заключается в том, что оно развивается на «иммунной (аллергической) основе» [108,109,110,111].

Как было сказано выше, комплекс антиген—антитело может стать флогогеном. Это возможно в случаях, когда в сенсibilизированный организм попадает, казалось бы, индифферентный агент, например лошадиная сыворотка, которая может вызвать бурную ответную реакцию с явлениями некроза. Такое воспаление сочетается с индукцией гиперчувствительности немедленного или замедленного типа [48,49].

Воспаление на фоне гиперчувствительности замедленного типа развивается вследствие того, что в ткани, содержащей антиген (или аутоантиген), скапливаются Т-лимфоциты-киллеры, повреждающие клетки своими лимфокинами [67]. Т-хелперы (CD3+ CD4+) - субпопуляция лимфоцитов, несущая на своей мембране молекулу CD4 и способная узнавать комбинацию из антигена и молекул МНС класса II на поверхности макрофага и связываться с ней. CD4+ Т-клетки продуцируют разнообразные растворимые факторы – цитокины [243]. Биологические эффекты, опосредованные цитокинами: активация

макрофагов, стимуляция пролиферации цитотоксических Т-лимфоцитов, стимуляция пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов, регуляция синтеза антител [192]. По способности вырабатывать разные цитокины и участвовать в регуляции клеточного и гуморального иммунитета Т-хелперы подразделяются на Т-хелперы первого и второго типа (Th1 и Th2). Th1 вырабатывают преимущественно интерферон гамма и интерлейкин-2, а Th2 секретируют интерлейкин-4, интерлейкин-5, интерлейкин-6 [302].

Значительное количество заболеваний легких сопровождается воспалительными процессами [67]. Некоторая часть исследователей относят этот процесс к приспособительным реакциям, имеющим относительную целесообразность, однако большинство специалистов считает этот процесс, локально развивающейся, защитно-приспособительной реакцией организма, направленной на поддержание гомеостаза. Биологический смысл сопряжения до иммунных стадий воспаления с иммунологически опосредованными реакциями заключается в отграничении собственного структурно измененного антигена или проникшего извне повреждающего патогенного фактора с последующим устранением последствий [58]. Поэтому конечный результат воспаления существенно зависит от иммунного ответа [154]. Воспаление как патологическая реакция не развивается при эффективной иммунной ответной реакции [155]. При этом межклеточные взаимодействия лежащие в основе иммунного ответа находятся под генетическим контролем [60,158].

Запуск адаптивного иммунного ответа состоит в локальном восприятии антигена антигенпрезентирующими клетками и его доставке в региональные лимфоидные органы, взаимодействия и активации антигенспецифических клонов рециркулирующих лимфоцитов в регионарном лимфоидном органе, презентация антигенов в антигенпрезентирующей клетке Т-хелперным клеткам и выбору пути дифференцировки CD4⁺-лимфоцитов в направлении Th1 или Th2 ответа [195]. Недостаточность адаптивного иммунитета вызывает осложнения заболеваний в связи с развитием воспалительного процесса [195,196]. Неблагоприятное течение неспецифического воспаления, например может, проявляется в гнойном характере

процесса с преобладанием миграции нейтрофилов в очаг воспаления. Количество Т-лимфоцитов CD28⁺ в очаге воспаления увеличивается пропорционально величине инфильтрата и коррелирует с продолжительностью воспалительного процесса [223]. Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺ CD8⁺) осуществляют в организме функции антигенспецифической цитотоксичности. Т-клеточный рецептор этих лимфоцитов распознает свой антиген в комплексе с молекулами МНС-I на мембране клеток собственного организма, которые принято называть клетками-мишенями. Цитотоксические Т-лимфоциты несут функции уничтожения собственных клеток, зараженных вирусами, опухолевых клеток и др. [50].

Роль CD8-лимфоцитов в инфекционных процессах подробно исследована в целом ряде работ последних лет, где установлено, что эта субпопуляция лимфоцитов контролирует устойчивость к вирусным и многим внутриклеточным бактериальным патогенам. Все этапы иммунного ответа на инфекцию изучены недостаточно, однако в некоторых случаях возникает возможность выделить главные факторы инфекционной резистентности [273]. В их числе CD4⁺-лимфоциты и В-лимфоциты (В-лимфоциты - вторая основная популяция лимфоцитов). Эти клетки составляют 10-15% лимфоцитов крови, 20-25% клеток лимфатических узлов [94]. В-лимфоциты выполняют в организме две роли: обеспечивают продукцию антител и участвуют в представлении антигенов Т-лимфоцитам. В-лимфоциты обладают поверхностными рецепторами для антигенов, представляющих собой молекулы иммуноглобулинов, чаще всего классов D и M, фиксированные на их наружной мембране [94,100]. На поверхности одного В-лимфоцита находится 200-500 тыс. молекул одинаковой специфичности. После взаимодействия рецептора с антигеном В-лимфоциты дифференцируются в плазматические клетки, секретирующие иммуноглобулины, связывающие именно эти антигены, но не CD8⁺-клетки [223]. Результаты ряда исследований свидетельствуют, что воспалительные инфекционные процессы протекают неблагоприятно в случае изменения содержания популяционного и субпопуляционного состава Т-лимфоцитов, а также недостаточности их

функциональной активности [100]. Как функциональная активность лимфоцитов (включая их способность к миграции и контактным взаимодействиям) так их количественный состав зависят от медиаторов воспаления и цитокинов [101,151,203]. При воспалении важно также соотношение или индекс $CD4^+/CD8^+$ - соотношение Т-хелперов к цитотоксическим Т-лимфоцитам (в норме составляет в среднем 1,5 - 2,0). На разных этапах нормально текущего воспалительного процесса количество Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов в крови меняется, но так, что их соотношение не становится ниже 1. При тяжелом течении воспалительного процесса соотношение Тх/ЦТЛ может упасть ниже единицы. Подобное падение вызывается преимущественным повышенным образованием, дифференцировкой, особенностями циркуляции лимфоцитов в кровотоке (уходом к воспалительному очагу или в лимфоузлы Т-лимфоцитов той или иной субпопуляции) [50,106]. Апоптоз Т-лимфоцитов вызывает также добавление культуральной среды инфицированных макрофагов. В некоторых случаях стратегия развития патогенного фактора не вызывает понижения содержания Т-лимфоцитов, но снижает уровень их функциональной активности. $CD4^+$ -лимфоциты подвергаются апоптозу непосредственно в ткани лимфатических узлов [49,225].

Главный механизм регуляции численности периферических Т-лимфоцитов заключается в их активационно-индуцированной клеточной гибели. Необходимые для этого процесса молекулы FasL экспрессируются совместно с TNF-а и перфорин-гранзим В [9,228,231,232]. В ряде исследований установлено, что источником FasL необходимого для процесса активационного апоптоза Т-лимфоцитов являются активированные В-лимфоциты [230,232,233]. На основе этих данных можно обосновано предположить, что состояние интенсивной В-лимфоцитарной активации, которая часто регистрируется в ходе развития воспаления, представляет собой не только фактор адаптивного иммунитета но и необходимое условие для торможения иммунологической ответной реакции [227,246,248,280].

Анализ данных литературы позволяет выделить несколько ведущих механизмов подавления иммунного ответа при воспалительном процессе:

1) Поступление патогена в организм вызывает апоптотическую элиминацию CD4-лимфоцитов по двум основным механизмам: путем прямой активации апоптоза хелперно-индукторных лимфоцитов и апоптоза опосредованного через их взаимодействие с инфицированными АПК (макрофагами и дендритными клетками) [253, 280].

2) В случае отсутствия прямого или опосредованного апоптоза CD4-лимфоцитов под влиянием патогена можно обнаружить иммунологические нарушения, состоящие в ингибировании экспрессии активационных антигенов либо в дискоординации их экспрессии. Недостаточная или несвоевременная экспрессия активационных антигенов вызывает иммунологическую недостаточность, хронизацию воспаления и в свою очередь ведет к усилению элиминации лимфоцитов [248]. Все эти различные в своей основе механизмы могут приводить к сходным иммунологическим проявлениям, в числе которых: нарастающий дефицит хелперно-индукторных лимфоцитов периферической крови, высокий уровень экспрессии активационных антигенов и преобладание готовности лимфоцитов к Fas-опосредованному апоптозу [285,286].

4. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) - экологически опосредованное хроническое воспалительное заболевание органов дыхания, развивающееся под воздействием вдыхаемых поллютантов (патогенных частиц и газов, чаще всего табачного дыма) [1,188,261]. В результате воспалительной реакции поражаются преимущественно дистальные отделы дыхательных путей, паренхима легких с формированием эмфиземы; что приводит к ограничению воздушного потока с развитием лишь частично обратимой бронхиальной обструкции [165,200,209]. Болезнь развивается у предрасположенных лиц в

результате воздействия факторов риска и имеет неуклонно прогрессирующий характер с серьезными внелегочными проявлениями [2,10,12,34,167,189,288].

4.1 Классификация.

ХОБЛ — самостоятельная нозологическая форма, имеющая соответствующую стадийность, причем для каждой из стадий характерна соответствующая динамика клинических, функциональных и морфологических характеристик [75].

Рекомендуемая классификация ХОБЛ по степени тяжести с выделением 4 стадий приведена в соответствии с последней версией международной программы «Глобальная инициатива по хронической обструктивной болезни легких (GOLD 2016).

Поскольку основной характерной чертой ХОБЛ является прогрессирование болезни, которое проявляется неуклонным нарастанием бронхиальной обструкции, вызывающей усугубляющуюся дыхательную недостаточность, то во всем мире используются классификационные принципы, основанные на определении степени тяжести заболевания по данным спирометрии, полученных после бронходилатационного фармакологического теста с 400 мкг вентолина. И это имеет принципиальное значение, поскольку именно тяжесть заболевания определяет объем и качество лечебного вмешательства [1,16,19,275].

Классификация ХОБЛ по степени тяжести (GOLD 2016):

1. Легкая: $ОФВ_1 / ФЖЕЛ < 70\%$, $ОФВ_1 > 80\%$ от должных величин, хронический кашель с продукцией мокроты, редко, может и не быть.
2. Средняя: $ОФВ_1 / ФЖЕЛ < 70\%$, $50\% < ОФВ_1 < 80\%$ от должных величин, хронический кашель с продукцией мокроты, одышка при физических нагрузках, но не всегда.

3. Тяжелая: $ОФВ_1/ ФЖЕЛ < 70\%$, $30\% < ОФВ_1 < 50\%$ от должных величин, хронический кашель с продукцией мокроты, одышка при средних физических нагрузках.
4. Крайне тяжелая: $ОФВ_1/ ФЖЕЛ < 70\%$, $ОФВ_1 < 30\%$ от должных величин или $ОФВ_1 < 50\%$ от должных величин в сочетании с ДН. Для этой степени болезни характерна одышка при небольших физических нагрузках, приступы одышки в покое и усиление ее при небольших физических нагрузках. Выявляются признаки дыхательной недостаточности, возможны симптомы легочного сердца.

Как видно из представленной классификации на начальных стадиях заболевания клинических симптомов крайне мало, и пациенты продолжают курить, не обращаясь к врачу для обследования и лечения. В связи, с чем диагноз ХОБЛ ставится, как правило, на 3-4 стадии, крайне редко на 2-ой, когда процесс обструкции дыхательных путей становится существенным (менее 60% от нормы от FEV1) [21,76]. В период обострения болезни у пациентов не зависимо от стадии болезни появляется продуктивный кашель и приступообразная одышка (удушье), что создает определенные трудности при интерпретации диагноза и к ошибочному диагнозу астмы [11,17,152,252].

4.2. Факторы риска.

Основным известным фактором риска при ХОБЛ является активное и пассивное курение, 90% больных ХОБЛ курящие, при этом индекс курения составляет не менее 20 п/лет. [15,293]. Кроме курения (как активного, так и пассивного), в генезе ХОБЛ определенную роль играют загрязнение атмосферы выхлопными автомобильными газами и отходами современных производств, воздействие вредных пылевых частиц и газов, в условиях производства (профессиональный фактор), загрязнение воздуха жилых помещений (табачным

дымом и продуктами сгорания природного газа) [6,12,36]. К факторам риска развития ХОБЛ относятся и частые и тяжелые бронхолегочные заболевания в детском возрасте, наследственная предрасположенность к болезни, низкий социально-экономический статус [53,54,80,167].

Согласно проведенным длительным наблюдениям у 15% больных с БА с течением времени при наличии факторов риска (например, курение) появляется частично необратимая обструкция (GOLD,2016), что позволяет внести в список факторов риска ХОБЛ и гиперреактивность бронхов [70,72]. Кроме этого инфекции (вирусные и бактериальные) могут вносить свой вклад в патогенез и прогрессирование ХОБЛ, т.к. бактериальная колонизация, не только вызывает обострение ХОБЛ, но и поддерживает процесс воспаления в дыхательных путях [18,24,26,103,115]. Наибольший риск быстрого прогрессирования ХОБЛ отмечены у женщин, злоупотребляющие курением [181,279].

4.3.Оксидативный стресс в патогенезе ХОБЛ.

Нарушение баланса в системе оксиданты – антиоксиданты выражается в избыточной продукции активных форм кислорода (АФК) и недостаточности антиоксидантной защиты.

Свободные радикалы и АФК в основном образуются при последовательном присоединении электронов к кислороду и в процессе свободно радикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) [29,30,77]. Реализацию своего действия оксиданты осуществляют при участии ионов Fe в качестве катализатора.

К экзогенным оксидантам относятся: оксид водорода, ингаляционный кислород, гипохлорид, окись азота, озон, диоксиды азота и серы – они содержатся в загрязнённом воздухе, табачном дыме, промышленных выбросах и выхлопных газов. Органы дыхания в силу своей анатомии и физиологии подвержены постоянному воздействию экзогенных аэрополлютантов. Первоначальной

реакцией на ингаляцию поллютантов является гиперсекреция вязкой бронхиальной слизи, направленная на защиту слизистой оболочки воздухоносных путей. Однако увеличение и объема бронхиального секрета со временем затрудняет его выведение. Это создает благоприятные условия для колонизации дыхательных путей микроорганизмами и усиление воспалительного процесса [29,68].

К эндогенным источникам оксидантов относятся фагоциты (преимущественно нейтрофилы, альвеолярные макрофаги, эозинофилы). Под действием факторов риска (курение и т.д.) запускается патогенный механизм воздействия нейтрофилов, т.е. вырабатывается большое количество свободных радикалов, обладающих мощным повреждающим действием [45,283]. Стимулированный фагоцит (нейтрофил) продуцирует супероксиды O_2^+ ; O_3 , который образует H_2O_2 . Из них образуется более сильные окислители – гидроксил, гипохлорит, пероксинитрит [29,30,45]. В норме одним из мест депонирования нейтрофилов являются посткапиллярные венулы легких. При действии факторов агрессии резко увеличивается содержание нейтрофилов они меняют свои физико-химические свойства – снижается их деформабельность, увеличивается их адгезия к эндотелию, они мигрируют в межклеточное пространство. Здесь они выделяют ряд субстанций (эластазу и кислородные радикалы), которые обладают мощным деструктивным потенциалом, который воздействует на все молекулярные компоненты тканей [29,68].

Оксиданты формируют дисбаланс в системе протеолиз-антипротеолиз, активируются ингибиторы протеаз, повышается активность эластазы, которая разрушает эластин, экстрацеллюлярные мембранные протеины, гликопротеины, апопротеины сурфактанта, разрушая альвеолярные стенки, что приводит к формированию эмфиземы [30,75].

Нарушение липидного обмена – под действием кислородных радикалов происходит к появлению хематтрактантов, увеличивающих миграцию фагоцитов к месту их образования. Таким образом, активация фагоцитов обладает свойством самопроизвольно усиливаться, и в очагах воспаления формируется

порочный круг. Ткань легких содержит в избытке ненасыщенные жирные кислоты, которые являются субстратом ПОЛ [31,79,206].

Повреждающим действием на ДНК обладают гидроксильные радикалы, они взаимодействуют с пуриновыми и пиридиновыми основаниями нуклеиновых кислот, что в итоге вызывает мутацию или гибель клеток, вызывает в них появление антигенных свойств [29,45,95]. Таким образом, оксиданты не только повреждают биологически важные молекулы, но также опосредуют множество процессов, благоприятствующих развитию ХОБЛ [31,130,259]

Этому могут способствовать инфекции дыхательных путей. Инфекции содействуют активации и рекрутированию фагоцитирующих клеток в легкие. С воздействием стрептококков пневмонии и гемофильной палочки связывают усиление генерации супероксида нейтрофилами при обострении ХОБЛ [148,156,281,309]. Эозинофилия периферической крови идентифицируется как фактор риска развития оксидативного стресса в легких. АФК в эозинофилах образуется посредством эозинофильной пероксидазы, высвобождаемой из гранул при воздействии оксидантов [259]. Прямое токсическое действие АФК: повреждают фибробласты. Снижают активность сурфактанта, стимулируют образование тромбосана, повышают проницаемость эпителия, ухудшают функцию ресничек [29,45,259].

Сигаретный дым

Альвеолярные макрофаги Нейтрофилы Ксантинооксидаза Fe²⁺ NO

Оксидативный стресс

Нарушение	Ингибция	Истощение	Повреждение ДНК
Перекисное			
механизмов	антипротеаз	антиоксидантов	
окисление			
защиты		(ИЛ-8, TNF-а)	
(инфекция,			
гиперсекреция)			

ХОБЛ

4.4. Роль воспаления в патогенезе ХОБЛ.

Вследствие суммации факторов риска окружающей среды и генетической предрасположенности, развивается хронический воспалительный процесс, в который вовлекаются все морфологические структуры бронхов разного калибра, интерстициальная ткань и альвеолы [191,210,298].

Наиболее важными звеньями патогенеза ХОБЛ признаны следующие:

- 1) мукоцилиарная дисфункция: гиперсекреция бронхиальной слизи, редукция мукоцилиарного транспорта, повреждение слизистой оболочки дыхательных путей;
- 2) структурные изменения: метаплазия реснитчатого эпителия, гипертрофия слизистых желез, гипертрофия гладкой мускулатуры, разрушение альвеол;
- 3) воспаление в результате пролиферации и активации клеток воспаления: лимфоцитов, моноцитов, макрофагов, нейтрофилов, увеличение продукции медиаторов воспаления, нарушение баланса протеазы/антипротеазы, колонизации микроорганизмов;
- 4) «оксидативный стресс» возникающий в ответ на вдыхание вредных частиц или газов.

Все эти процессы приводят к ограничению воздухоносных путей как обратимому за счет спазма гладкой мускулатуры, так и необратимому в результате развития склероза стенок бронхов и повреждения эластической ткани альвеол. Гипоксия и большое количество медиаторов воспаления влекут за собой системные (внелегочные) повреждения в виде снижения индекса массы тела, повреждения скелетных мышц и костей, активации атеросклероза [1,8,18,24,90,135,163].

Воспалительный процесс в дыхательных путях развивается классическим образом [263]. Этиологические факторы внешней среды формируют сосудистые изменения, выражающиеся в вазодилатации, увеличении проницаемости сосудистой стенки, экссудации жидкой части крови в легочную паренхиму, что

приводит к отеку ткани. Происходит миграция клеток воспаления в участки повреждения [40,54,59,70,132,135].

В ответ на агрессию воздействия внешних факторов возникает «оксидативный стресс», то есть выделение большого количества свободных радикалов в воздухоносных путях. Главным источником последних являются нейтрофилы циркулирующей крови, концентрирующиеся под влиянием пусковых факторов в легких [125,127].

Из клеток, инфильтрирующих слизистую, скапливающихся в легочных капиллярах и перибронхиальной ткани, выделяется целый комплекс медиаторов воспаления, что значительной мере определяет все разнообразие патологических изменений при ХОБЛ. Важную роль в данном звене патогенеза ХОБЛ играют нейтрофилы, эозинофилы и тромбоциты, так как они вырабатывают большое количество бронхоконстрикторных медиаторов [40,59,104]. Макрофаги скапливаются в местах повреждения межальвеолярных перегородках, участвуют в регуляции воспаления путем секреции медиаторов (фактор некроза опухоли ФНО-*d*, интерлейкин- ИЛ 8, ЛТ-В4), усиливающих нейтрофильное воспаление [268,269,271,272]. Гистологические исследования выявили увеличение содержания Т – лимфоцитов, особенно CD 8 + (цитотоксических) – клеток во всех отделах легких [271]. И хотя их роль в формировании воспаления при ХОБЛ полностью не установлена, но CD 8+ могут быть ответственными за выделения перфорина и ФНО-*d*, которые вызывают цитолиз и апоптоз клеток альвеолярного эпителия, что способствует персистенции воспаления [200]. До недавнего времени роль В – лимфоцитов в патогенезе ХОБЛ придавали небольшое значение. Однако в 1992 году С.Вosken и соавторы обнаружили повышение числа В – лимфоцитов в мелких бронхах при ХОБЛ 3-4 стадии заболевания по сравнению с контролем, причем скопление этих клеток напоминало лимфоидные фолликулы. Аналогичные лимфоидные скопления были обнаружены не только в мелких бронхах, но и в паренхиме легких [150,274,300]. Происходит дальнейшее нарушение движения ресничек мерцательного эпителия вплоть до полной остановки, метаплазия эпителия с утратой клеток реснитчатого эпителия, а

подслизистые железы гипертрофируются и количество секреторных эпителиальных клеток (бокаловидных) увеличиваются [204]. Изменяется состав бронхиального секрета: фаза золя становится меньше, замещается фазой геля, что нарушает движение значительно поредевших ресничек. Это способствует возникновению мукостаза, вызывающего блокаду мелких воздухоносных путей, которое ведет к нарушению вентиляционно-перфузионных отношений [32,33,36]. Провоцирующим фактором обострений ХОБЛ обычно связан с эпизодами трахеобронхиальной вирусной или бактериальной инфекции, что неизбежно приводит к активизации воспаления в дыхательных путях [211,249,250]. При обострении ХОБЛ состояние больного резко ухудшается, поэтому проведение биопсии затруднено, по этой причине большинство исследований проводятся главным образом на материале бронхиального секрета и выдыхаемого воздуха, а это приводит к существенному разбросу результатов и к ложным выводам [212]. Отмечено нарастание системного воспаления на фоне обострений ХОБЛ [173,174]. Также установлена слабая прямая, но статистически достоверная корреляция между степенью респираторного и системного воспаления [212].

В настоящее время общепризнано, что для ХОБЛ характерно развитие ряда внелегочных патологий и сопутствующих заболеваний, в том числе таких, как возрастание риска сердечно-сосудистых заболеваний, остеопороза и дисфункция скелетной мускулатуры. [262]. Предполагается, что в их основе лежат системные воспалительные механизмы [169]. Однако ряд авторов считают, что внелегочные патологии – одно из проявлений генетически обусловленной чувствительности к действию сигаретного дыма на разные ткани-мишени [221,310]. Таким образом, для ХОБЛ характерно развитие системного воспаления, однако, лежащие в его основе механизмы требуют дальнейшего изучения.

Следует подчеркнуть, что по мере прогрессирования ХОБЛ и нарастанием эмфиземы болезнь приобретает качественно новый характер, проявляющейся снижением эффективности фармакотерапии (бронходилататоры,

глюкокортикостероиды) и нарастанием дыхательной недостаточности [110,113,114,121,124,165,284,306].

Следовательно, в результате воспалительной реакции в дыхательных путях (периферических отделах, кондукторной зоне) возникает лишь частично обратимое ограничение воздушному потоку, в легочной ткани нарушается целостность эластических волокон и формируется эмфизема, нарушается кровоснабжение и газообмен, большое количество медиаторов воспаления и метаболические расстройства приводят к поражению других органов и систем [288]. Все эти процессы клинически проявляются неспецифическими клиническими симптомами: одышкой, чаще смешанной, продуктивным или малопродуктивным кашлем, а также изменениями данных спирометрии [181,242]. Однако все эти клинические данные не позволяют точно установить диагноз, провести четкое разграничение между ХОБЛ и БА, а следовательно, не позволяют не только правильно оценить пациента, но и назначить патогенетическое лечение [165,209]. Нет ответа пока на вопрос, почему болезнь имеет постоянно прогрессирующее течение, несмотря на применение различной медикаментозной терапии [102,200,232,233,235,236]. Применение глюкокортикостероидов при ХОБЛ приводит к учащению инфекционных обострений (в частности пневмоний) и к усилению пневмосклероза [177,256].

Таким образом, при ХОБЛ на сегодняшний день не найдено средства останавливающий процесс воспаления. Это означает, что механизмы и причины развития, пролонгирования воспаления ХОБЛ не решены и необходимы исследования, направленные на изучения особенностей патогенеза и иммунного воспаления, процессов активации и завершения иммунного ответа, т.е. активационного апоптоза.

5.Терминология, патофизиологические особенности бронхиальной астмы.

Бронхиальная астма (БА) – хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей с участием клеток (тучных клеток, эозинофилов, Т лимфоцитов), медиаторов аллергии и воспаления, сопровождающееся у предрасположенных лиц гиперреактивностью и вариабельной обструкцией бронхов, что проявляется приступом удушья, появлением хрипов, кашля или затруднения дыхания, особенно ночью и\или ранним утром [27,36,83,205].

Согласно современным представлениям в основе БА лежит хронический воспалительный процесс в бронхах, с которым связаны **4 компонента (формы) бронхиальной обструкции:** [78,198,307]

- 1) Острая обструкция – обусловлена спазмом гладкой мускулатуры бронхов.
- 2) Подострая обструкция – вследствие отека слизистой оболочки бронхов.
- 3) Хроническая обструкция – закупорка бронхов, преимущественно терминальных отделов, вязким секретом.
- 4) Необратимая (склеротическая) – вследствие развития склеротических изменений в стенке бронхов при длительном и тяжелом течении заболевания.

Морфологические изменения при БА характеризуются:[215,216,264]

- 1) Воспалительной инфильтрацией бронхов с наличием в инфильтрате большого количества тучных клеток, Т – лимфоцитов , макрофагов, эозинофилов.
- 2) Скоплением вязкой слизи в просвете бронхов.
- 3) Деструкцией и десквамацией бронхиального эпителия, возрастанием количества бокаловидных клеток и их гиперфункцией; резким снижением функции мерцательного эпителия.
- 4) Гиперфункцией подслизистых желез.

- 5) Интерстициальным отеком, повышенной микрососудистой проницаемостью.
- 6) Нарушением микроциркуляции.
- 7) Склерозом бронхов (при длительном течении).

5.1. Классификация.

В зависимости от этиологии различают аллергическую, неаллергическую, смешанную астму, а также бронхиальная астма на фоне ожирения, с поздним началом и с фиксированным ограничением скорости воздушного потока [289,307,308]. Основным патофизиологическим признаком БА является наличие гиперреактивности бронхов, развивающейся вследствие воспалительного процесса в бронхиальной стенке. Гиперреактивность – это повышенная чувствительность дыхательных путей к стимулам, индифферентным для здоровых лиц. Степень гиперреактивности бронхов тесно коррелирует с выраженностью и распространённостью воспалительного процесса и, соответственно, с тяжестью бронхиальной астмы [27,35,65,289].

Основными предрасполагающими к развитию БА факторами в настоящее время считают: [136,145,202].

- 1) Наследственность.
- 2) Атопию.

Наследственность.

Наследственная предрасположенность к БА выявляется у 46,3 % больных, если один родитель болен БА, вероятность развития БА у ребенка составляет 20-

30%, а если больны оба родителя – она достигает 75%. В целом считается, что риск возникновения БА у ребенка, родители которого имеют признаки атопии, в 2-3 раза выше, чем у ребенка от родителей, которые ее не имеют [27,28,189].

В настоящее время предполагается полигенный тип наследования предрасположенности к БА.

Генетическим маркерами предрасположенности к БА считаются определенные HLA-антигены.

Атопия.

Атопия- это способность организма к выработке повышенного количества IgE в ответ на воздействие аллергенов окружающей среды. При этом в крови больных повышен уровень IgE, отмечаются положительные кожные пробы с аллергенами, в анамнезе имеются указания на различные проявления аллергии. Атопия чрезвычайно часто имеется у больных БА и их ближайших родственников. Способность к синтезу IgE находится под генетическим контролем и передается по наследству [86,99].

5.2. Факторы, способствующие возникновению БА[35,85].

Эти факторы значительно повышают риск развития БА при воздействии причинных факторов.

Респираторные инфекции.

Респираторные инфекции являются одним из важнейших факторов, способствующих развитию БА у взрослых и детей. Под инфекционной зависимостью понимается такое состояние, при котором возникновение и/или течение БА зависит от воздействия различных инфекционных антигенов (вирусов, бактерий, грибов). Особенно важна роль острых вирусных респираторных инфекций. Респираторные вирусы повреждают мерцательный эпителий слизистой оболочки бронхов, увеличивают ее проницаемость для различного вида аллергенов, токсических веществ. Наряду с этим под влиянием респираторной вирусной инфекции резко повышается чувствительность ирритантных рецепторов подслизистого слоя бронхов. Резко возрастает гиперреактивность бронхов. Кроме того, вирусная инфекция участвует в формировании аллергического воспаления бронхов, установлена возможность индукции синтеза вирусоспецифических IgE [47,85].

Воздушные поллютанты.

«Поллютанты – это различные химические вещества, которые при накоплении в атмосфере в высоких концентрациях могут вызывать ухудшение здоровья человека. Установлено, что поллютанты несомненно способствуют возникновению БА, реализуют фенотипическую наследственную предрасположенность к ней. Бронхиальная астма – экологически зависимое заболевание, особенно это актуально в детском возрасте. Как указано в национальной российской программе «Бронхиальная астма у детей, стратегия, лечение и профилактика» (1997), бронхиальная астма у детей является чувственным маркером загрязнения атмосферного воздуха. Наиболее широко

распространёнными поллютантами являются окись углерода, диоксид серы и азота, металлы, озон, пыль, продукты неполного сгорания бензина (нефтеуглеводороды, формальдегид и др.)

Особенно опасным и агрессивным для дыхательных путей является смог: промышленный и фотохимический. Промышленный смог является результатом неполного сгорания жидкого и твердого топлива, он доминирует в индустриальных регионах. Основные компоненты промышленного (индустриального) смога – двуокись серы в комплексе с твердыми частицами, некоторые из них могут быть аллергенами. Фотохимический смог формируется в местах скопления автотранспорта под воздействием солнечного света – выхлопных газах активизируются фотохимические реакции. Основные компоненты фотохимического смога – азота двуокись, озон [23,144,188]. Источником поллютантов является промышленные предприятия, заводы, фабрики (выброс в атмосферу продуктов неполного сгорания жидкого и твердого топлива, диоксида серы и др. веществ), выхлопные газы автотранспорта, химические вещества, используемые в сельском хозяйстве (пестициды, гербициды). Кроме того, поллютанты присутствуют в жилищах человека, их источниками являются бытовая химия, нагревательные приборы, продукты парфюмерии, печи, камины, синтетические покрытия и обивочные материалы, различные виды клея, красок. В воздухе жилых помещений присутствуют окислы азота, окись углерода, двуокиси серы, формальдегид, изоцианаты, табачный дым. Поллютанты оказывают многообразное влияние на дыхательные пути:

- Вызывают значительное раздражение ирритативных рецепторов (двуокиси серы, кислоты, различные твердые частицы, пыль), что приводит к развитию бронхоспазма.
- Повреждают мерцательный эпителий и повышают проницаемость эпителиального слоя бронхов, что создает благоприятные условия для воздействия иммунокомпетентных клеток бронхопульмональной системы и экзоаллергенов (озон, азота диоксид и др. поллютанты).

- Стимулируют продукцию медиаторов воспаления и аллергии, так как способствуют дегрануляции тучных клеток и базофилов.

Таким образом, поллютанты атмосферного воздуха и жилых помещений способствуют развитию воспаления бронхов, резко повышают гиперреактивность бронхов и тем самым способствуют как развитию бронхиальной астмы, так и ее обострению.

Табакокурение и пассивное курение.

Согласно современным представлениям курение является одним из основных факторов, влияющих на возникновение и течение БА. Табачный дым содержит большое количество веществ, оказывающих токсическое, раздражающее влияние (в том числе и на ирритативные рецепторы), канцерогенное воздействие. В конечном итоге под влиянием компонентов табачного дыма развиваются воспаление слизистой оболочки, сенсбилизация и гиперреактивность бронхов, что способствует развитию БА [136,150,185].

Факторы, способствующие обострению БА (триггеры).

Триггеры – это факторы, вызывающие обострение БА. Под влиянием триггеров стимулируется воспалительный процесс в бронхах или провоцируется бронхиальный спазм. Наиболее частыми триггерами являются аллергены, респираторные инфекции, загрязнение воздуха, употребление в пищу продуктов, аллергенных для данного пациента, физическая нагрузка, метеорологические факторы, лекарственные средства. Одним из важнейших факторов, вызывающих обострение БА, является физическая нагрузка. Гипервентиляция, возникающая

при физической нагрузке, вызывает охлаждение и сухость слизистой оболочки бронхов, что провоцирует бронхоспазм. Существует особая форма БА, вызываемая физической нагрузкой [186,190].

5.3. Роль воспаления в патогенезе БА.

Как указывалось ранее, согласно современным представлениями морфологической основой бронхиальной астмы является хроническое воспаление бронхиальной стенки с повышением количества активированных эозинофилов, тучных клеток, Т – лимфоцитов в слизистой оболочке бронхов, утолщением базальной мембраны и последующим развитием субэпителиального фиброза. Вследствие этих воспалительных изменений развивается гиперреактивность бронхов и бронхообструктивный синдром [28,140,153,304].

Воспалительный процесс при БА условно можно подразделить на острое аллергическое воспаление, хроническое воспаление и стадию необратимых морфологических изменений [123]. Острое аллергическое воспаление инициируется кумуляцией в слизистых дыхательных путей клеток, несущих на своей поверхности аллергенспецифические IgE; воспалительный процесс сопровождается быстрой активацией тучных клеток, макрофагов и базофилов [227]. Бронхиальная микроциркуляция занимает центральное место в этой стадии воспалительного процесса [28,83]. Провоспалительные медиаторы обуславливают пропотевание плазмы в слизистую оболочку и в просвет бронхов, приводя к отеку слизистой и к сужению просвета бронхов [215,257].

Замедленный тип аллергической реакции рассматривают как модель для исследования клеточных механизмов при формировании хронического воспалительного процесса [219,220]. Замедленный тип аллергической реакции развивается через 6-12 часов после ингаляции причинного аллергена [84,122]. В воспалительный процесс при БА вовлекается множество клеток: эозинофилы, Т –

лимфоциты, тучные клетки, макрофаги, эпителиальные клетки, фибробласты, миоциты [90,164,220,227]. При БА происходит аккумуляция воспалительных клеток в стенке бронхов вследствие нарушения их апоптоза [48,123,263]. Апоптоз лимитирует повреждение ткани, вызванное воспалением, и содействует рассасыванию воспалительного инфильтрата [47,131,186]. У больных БА происходит аккумуляция воспалительных клеток, что возможно при нарушении их апоптоза под воздействием ряда цитокинов (ИЛ-3, ИЛ-5, ГМ-КСФ), экспрессия которых увеличена в дыхательных путях больных БА [85,291].

Ремоделирование легочной ткани рассматривается как исход острого или чаще хронического воспалительного процесса в дыхательных путях [222]. Структурные изменения дыхательных путей при БА в первую очередь затрагивают толщину бронхов. Утолщение бронхов связано с выраженной гипертрофией гладких мышц, слизистых желез и развитой сосудистой сетью. Обильная васкулиризация слизистой бронхов, дилатация и пролиферация сосудов являются характерными признаками хронического воспалительного процесса при БА [229]. Гипертрофия и гиперплазия гладких мышц как центральных, так и периферических дыхательных путей являются характерной чертой БА [81,215]. Ремоделирование при БА затрагивает слизистые железы: они появляются в периферических отделах дыхательных путей, где в норме их не бывает. Характерна гипертрофия подслизистых желез, продуцирующих избыточное количество слизи. Количество бокаловидных клеток возрастает и бронхиальный секрет имеет повышенную вязкость, что значительно ослабляет мукоцилиарный клиренс [217]. Большие изменения происходят со стороны базальной мембраны эпителиального покрова: утолщение ее ретикулярного слоя – характерная особенность ранних проявлений БА [218]. В совокупности эти процессы приводят к уменьшению просвета бронхов и нарушению воздушного потока через них [218].

6. Сравнительная характеристика бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких.

Бронхиальная астма (БА) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – два самостоятельных хронических заболевания респираторной системы, наиболее распространенные среди населения. Несмотря на вполне определённые различия между БА и ХОБЛ в механизмах развития, в клинических проявлениях и принципах профилактики и лечения, эти два заболевания имеют некоторые общие черты. Кроме того, возможно и сочетание этих двух болезней у одного человека [40,76,66,82,312].

Общим у этих заболеваний является то, что в их основе лежит хронический воспалительный процесс, который и определяет клиническую картину заболевания, а также методы диагностики и лечения. И если при БА воспалительный процесс имеет аллергический иммунный характер и локализуется преимущественно в воздухоносных путях, то при ХОБЛ наблюдается совершенно иная картина. Во-первых, характер хронического воспаления при ХОБЛ еще не до конца установлен [164]. В то же время, отнести это воспаление к разряду обычных хронических воспалительных процессов невозможно из-за его неуклонного прогрессирования и экологической опосредованности [244]. Отличительной чертой ХОБЛ является и локализация воспаления. Так же, как при БА, воспаление локализуется преимущественно в периферических дыхательных путях, но, в отличие от БА, воспаление при ХОБЛ этим не ограничивается, а распространяется на интерстициальную ткань и паренхиму легких, приводя к разрушению альвеолярных стенок и формированию эмфиземы легких [198,245]. Именно этот механизм является основным в формировании необратимого компонента бронхиальной обструкции. Поэтому и заболевание называется «хроническая обструктивная болезнь легких», что предполагает поражение всех компонентов легких, а не только воздухоносных путей. Следующей важной отличительной чертой ХОБЛ является

прогрессирующий характер течения заболевания, что не характерно для классической БА [10,22,34,249]. И, наконец, клинические проявления. Для БА характерна волнообразность и обратимость респираторных симптомов. При ХОБЛ наблюдается медленное, но неуклонное нарастание одышки, плохо контролируемой обычными бронходилататорами [2,3,244,290,292,300].

Дифференциальная диагностика БА и ХОБЛ основана на интеграции основных данных клиники, результатов функциональных и лабораторных тестов. В настоящее время еще нет лабораторного маркера, надежно дифференцирующего эти две болезни. Основной акцент в дифференциальной диагностике делается на установлении главных признаков, определяющих сущность болезни: для БА это волнообразность и обратимость симптоматики, а для ХОБЛ – неуклонное прогрессирование и отсутствие обратимости [51,52,245].

Для больных БА характерен классический список факторов риска – аллергенов, вызывающих развитие заболевания. Это бытовые аллергены, пыльца растений, некоторые производственные факторы и т.д. Список возможных причинных факторов велик и изложен в специальных руководствах по БА [8,20,27]. Что касается ХОБЛ, то тут главным является влияние продуктов сгорания некоторых видов бытового топлива, курения, промышленное загрязнение и некоторые производственные факторы (силиций, кадмий) [20,27,54,132]. Для большинства больных БА прослеживается наследственная предрасположенность, что не наблюдается у больных ХОБЛ [43,197]. В то же время, бронхиальная астма может начаться в любом периоде жизни больного, а ХОБЛ – болезнь второй половины жизни, и нужны очень серьезные аргументы для постановки диагноза ХОБЛ в молодом возрасте.

Это связано отчасти с кумулированием действия фактора риска в течение многих лет [35,38,40,57,261].

Важнейшим компонентом диагностики является анализ клинических проявлений. Тут выявляются вполне определенные и основополагающие различия. Для больных БА характерна волнообразность симптоматики, яркость клинических проявлений и их обратимость, либо спонтанно, либо под влиянием

терапии [116,117,171,238,239] . Тяжесть состояния больного БА не определяется стажем болезни и может быть максимальной в дебюте заболевания, а затем при адекватной терапии может наступить полное исчезновение основных признаков болезни [118]. При ХОБЛ болезнь подкрадывается постепенно при условии длительного действия фактора риска [73,74,76]. Первые симптомы замечаются больным обычно же во 2 стадии болезни. Следует подчеркнуть определенные различия в социальном статусе среднего больного БА и ХОБЛ. Если больной БА может принадлежать к любым слоям населения, то ХОБЛ наиболее часто развивается у больных с низким социально-экономическим уровнем. Это в значительной мере и определяет возможности больных реагировать на ранние признаки болезни [64,210]. Астматики – народ впечатлительный, и каждый минимальный признак болезни, будь то «щекотание» за грудиной, ночной приступ кашля или развернутый приступ удушья, больной обязательно не оставит без должного внимания это явление и обратится за медицинской помощью [63,197,213]. Больной ХОБЛ ранний признак болезни – кашель, проявляющийся по утрам, обычно относит к естественному состоянию курящего человека и не предпринимает никаких мер, а задумывается о состоянии своего здоровья только тогда, когда появляется одышка, а это обычно происходит через 8-10 лет после появления первого признака болезни – кашля. Таким образом, налицо предпосылки для поздней диагностики ХОБЛ [61,207].

У больных БА классификация по степени тяжести основывается на выраженности клинической симптоматики, а у больных ХОБЛ в основу положен функциональный параметр – степень снижения ОФВ₁ и его отношения к ФЖЕЛ. Таким образом, при БА функциональные признаки нарушения бронхиальной проходимости являются факторами, дополняющими диагноз, а при ХОБЛ они являются основополагающими в определении степени тяжести (стадии) заболевания, что предполагает вторичность клинических проявлений от показателей функции внешнего дыхания [43,175]. Несмотря на внешнюю схожесть клинических проявлений БА и ХОБЛ, практически по всем основным признакам существуют различия, позволяющие даже на этапе простого

физического обследования разграничить эти две нозологические формы [24,40,69].

Изменения функции внешнего дыхания также подчеркивает основную отличительную черту этих двух заболеваний – волнообразность симптоматики, которая характерна для больных БА и отсутствует при ХОБЛ. При этом функциональные изменения при ХОБЛ носят прогрессирующий, инвалидизирующий характер [67,82,112].

Как следует из материалов эозинофилия и гипер-IgE, ранее считавшиеся исключительной прерогативой БА, могут наблюдаться и при ХОБЛ, что может привести к диагностическим ошибкам. Поэтому и дифференциальную диагностику между этими заболеваниями следует проводить, суммируя данные клинического, функционального и лабораторного исследования [51,52,120,125].

Несмотря на вполне определенные различия между БА и ХОБЛ по механизмам развития, в клинических проявлениях и принципах профилактики и лечения эти два заболевания имеют некоторые общие черты [139]. Особую (и весьма существенную) популяцию составляют больные, сочетающие в себе обе болезни [197,245,312]. Обычно это лица старше 35 лет, с длительным анамнезом одной из болезней. Чаще всего ХОБЛ присоединяется к БА, чем наоборот [65]. При присоединении ХОБЛ прослеживается длительное воздействие фактора риска ХОБЛ (курение, профессиональные или бытовые вредности). Присоединением ХОБЛ к БА следует считать ту ситуацию, когда в стабильном состоянии БА (контролируемые симптомы, малая вариабельность ПСВ) сохраняется сниженное ОФВ₁, даже если есть высокий прирост в пробе с бета-2-агонистом. При длительном наблюдении за этими больными отмечается прогрессирование дыхательной недостаточности, носящей неуклонный характер, снижается эффективность кортикостероидов, ранее бывших высокоэффективными [171,238]. Для этих больных характерно снижение переносимости физической нагрузки [118].

Важным фактором, усугубляющим бронхиальную обструкцию и ведущим к нарастанию всех признаков болезни, является обострение инфекционного

процесса в респираторной системе [5]. В условиях мукостаза, местного, а иногда и системного иммунодефицита, колонизация микроорганизмов может принять неконтролируемый характер и перейти качественно в другую форму взаимоотношения с макроорганизмом: инфекционный эпизод [4,75,137]. Возможен и другой путь – обычное заражение высоковирулентной флорой воздушно-капельным путем, что легко реализуется в условиях нарушенных защитных механизмов [3,7,75].

ХОБЛ и БА характеризуется наличием хронического воспаления бронхолегочной системы, которое определяет клиническую картину заболевания, методы диагностики и лечения [44]. И хотя хронический воспалительный процесс является общим для БА и ХОБЛ, он имеет существенные различия [49]. Так имеются данные в пользу наличия при ХОБЛ системного воспаления, которое, вероятно, берет начало в легких [205,208].

Несмотря на большое количество работ, посвященных вопросам воспаления при ХОБЛ и БА, эта проблема далека от своего завершения [25,90,91,92]. В чем состоит особенности иммунного ответа при этих заболеваниях, какие клетки отвечают за активность воспаления и почему не происходит естественного затухания патологической иммунной реакции в период клинического благополучия болезни не ясно [89,90,95]. Возможно, изучение особенностей иммунного ответа при ХОБЛ и БА позволит не только провести дифференциальную диагностику, но и позволит выбрать патогенетически оправданное лечение этих заболеваний.

Глава 2. Материалы и методы исследования

2.1. Общая характеристика больных.

Поставленные задачи исследования решались на основании клинического наблюдения за 50 больными с диагнозом ХОБЛ 2 ст. тяжести ($80\% >ОФВ1>50\%$, ИТ < 0.7 , mMRC 0-1) по классификации GOLD 2016. Группу составили 50 пациента, страдающих ХОБЛ 2 ст. тяжести (40 мужчин и 10 женщин) в возрасте от 42 до 70 лет (средний возраст $56,4 \pm 1,44$ лет). Все данные иммунологических исследований у пациентов сравнивались и подобными показателями в группе здоровых доноров: 22 практически здоровых людей (12 мужчин и 10 женщин) в возрасте от 36 до 56 лет (средний возраст $50,1 \pm 1,1$ лет) составили контрольную группу.

Для уточнения роли курения на клинико-иммунологические показатели у больных ХОБЛ 2 степени тяжести была определена группа из 20 пациентов, у которых отсутствовали данные о приверженности к табакокурению. Средний возраст составил $58,21 \pm 0,7$ года. 30 курящих пациентов с ХОБЛ 2 степени тяжести, средний возраст $54,1 \pm 1,3$. Достоверной разницы по половому признаку, возрастным критериям между группами больных ХОБЛ 2 степени тяжести курящих и не подверженных табакокурению не было. Критерии включения, кроме индекса курения, были идентичны для всех обследуемых больных ХОБЛ 2 степени тяжести.

2.2. Клиническая характеристика больных ХОБЛ, критерии включения пациентов в исследование.

Для верификации диагноза всем пациентам проводилось общеклиническое обследование, включающее лабораторные (клинические и биохимические исследования крови и мочи), и инструментальные исследования (исследование функции внешнего дыхания, электрокардиографию, рентгенографию грудной клетки (в двух проекциях), пульсоксиметрию. Контрольные величины показателей соответствовали общепринятым данным, представленных в общедоступной литературе [16,51,52,125]. Диагноз ХОБЛ устанавливается в соответствии с критериями GOLD 2016 [189,194].

Критерии включения больных в исследование в группе ХОБЛ:

- возраст – более 40 лет ХОБЛ 2 средней степени тяжести;
- индекс курения (не менее 20 п/лет)
- отсутствие атопии и указаний о наличии астмы в анамнезе
- данные спирометрии : $80\% >FEV1 >50\%$ от нормы , ИТ $<70\%$
- пациенты в период стабильного течения болезни не получали ГКС (ни системные, ни ингаляционные) не менее 4-х недель
- пациенты не имели серьезных конкурирующих хронических или острых заболеваний.
- Длительность заболевания изучалась по данным медицинской документации и составляла не менее 3-х лет.
- 0-1 по шкале тяжести одышки (Medical Research Council (MRC)).
- наличие информированного согласия.

План проведения исследования:

Начало исследования (исходная точка исследования) совпадало с обострением ХОБЛ. После установления точного диагноза и до назначения

терапии ГКС и/или антибиотиков проводился забор крови на иммунологические исследования .

При ХОБЛ состояние расценивалось как обострение если:

В течении более чем 3 дня у пациентов с ХОБЛ 2 стадии выявлялись следующие признаки

- усиление или появление одышки,
- усиление или появление кашля,
- увеличения количества мокроты, изменения ее характера,
- появление признаков дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности
- появление лихорадки

Второй или конечной точкой исследования было повторное иммунологическое исследование, которое проводилось при полном клиническом разрешении обострения болезни, но не ранее чем через 4 недели после выписки из стационара в период стабильного течения ХОБЛ 2 ст. тяжести и отсутствии регулярной потребности в бронходилататорах короткого действия.

2.3. Сопутствующая патология.

Анализ анамнестических сведений и клинические исследования выявили у ряда пациентов с ХОБЛ наличие сопутствующей патологии, в том числе:

- ИБС, стенокардия напряжения II и I ФК – (6,5%)
- ИБС, постинфарктный кардиосклероз – (4,3%)
- Гипертоническая болезнь 2 ст. – (32 %)
- Мерцательная аритмия постоянная форма на фоне ИБС – (2,2%)
- Язвенная болезнь желудка и 12-типерстной кишки – (8,7%)
- Хронический панкреатит (вне обострения) – (2,2%)

- Дегенеративно – дистрофические заболевания позвоночника различной локализации – у 5,4% обследованных;
- Заболевания почек (без признаков почечной недостаточности) – у 3,2 % обследованных;
- Хронические заболевания печени и желчного пузыря – у 2,2% обследованных;

У всех больных отсутствовали признаки застойной декомпенсации кровообращения и декомпенсации сопутствующей патологии.

2.4. Исходные показатели инструментальных методов исследования.

При рентгенологическом исследовании (рентгенографии) у подавляющего большинства (86% обследованных пациентов) выявлялись усиление легочного рисунка по мелкосетчатому типу за счет сосудистого компонента и пневмофиброза преимущественно в нижних отделах, расширение (67%) и уплотнение (34%) корней легких за счет прикорневого фиброза, а также расширение легочных артерий (9%).

Средние показатели клинического анализа крови, уровень гематокрита и экскреции 17-ОКС у пациентов всех групп находились в пределах физиологической нормы.

2.5. Медикаментозное лечение пациентов.

На момент исследования иммунологических параметров ни один из обследованных пациентов не получали глюкокортикостероиды .

Вне обострения болезни они получали лишь симптоматическую терапию бронходилататорами короткого действия.

Лечение обострения без признаков инфекционного воспаления состояло в увеличении дозы или назначении бронхолитиков короткого\длительного действия с помощью небулайзера и назначения СГКС. В период обострения заболевания больным комплексная медикаментозная терапия проводилась согласно принятой тактике лечения обострения ХОБЛ [82,189].

Медикаментозная терапия включает следующие препараты:

- комбинированный препарат беродуал получали: 63% пациентов.
- М- холиноблокатор атровент получали: 24% пациентов.
- препарат теофиллина (теопек доза 0.6 мг) в сутки получали: 35% пациентов.
- мукорегуляторы (бромгексин, лазолван, флуимуцил) получали: 41% пациентов.
- формотерол получали: 20%.

При наличии лихорадки, гнойного характера мокроты наряду с другими симптомами обострения пациентам назначались антибактериальные препараты.

- противoinфекционное лечение проводилось в зависимости от выявленного возбудителя: цефалоспорины 3 поколения – 4,3% пациентов (цефобид, цефтриаксон, цефотаксим); тетрациклинами – 4,3% (доксциклин), макролидами – 4% пациентов (азитромицин); линкозамидами – 4% (линкомицин).

Для исключения наличия пневмонии проводилось рентгенологическое исследование, при подозрении о развитии дыхательной недостаточности – пульсоксиметрический мониторинг.

Медикаментозное лечение сопутствующих заболеваний в период наблюдения за пациентами, назначенное и начатое задолго до поступления в пульмонологическое отделение принципиально не менялось.

2.6. Клиническая характеристика больных БА, критерии включения и исключения пациентов в исследование.

В программу исследования были включены 50 взрослых больных БА легкой и средней степени тяжести (согласно Глобальной инициативе по Бронхиальной астме 2014 г), не получающие базисную терапию, по каким либо причинам не менее 4-х недель или больные с впервые выявленной БА. При обострении БА кровь для определения иммунологических показателей у обследуемых больных бралась до назначения ГКС. Средний возраст больных - 38 ± 2.0 года. У всех обследуемых больных отмечены повышенные показатели IgE.

Критерии включения в исследование:

- Возраст от 18 – 65 лет;
- Пациенты с персистирующей БА легкой и средней тяжести без базисной терапии ИГС (по GINA 2014);
- ОФВ₁ > 60% от должного расчетного уровня;
- Увеличение ОФВ₁ > 12% от исходного уровня спустя 15-30 минут после ингаляции 400 мкг (4 дозы) сальбутамола;
- Впервые выявленные больные БА;
- Наличие подписанного информированного согласия;
- Длительность заболевания ≥ 0.5 года до включения в исследование (по данным анамнеза);

Критерии исключения из исследования:

- Пациенты использующие ГКС;
- Беременность, лактация, онкологические заболевания, туберкулез легких;
- Возраст моложе 18 лет;
- Отказ от подписания информированного согласия;

Разрешенная сопутствующая терапия:

- Ингаляционные В₂- агонисты короткого действия;

- Ингаляционные холинолитики;
- Теофилины;

Запрещенная терапия:

- Комбинированные противоастматические препараты (включающие ГКС);
- Длительно действующие В2- агонисты;
- Применение В – блокаторов;

Распределение больных по степени тяжести отражено в таблица 1.

Степень тяжести БА.	Доля пациентов (%).
Легкая	50.6%
Средней тяжести	49.4%
Всего	100%

Перечень сопутствующих заболеваний включает 12 нозологий: гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, хронический холецистит, аллергический ринит\ конъюнктивит, атопический дерматит, сахарный диабет, гипотиреоз, остеохондроз, хронический гастрит, хронический колит и язвенная болезнь желудка.

Обострением БА считали появление эпизодов нарастающей одышки, кашля, свистящих хрипов, чувства «заложенности» в грудной клетке или сочетание перечисленных симптомов.

При определении обострения заболевания учитываем дневные (> 2 раз неделю) и «ночные» симптомы, а также потребность в препаратах неотложной помощи (> 2 раз неделю) и при ОФВ1 < 80%.

2.7. Методы исследования.

2.7.1. Исследование функции внешнего дыхания.

Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводилось у всех исследуемых пациентов.

Функциональные параметры легких измерялись методом компьютерной спирометрии путем анализа кривой «поток - объем», на спироанализаторе «CustoVit» (Австрия). Пациенты дополнительно инструктировались о целях и порядке проведения процедуры, а также обучались выполнению дыхательных маневров. Тест проводился в вертикальном сидячем положении пациента с использованием носового зажима.

Изучались следующие показатели: ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких, ОФВ₁- объем форсированного выдоха за первую секунду, ИТ – индекс Тиффно (ОФВ₁/ФЖЕЛ), ПОС – пиковая максимальная скорость форсированного выдоха, МОС₂₅ – максимальная скорость выдоха на уровне 25% ФЖЕЛ, МОС₅₀ – максимальная скорость выдоха на уровне 50% ФЖЕЛ, МОС₇₅ – максимальная скорость выдоха на уровне 75% ФЖЕЛ, МОС₂₅₋₇₅ – средняя объемная скорость выдоха на уровне 25-75% ФЖЕЛ.

Оценка выраженности параметров функции внешнего дыхания основывалось на сопоставлении полученных результатов с должными величинами, подсчитываемыми автоматически компьютером, встроенным в спироанализатор, с учетом пола, возраста, роста и веса исследуемого пациента [8,9,16,189,190]. Полученные данные в виде процентов к должным значениям заносились в протокол исследования и подвергались статистическому анализу.

При исследовании функции внешнего дыхания (ФВД) методом компьютерной спирометрии у всех пациентов групп исследования полученные показатели были ниже нормы в различной степени. В течении нахождения в стационаре при выписке и при последних, завершающих визитах проводилась спирометрия, с оценкой показателей «петли поток-объем» согласно протоколу « Стандартизация

легочных функциональных тестов» Европейского Респираторного Общества с помощью спирометрии на аппарате компьютерного пневмотахографа «CustoVit» (Австрия)[82,98].

Средние показатели ФВД, полученные в 2-х группах отражена в таблице 1.

Таблица 1.

Средние показатели ФВД у пациентов в группах исследования (в % к должным величинам).

Показатель ФВД (% от нормы)	ХОБЛ	
	Обострение	Ремиссия
ФЖЕЛ(FVC)	78 ± 3,7	98 ± 2,1
ОФВ₁(FEV₁)	48,4 ± 2,15	68 ± 1,5
FEV25	44,8 ± 5,9	50 ± 4,2
FEV50	46,3 ± 2,24	46 ± 2,1
FEV75	32,8 ± 8,1	32 ± 8,5
FEV25-75	54,3 ± 7,11	54 ± 7,3
ИТ	51,2 ± 2,80	63 ± 2,5

2.7.2. Иммунологические методы

В соответствии с задачами исследования нами были использованы следующие основные методики:

1. Выделение лимфоцитов по методу Воуит в градиенте плотности фиколла-верографин [156].
2. Определение относительного и абсолютного содержания в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD23, CD25, CD54, CD56, CD71, CD72, HLA-DR, CD95, мембранные иммуноглобулины mIgM и mIgG с помощью отечественных моноклональных антител серий ЛТ и ИКО в реакции непрямой иммунофлюоресценции [105,107].
3. Статистическая обработка полученных результатов с целью оценки достоверности регистрируемых изменений.

В работе были использованы следующие препараты и реактивы:

1. Фиколл (Farmacia, Швеция);
2. Верографин (Srofa, Чехия);
3. Среда 199, раствор Хенкса без Ca^{2+} и Mg^{2+} (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов, Россия);
4. Мышиные моноклональные антитела против CD3-, CD4-, CD8-, CD16-, CD56-, CD25-, CD71-, HLA-DR-антигенов лимфоцитов серий ИКО (ТОО “Диагнотех”, Россия) и CD72, CD23, CD95 серий ЛТ (Институт иммунологии МЗМП, Россия);
5. Fab-фрагменты козьих иммуноглобулинов против антител мыши, меченые флюоресцеина изотиоцианатом (ТОО “Диагнотех”, Россия);
6. Поли-L-лизин (Serva, США);
7. Этилендиаминтетраацетат натрия;
8. Спирт этиловый;
9. Трипановый синий (Sigma, США);
10. Пленка “Parafilm” (“AmericanCanCompany”, США).

2.7.3. Выделение лимфоцитов.

Венозную кровь стабилизировали 2.7% раствором этилендиаминтетраацетата натрия (ЭДТА) из расчета 1 мл ЭДТА на 10 мл крови. Лимфоциты выделяли в одноступенчатом градиенте плотности по методу Воуит. Цельную кровь разводили в соотношении 1:3 средой 199, наслаивали по 8 мл разведенной крови на 2 мл фикол-верографина с плотностью 1.077 и центрифугировали 30 минут при 600g. Затем собирали моноклеарные клетки, содержащиеся в интерфазе, в силиконированные пробирки, трижды отмывали центрифугированием при 300g в течение 10 минут в среде 199. Далее определяли количество выделенных лимфоцитов методом подсчета в камере Горяева. Суспензию клеток разводили средой 199 или забуференным фосфатами физиологическим раствором (ЗФР) до нужной концентрации в зависимости от используемой в дальнейшем методики. Жизнеспособность клеток, определяемая методом окрашивания 0.1% раствором трипанового синего, в среднем составила 97%.

2.7.4. Определение относительного и абсолютного содержания в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD3, CD4, CD8, CD72, CD25, CD16, CD56, CD71, HLA-DR, CD23, CD95 с помощью отечественных моноклональных антител в реакции непрямой иммунофлюоресценции [106,145,156,179,195,196].

Для оценки исходной экспрессии поверхностных антигенов лимфоцитами периферической крови использовали взвесь клеток в ЗФР. Конечная концентрация клеток во взвеси составляла во всех экспериментах 2,5 млн/мл.

Реакцию проводили в микроварианте на стекле. В пленке “Parafilm” проделывали отверстия диаметром 3мм. Приготовленную таким образом пленку фиксировали на обезжиренное предметное стекло наплавлением. В каждую образовавшуюся лунку вносили по 10 мкл раствора поли-L-лизина (50 мкг/мл) и выдерживали 30 минут при 37°C. Эту и все последующие инкубации проводили во влажной камере. По истечении времени капли поли-L-лизина удаляли, а затем в каждую лунку вносили по 10 мкл исследуемой взвеси лимфоцитов, и препарат также выдерживали в термостате в течение 30 минут. На следующем этапе излишки клеток удаляли, а стекло промывали в стаканчике с ЗФР, после чего в лунки вносили по 4 мкл раствора соответствующих моноклональных антител. Препарат выдерживали в течение 30 мин при 4°C, затем снова промывали ЗФР и вносили в лунки по 4 мкл рабочего раствора Fab-фрагментов антимиоциновых антител, меченых флюорохромом. Выдерживали 30 мин при 4°C, промывали ЗФР, излишки жидкости удаляли. В лунки вносили по 20 мкл забуференного фосфатами раствора глицерина (глицерин смешивали с ЗФР 1:1 по объему). Препарат микроскопировали в водной иммерсионной системе с использованием люминесцентного микроскопа “Люмам ИЗ”. Оценивали наличие и специфичность флюоресценции (по критериям Фримель Г., 1987) не менее чем у 200 клеток. Клетки с морфологией моноцитов не учитывали. В каждом опыте проводили контроль жизнеспособности клеток с трипановым синим (не менее 95%) и неспецифического связывания меченой сыворотки (не более 4%). Процент клеток, неспецифически связавших меченые антитела, учитывали при оценки результатов опыта.

Абсолютное содержание клеток каждой из субпопуляций в единице объема крови определяли, учитывая количество лейкоцитов, подсчитанное предварительно в камере Горяева, процентное содержание среди них лимфоцитов (определяли подсчетом лейкоцитарной формулы в мазке крови по методу Романовского и Гимзы) и долю лимфоцитов, несущих соответствующий поверхностный антиген (по результатам описанного выше теста непрямой иммунофлюоресценции).

В ходе исследования иммунологических изменений при бронхиальной астме и ХОБЛ проводилось изучение следующих групп поверхностных маркеров лимфоцитов:

- Т-лимфоцитарных (CD3, CD4, CD8);
- В-лимфоцитарных (CD20, CD72, mIgM, mIgG);
- NK-клеточных (CD16,CD56)
- Активационные маркеры (CD23, CD25, CD71, HLA-DR, CD95, CD54, CD95L) [143,158]

2.8. Перекисное окисление липидов (ПОЛ).

В качестве исследуемого материала использовалась венозная кровь. Забор крови осуществлялся утром, натощак. В качестве антикоагулянта применялся 0.2 N раствор цитрата натрия.

Анализировали следующие показатели перекисного окисления липидов: гидроперекиси липидов (ГПЛ) методом Гаврилова В.Б. и Мишкорудного М.И [37], малонового диальдегида (МДА), активности супероксиддисмутазы (СОД) методом FridorichJ (1972) [30,130], активность глутатионпероксидазы(ГП) по Ланкину В.З. 1976 г [68].

Для оценки «предрасположенности» ЛНП (липопротеины низкой плотности) к окислительной модификации исследовали их резистентность к окислению *invitro* в присутствии ионов металлов переменной валентности по методике Рагино Ю.И [96].

2.8.1. Определение содержания в эритроцитах гидроперекисей липидов (Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. 1983) [37].

Для определения концентрации гидроперекисей липидов в эритроцитах использовали ультрафиолетовое поглощение липидных экстрактов. Отмытые эритроциты экстрагировали гептан-изопропаноловой смесью (1:1), взятых в соотношении 1 к 20. Через 10 минут после интенсивного встряхивания в пробу добавляли гептан и раствор соляной кислоты с $pH = 2.0$ в количестве равном $1/2$ и $1/4$ от количества гептан – изопропаноловой смеси соответственно. Через 20 – 30 минут после отстаивания и расслоения смеси проводили спектрофотометрию на СФ – 26 при длине волны 233 нм. Измерение проводили относительно контрольной пробы. Которая вместо эритроцитов содержала дистиллированную воду и была обработана как опытная.

Принцип метода основан на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в области 232 – 234 нм. Результаты измерения рассчитывались по формуле и выражали относительных единицах величины оптической плотности на 1 мл эритроцитов D_{233} – измеренное значение оптической плотности.

2.8.2. Определение устойчивости эритроцитов к гемолизу и концентрации в них малонового диальдегида (МДА) (Банков В.В., Юрков Ю.А. 1986) [13,14].

Для определения устойчивости эритроцитов к гемолизу и концентрации в них МДА готовилась 5% взвесь эритроцитов в 25 мМ трис – HCL буфере, $pH = 7.4$. Дальнейшее исследование проводили в интактных эритроцитах (МДА I, АГ I), в эритроцитах, инкубированных при $T = 37\text{ C}$ в течении 10 мин (МДА II, АГ II) и в эритроцитах после проведения аскорбатзависимого инициирования процессов ПОЛ ионами двухвалентного железа (клеточный стресс) (МДА I, II, АГ III). Для этого в I и II пробы к 0.4 мл взвеси эритроцитов добавляли 0.43 и 0.45 мл 25 мМ трис – HCL, буфера $pH = 7.4$ соответственно. В III пробу добавляли 0.3 мл трис –

HCL, 0.1 мл 0.5 мМ аскорбата и 0.05 мл 0.3 мМ сернокислого железа, после чего II и III пробу инкубировали. Затем все 3 пробы центрифугировались в течении 10 мин при 1000 об\мин.

Степень гемолиза оценивали по выходу гемоглобина из эритроцитов в надосадочную жидкость на СФ – 26 при длине волны 532 нм и выражали в процентах от пробы с полным гемолизом, который получали при добавлении в I пробу 0.02 мл 0.1 % сапонины.

После определения интенсивности гемолиза эритроцитов в тех же пробах проводили определения содержания МДА. Для этого во все три пробы добавляли 0.6 мл 0.67 % тиобарбитуровой кислоты, 0.5 мл 30% трихлоруксусной кислоты и 0.15 мл 5N соляной кислоты. Затем пробы помещали в водяную баню с Т 80-100 С на 40-50 мин. После этого их центрифугировали в течении 15 минут при 1000 об\мин. Количество МДА определяли по интенсивности развивающейся окраски в результате взаимодействия МДА с ТБК в кислой среде при высокой температуре. Измерение проводили на СФ – 26 при длине волны 532 и 680 нм. Количество МДА рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{e * 0.156 * 1000000}{V * 16}$$

Где А - концентрация МДА в нм\10 эр.

е – разность экстинций, полученных при спектрофотометрировании надсадочной жидкости при длине волны 532 и 680 нм.

В – количество эритроцитов в 0.1 мл 5% взвеси эритроцитов.

2.8.3. Определение активности супероксиддисмутазы (СОД).

Супероксиддисмутаза является ферментом, который позволяет поддерживать физиологические концентрации одной из наиболее токсических форм кислорода – супероксидного радикала который оказывает повреждающее действие на мембраны клетки и является инициатором процессов ПОЛ [14].

Для генерирования супероксидного радикала по методике Veanchamp С.(1971) использовали ферментативную систему ксантин-ксантиноксидаза [151]. В основе метода лежит реакция восстановления нитротетразолия синего их окисленного состояния в восстановленное под действием супероксидного радикала, при котором приобретает синее окрашивание. Активность ксантиоксидазы должна быть 0.015 – 0.025 в мин. Инкубационная смесь содержала 0.05 М карбоната натрия, рН 10.2 , 10⁻⁴ М ЭДТА, 10 – 2 М ксантина, 10 – 7 ксантиноксидазу, 2.5 * 10 – 5 нитротетразолий синий и 0.1 л лизата. Измерение проводилось на СФ – 26 при длине волны 560 нм. За единицу активности СОД принимали количество фермента, необходимого для 50 % ингибирования восстановления нитротетразолия синего в течение 1 мин при Т 25 С. Результат выражали в единицах активности на гр. Нв .

2.8.4. Определение активности глутатионпероксидазы (ГП) (по методике Ланкина В.З. 1976).

ГП – фермент антиокислительной защиты клетки, связанный с ее мембранной. ГП способна разрушать перекись водорода, а также «захватывать» гидроперекиси липидов и тем самым предотвращать образование новых свободных радикалов [62].

Активность ГП определяли по скорости окисления НАДФ-Н с использованием в качестве субстрата гидроперекись трет-бутила. За единицу активности фермента принимали его количество, необходимое для окисления 1 мкмоль восстановленного глутатиона за 1 мин., что соответствовало окислению 1 мкмоль

НАД-Н в 1 мин. Исследование проводили на биохимическом анализаторе ФП – 901 фирмы «Лабсистем» (Финляндия). Активность фермента рассчитывали на количество гемоглобин и выражали в ед. акт. \гр. Нб.

2.9. Статистические методы обработки полученных результатов.

Определение достоверности полученных результатов проводили при большой выборке с помощью критерия t Стьюдента, при малой выборке с ненормальным распределением, а также при сравнении попарно связанных вариант - с применением непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Расчеты проводили на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ “Statistica”.

В таблицах указаны средние арифметические значения соответствующего параметра и его средняя ошибка ($M \pm m$). На рисунках также представлено среднее значение изучаемого показателя и его ошибка.

Глава III. Результаты собственных исследований

3.1. Анализ активационного профиля лимфоцитов у больных ХОБЛ в период ремиссии и обострения.

До недавнего времени роли В – лимфоцитов в патогенезе ХОБЛ придавали небольшое значение. Однако в 1992 году С. Bosken и соавт. [150] обнаружили повышение числа В лимфоцитов в мелких бронхах по сравнению с контрольной группой, причем скопление этих клеток напоминало лимфоидные фолликулы. Аналогичные лимфоидные скопления были обнаружены не только в мелких бронхах, но и в паренхиме легких [198,298]. Аналогичные результаты были продемонстрированы в работах других авторов [201,295].

Предполагают, что такие лимфоидные фолликулы могут формироваться в результате адаптации иммунной системы в ответ на микробную колонизацию, развивающуюся при обострении ХОБЛ [119,137,199].

В соответствии с целью настоящего исследования для получения характеристики иммунных изменений при ХОБЛ в период обострения и ремиссии, мы провели изучение поверхностных рецепторов лимфоцитов, циркулирующих в крови. У больных оценивали представительство в периферической крови трех основных популяций лимфоцитов: Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и НК-клеток. Кроме популяционного состава лимфоцитов, нас интересовали и субпопуляции Т- и В-

лимфоцитов. Наряду с исследованием изменения субпопуляционного состава лимфоцитов в сыворотке крови, мы провели отдельный анализ популяций и субпопуляций лимфоцитов в стадии обострения и ремиссии у обследованных нами больных ХОБЛ.

3.1.1. Характеристика поверхностных рецепторов лимфоцитов у больных ХОБЛ в период ремиссии и обострения.

Т-клетки составляют большую часть лимфоцитов периферической крови (70-80%). Благодаря наличию на мембране уникального Т-клеточного рецептора (TCR), Т-лимфоциты способны распознавать чужеродные антигены, встроенные в молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС-I, МНС-II) антиген-презентирующих клеток (макрофагов, дендритных клеток и др). Т-лимфоциты участвуют в реакциях клеточного иммунитета: противовирусном иммунном ответе, аллергических реакциях замедленного типа, реакции отторжения трансплантата, обеспечивают противоопухолевый иммунитет. Созревая в тимусе, Т-лимфоциты дифференцируются на две популяции, маркерами которых служат поверхностные антигены CD4- Т-хелперы и CD8+ - цитотоксические Т-лимфоциты. Цитотоксические Т-лимфоциты несут функции уничтожения собственных клеток, зараженных вирусами, опухолевых клеток и др. [93,146,162,179,180].

При исследовании основных клеток –защитников в периферической крови Т-лимфоцитов и их субпопуляций при ХОБЛ в период обострения и ремиссии были получены следующие результаты (Рисунок 1).

У больных ХОБЛ наблюдалось существенное увеличение содержания в крови цитотоксических лимфоцитов, независимо от стадии заболевания ($p < 0,001$). Однако количество Т-лимфоцитов CD3⁺ в стадию ремиссии снижалось до $52,28 \pm 2,27\%$ по сравнению со здоровыми людьми. При этом в крови больных

ХОБЛ в стадии ремиссии выявляется увеличение Т-лимфоцитов с фенотипом CD4⁺ до 37,86±2,61%, но сохраняется повышение содержания цитотоксических лимфоцитов CD8⁺, что, по-видимому, является отражением чрезмерной стимуляции Т-клеточного звена иммунной системы у этих пациентов. Однако не следует забывать, что цитотоксические свойства CD 8⁺ лимфоцитов приобретаются в ходе дифференцировки после контакта с антигеном.

Рисунок 1. Содержание популяции Т-лимфоцитов и их субпопуляций в зависимости от стадии ХОБЛ.

К цитотоксическим лимфоцитам по происхождению и функциям близки естественные киллеры (ЕК), которые имеют общих предков-предшественников с Т-лимфоцитами. Однако ЕК не попадают в тимус и не подвергаются дифференцировке и селекции. Эти лимфоциты не имеют рецепторов для антигенов и поэтому не участвуют в специфических реакциях приобретенного иммунитета. ЕК или НК-клетки (normal killers, или natural killers) относятся к системе естественного иммунитета и разрушают в организме любые клетки, зараженные вирусами, а также опухолевые клетки. В отличие от цитотоксических Т-лимфоцитов, формирующихся и проявляющих свое действие в организме только после антигенной стимуляции, ЕК всегда готовы к контакту с мишенями и цитотоксическому действию. Маркерами ЕК человека служат поверхностные антигены CD16,CD56.

При изучении содержания естественных натуральных киллеров в крови у больных ХОБЛ наблюдалось выраженное повышение содержания в крови обеих субпопуляций лимфоцитов ($p < 0,0001$) (Рисунок 2). По-видимому, резкое увеличение содержания НК- клеток при ХОБЛ связано с тем, что ИЛ-1 и TNF- α усиливают их пролиферацию. А синтез именно этих цитокинов существенно повышен при ХОБЛ [261,263,268].

Рисунок 2. Содержания естественных натуральных киллеров в крови клеток у больных ХОБЛ в стадию обострения и ремиссии.

Возможно при ХОБЛ, высокий процент содержания НК- клеток может быть косвенным подтверждением того, что в поддержании воспалительной реакции имеет значение инфекция дыхательных путей, т.к. получены данные подтверждающие антимикробную функция НК - клеток [49,94]. Согласно, этим данным различные микробные продукты индуцируют нарастание активности НК–клеток. И хотя, НК – клетки могут взаимодействовать с определенными типами нормальных клеток , в первую очередь они лизируют клетки, инфицированными вирусами, тем более, что они более чувствительны к лизису их естественными киллерами, чем неинфицированные [241]. НК – клетки при контакте с клеткой – мишенью освобождают интерферон- γ (INF- γ), который активирует естественные киллеры без клеточных предшественников. Интерферон индуцирует пополнение цитотоксических клеток, усиливает кинетику лизиса, увеличивает в НК – клетках рециклические способности, стимулирует дифференцировку предшественников НК – клеток [184]. Учитывая высокий уровень НК – клеток при ХОБЛ можно предположить, что немаловажную роль в поддержании воспаления играет микробная персистирующая инфекция дыхательных путей и избыточная продукция INF- γ , в том числе и самими НК-клетками. Кроме, того как известно, функция НК- клеток, не ограничена цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам или к клеткам, инфицированные вирусом. Секреция INF- γ НК – клетками также может вносить вклад в воспалительный Th1 ответ [25]. Доказано, что НК-клетки, Т – клетки также вносят вклад в воспаление. Например, при саркоидозе активизируются макрофаги посредством производства цитокинов [219]. Возможно, что и этот механизм играет роль в поддержании воспаления при ХОБЛ.

Следующий вид клеток, которые мы исследовали, относятся к клеткам гуморального иммунитета- В-клетки. Характерной особенностью этих клеток является наличие поверхностных мембрано-связанных антител, относящихся к

классам IgM и IgG. В комплексе с другими поверхностными молекулами иммуноглобулины формируют антиген-распознающий рецептивный комплекс, ответственный за узнавание антигена. Также на поверхности В-лимфоцитов расположены антигены МНС класса II, важные в кооперации с Т-клетками, кроме того, на некоторых клонах В-лимфоцитов присутствует CD56 маркер, общий с Т-клетками. Среди наиболее важных маркеров, характеризующих В – клеточное звено, выделяют такие антигены как CD 20⁺, CD 72⁺, mIgM и mIgG.

Исследование содержания В-лимфоцитов в периферической крови больных ХОБЛ в стадию обострения демонстрирует увеличение всех дифференцированных форм В-лимфоцитов.

Как видно из представленной диаграммы (рисунок 3) в период обострения ХОБЛ, болезни не связанной с атопией, очень высок уровень В-лимфоцитов, в первую очередь за счет CD20⁺, которые увеличиваются более чем в 2 раза ($p < 0,0001$). В то же время содержание маркеров CD20⁺ и CD72⁺ В-лимфоцитов в крови больных ХОБЛ в стадию ремиссии практически не отличалось от показателей здоровых людей.

Рисунок 3. Содержание В-лимфоцитов в крови больных ХОБЛ.

Отличительной особенностью созревающих и зрелых В – лимфоцитов является наличие поверхностных иммуноглобулиновых молекул. Активно синтезируемые поверхностные иммуноглобулины отсутствуют на других клетках иммунной системы и с высокой степенью достоверности характеризуют В – клетки [105]. Основными изоформами мембранных иммуноглобулинов (mIg) являются mIgM и mIgG [47]. mIgG представлен на небольшом количестве В – лимфоцитов. Однако их количество может увеличиваться при связывании с иммуноглобулином через Fc – рецептор.

Анализ содержания в периферической крови зрелых В-клеток, несущих поверхностные иммуноглобулины М и G, показал их существенное увеличение, независимо от стадии заболевания (рисунок 4).

Рисунок 4. Уровень В-клеток, экспрессирующих mIgM и mIgG в сыворотке крови.

При этом в период обострения это увеличение особенно очевидно: mIgM/ mIgG соответственно 5.13 ± 0.18 и 6.54 ± 0.48 у контрольной группы, против 29.14 ± 2.18 и 21.65 ± 1.15 у больных в период обострения заболевания. Все это свидетельствует о высокой иммунологической активности В клеточного звена, отвечающего за В-лимфоциты и за продукцию и секрецию в кровоток молекул антител, являющиеся иммунной памятью организма.

Если учитывать данные, что увеличение В – лимфоцитов, особенно несущих mIgG, наблюдаются при длительных персистирующих инфекциях, то это совершенно закономерно, у пациентов с частыми инфекционными обострениями. Известно, что повышение количества В – лимфоцитов, отвечающих за продукцию и секрецию антител, за длительную антигенную память, больше свойственно для пациентов с атопией и при наличии аутоиммунных заболеваний. При выборе когорты для исследования мы исключили всех пациентов с указанием на наличие какой либо атопии. Следовательно, повышение В – лимфоцитов отражает сам факт активного воспаления не связанного с атопией.

Таким образом, если обратится к сводной таблице 2 , где представлены изученные нами иммунокомпетентные клетки, то можно заключить, что у больных ХОБЛ 2 стадии наблюдается, независящее от активности клинический проявлений заболевания, существенное увеличение содержания в крови цитотоксических Т-лимфоцитов. Однако их баланс сохраняется ,т.к. соотношение CD4/CD8 не выходит за диапазон нормальной величины т.е. $>1,5$ и <2 .

Кроме этого при ХОБЛ наблюдается резкое повышение содержания в крови обеих субпопуляций NK-клеток независимо от стадии заболевания. В стадии обострения мы наблюдали также и однонаправленное изменение всех субпопуляций В-лимфоцитов в сторону увеличения. И если лимфоциты CD20, CD72 в период ремиссии покидали кровеносное русло, то количество зрелых В-лимфоцитов в 2 раза превышало подобные клетки, определяемые в группе контроля.

Таблица 2.

Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных ХОБЛ в стадии обострения и ремиссии (в %).

Популяции	Маркеры	Здоровые	Больные ХОБЛ n=50
-----------	---------	----------	-------------------

лимфоцитов	лимфоцитов	доноры n=22	в стадии обострения	В ст а д и и р е м и с с и и
------------	------------	----------------	------------------------	---

Т-лимфоциты	CD3	65,20±0,66	61,65±2,95	5
	CD4	36,48±0,95	32,60±0,71*	2,
	CD8	25,90±0,50	36,23±2,54***	2
				8
				±
				2,
				2
				6
				*
				*
				3
				7,
				8
				6
				±
				0,
				6
				1
				3
				2,
				9
				2
				±
				1,
				9
				6
				*
				*

NK-клетки	CD16	13,22±0,43	25,24±3,16***	2
	CD56	4,47±0,09	22,18±2,13***	2, 1 1 ± 1, 0 7 * * * 1 7, 9 4 ± 1, 9 9 * * *

В-лимфоциты	CD20	10,15±0,16	26,35±1,92***	1
	CD72	10,10±0,39	18,15±2,34**	1,
	mIgM	5,13±0,18	29,14±2,18***	5
	mIgG	6,54±0,48	21,65±1,15***	6
				±
				0,
				6
				1
				1
				0,
				3
				4
				±
				1,
				4
				0
				1
				3,
				1
				3
				±
				0,
				9
				9
				*
				*
				1
				2,
				8
				8
				±
				1,
				6

Примечание: *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ (по сравнению с донорами)

3.1.2. Характеристика активационных антигенов лимфоцитов больных ХОБЛ.

Поскольку проведенный нами количественный анализ иммунологических показателей больных ХОБЛ не отражает полностью механизмов вовлечения иммунной системы в патологический процесс, нами было проведено изучение изменений экспрессии активационных маркеров лимфоцитов, характеризующих функциональное состояние различных звеньев иммунной системы. Этот этап исследований был также проведен отдельно для больных ХОБЛ 2 ст. тяжести в стадии обострения заболевания и ремиссии.

Широкое практическое применение в иммунодиагностике получили маркеры ранней (CD25, CD71) и поздней (HLA-DR, CD95) активации. Для оценки запуска активации лимфоцитов использовали маркер ранней активации - CD25 - рецептор для интерлейкина-2, обеспечивающий быстрое размножение и последующую дифференцировку наивных Т-клеток до зрелых форм. Пролиферативную активность лимфоцитов оценивали по экспрессии рецептора для трансферрина – CD71, опосредующего включение ионов железа в клетки и регулирующего их рост и активацию. Для изучения активации В-клеток выявляли экспрессию антигена CD23 – низкоафинного рецептора для IgE. Увеличение

экспрессии HLA-DR-антигена свидетельствует о включении поздней стадии активации лимфоцитов. Этот маркер несут как В-лимфоциты, так и активированные Т-клетки. CD54 – адгезивный лиганд для лимфоцитов – также рассматривается как показатель активации иммунокомпетентных клеток. Величина экспрессии CD95⁺ - лимфоцитов отражает готовность лимфоцитов вступить в апоптоз т.е. включить механизм программированной клеточной гибели по Fas-зависимому механизму.

Согласно поставленной цели нами было проведено исследование активационных маркеров лимфоцитов и особенности апоптоза у больных ХОБЛ средней степени тяжести в период ремиссии и обострения.

При анализе содержания в крови больных лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены, было показано, что у больных ХОБЛ при оценке низкоаффинного рецептора к IL2 CD 25 , определяющего готовность лимфоцитов к вступлению в пролиферативные и дифференцировочные процессы, наблюдается достоверное повышение его содержания в крови. Выявлено так же, что независимо от стадии заболевания, увеличивается уровень CD71⁺-лимфоцитов (рисунок 4). В то же время содержание HLA-DR⁺-лимфоцитов в крови больных существенно увеличивалось только в стадию обострения. Характерно, что у больных ХОБЛ в стадию обострения содержание активированных форм лимфоцитов было существенно выше, чем у больных в стадию ремиссии и в группе контроля (Рисунок 4).

Рисунок 4. Содержание лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания.

Особый интерес представляла оценка низкоаффинного рецептора для IgE – маркер атопии CD23 при ХОБЛ. Оказалось, что при ХОБЛ в стадию обострения заболевания обнаруживается существенное повышение содержания в крови CD23⁺ -лимфоцитов (Рисунок 5).

Рисунок 5. Изменение в содержании CD23⁺-лимфоцитов у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания.

Следовательно, полученные результаты не позволяют считать повышение содержания в крови CD23⁺-лимфоцитов патогномичным только для atopических заболеваний, в частности бронхиальной астмы. Экспрессия CD23⁺ регулируется IL – 4, поэтому высокий уровень этого маркера свидетельствует с одной стороны о присутствии IL–4 в период клеточной активации и повышенную выработку mIgE, а с другой стороны о процессах тормозящих выработку mIgE. Поскольку при продолжительной экспрессии CD 23 покидает мембрану В – лимфоцита и переходит в растворимое состояние sCD23, взаимодействуя с mIgE, в результате формируется комплекс sCD23- mIgE, который оказывает косвенный тормозящий эффект на синтез mIgE [141,142].

Как показало наше исследование при ХОБЛ этот процесс выражен только в период обострения болезни (Таблица 3).

В ремиссию количество этих клеток снижается, но установленной нормы не достигает, что опять же является свидетельством продолжающегося воспалительного процесса. Для оценки запуска активации и дифференцировки лимфоцитов используются маркеры ранней активации – CD 25 – рецептор для ИЛ – 2, обеспечивающих быстрое размножение и последующую дифференцировку наивных Т – клеток до зрелых форм. Наличие персистирующего процесса воздействия факторов развития ХОБЛ активация Т – клеточного звена существует как в период обострения (22.8 ± 2.54 против 6.04 ± 0.24), что вполне обосновано, но и вне его (12.34 ± 1.35 против 6.04 ± 0.24), т.е превышает более чем в 2 раза по сравнению с таковым показателям в группе контроля (Таблица 3). Пролиферативную активность лимфоцитов мы оценивали по экспрессии рецепторов для трансферина – CD 71, опосредующего включение ионов железа в клетки и регулирующего их рост и активацию. И поэтому показателю было выявлено превышение в 2 и более раза в период ремиссии (12.38 ± 2.19) и

(22.91 ± 2.26) при обострении ХОБЛ по сравнению с контрольной группой (таблица 3).

В ряде исследований было показано, что при активации клеток экспрессия дифференциальных активационных антигенов, как правило, происходит в следующем порядке: CD 25 CD 71 CD54 HLA-DR CD95. Следовательно, HLA-DR и CD 95 рассматриваются как поздние маркеры лимфоцитов [91,92].

Дальнейшие исследования лимфоцитов с активационными антигенами состояли в оценке содержания лимфоцитов, экспрессирующих рецептор адгезии CD54 (ICAM-1), отражающий готовность клеток к миграции в ткань и их взаимодействия с антигенпрезентирующими клетками. В нашей работе уровень CD 54 лимфоцитов в крови у больных ХОБЛ был почти в 2 раза выше по сравнению с аналогичным показателем группы контроля (рисунок 6).

Рисунок 6. Изменение в содержании CD54⁺-лимфоцитов у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания.

В норме рецепторы адгезии CD 54 присутствуют в низкой концентрации на мембранах лейкоцитов и эндотелиальных клеток. При стимуляции цитокинами IL- 1 и TNF- α , IFN- γ , LPS, экспрессия ICAM -1 на цитоплазматической мембране лимфоцитов резко увеличивается. ICAM -1 является лигандом интегринового рецептора LFA-1, обнаруживаемого на лейкоцитах, которые при активации связываются с эндотелием посредством комплекса ICAM. Иммунологические процессы, осуществляемые с участием молекул адгезии ICAM -1 CD54⁺, относящиеся к рецепторам интегринов, являются источником активации лимфоцитов. При этом повышается способность лимфоцитов к миграции в очаг воспаления и участию в контактных взаимодействиях с антигенпрезентирующими клетками [109,131]. Система межклеточной адгезии ICAM -1 (CD 54)\LFA 1 (CD 11a\CD18) играет важную роль при различных воспалительных заболеваниях. ICAM -1 экспрессируется на активированных лимфоцитах, моноцитах,

эозинофилах, фибробластах, эндотелии, тимическом эпителии и других эпителиальных клетках при развитии воспаления.

Согласно нашим данным выявлено, что достоверное повышение уровня лимфоцитов, несущих рецепторы адгезии ICAM (CD54+) в периферической крови более чем в 2 раза как в период обострения, так и в ремиссию ХОБЛ. Известно, что цитокины, усиливающие экспрессию ICAM -1, обладают деструктивным действием на ткань бронхов и легких [243,282]. Поэтому можно предположить, что повышение ICAM -1 является одним из косвенных доказательств, персистирующего деструктивного процесса в легких и стенках бронхов, сосудах.

Особый интерес в нашем исследовании составляло изучение маркеров готовности лимфоцитов к запуску активационного апоптоза.

Апоптоз – это естественный процесс завершения иммунного ответа, направление на удаление, выполнивших свою защитную функцию клеток и восстановление исходного состояния иммунной системы. При ряде иммунопатологических заболеваний описаны нарушения индукции активационного процесса, что в свою очередь сопровождается неуклонным прогрессированием воспалительного процесса.

Из литературы известно, что маркер поздней активации CD 95 экспрессирует на поверхности активизированных Т- и В-лимфоцитов и при взаимодействии с комплементарным рецептором Fasl(CD178) запускает процесс программированной гибели клеток.

Была проведена оценка содержания в крови лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы индукции Fas-зависимого апоптоза CD 95 и лиганда к этому рецептору CD 178 (рисунок 7). Как известно, величина экспрессии CD 95 – лимфоцитов отражает готовность лимфоцитов вступить в апоптоз т.е. включить механизм клеточной гибели по Fas – зависимому механизму.

Согласно нашим данным в период обострения у больных ХОБЛ на фоне значительного увеличения Fas (CD 95) 15.04 ± 1.06 против 4.42 ± 0.20 в контрольной группе у больных ХОБЛ, содержание Fasl (CD178) оказалось ниже нормы, и не превышало 4.82 ± 2.34 против 9.22 ± 1.04 (рисунок 7, таблица 4).

Рисунок 7. Содержание лимфоцитов, экспрессирующих рецептор Fas-зависимого апоптоза (CD95) и Fas-лиганд (CD178) у больных ХОБЛ.

Это означает, что лимфоциты готовы вступить в апоптоз, но далее процесс не происходит или существенно замедляется, и иммунное воспаление продолжается, что мы и определяем в ходе нашего исследования.

Как уже было сказано, для оценки изменений в иммунной системе приоритетное значение имеет не абсолютное количество лимфоцитов, экспрессирующих конкретные маркеры лимфоцитов, а изменения функциональной активности лимфоцитов, сопряженное с соотношением маркеров в популяции. При этом оцениваются соотношения CD25/CD95 и HLA-DR/CD95 [195]. Именно эти показатели позволяют судить о соотношении процессов пролиферации и готовности к активационному апоптозу.

Эту тенденцию подтверждают и коэффициенты, полученные при оценке соотношения CD25/CD95 и HLA-DR/CD95 .

У больных ХОБЛ не нарушено соотношение CD25/CD95, однако показатель соотношения HLA-DR/CD95 оказался ниже, чем у здоровых людей. Это, по-видимому, связано с высоким содержанием в крови больных ХОБЛ CD95⁺-лимфоцитов, что характерно при продолжающейся активации иммунной системы [105].

При оценке полученных результатов необходимо учитывать, что развитие Fas-индуцированного апоптоза происходит только после взаимодействия Fas-антигена с Fas-лигандом [219,282]. Поэтому, несмотря на более высокое содержание CD95⁺-лимфоцитов в крови больных ХОБЛ, можно предположить, что для ХОБЛ характерен более низкий уровень апоптоза лимфоцитов из-за низкого содержания лимфоцитов, экспрессирующих Fas-антиген (рисунок 8,таблица 4).

Рисунок 8. Характер активационных соотношений у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания.

Таким образом, изменения в иммунной системе, развивающиеся при ХОБЛ, имеют ряд особенностей (таблица 3, 4). При этой патологии выявлен высокий цитотоксический потенциал иммунной системы, который и вызывает развитие повреждения легочной ткани, способствует развитие пневмосклероза и эмфиземы легких. Вероятно, высокая активность цитотоксических лимфоцитов и НК-клеток является одним из факторов наследственной предрасположенности к развитию ХОБЛ. Необычным является высокий уровень маркера атопии CD23, его уровень в период обострения ХОБЛ превышал в сыворотке крови почти в 4 раза по сравнению с результатами в контрольной группе. В свою очередь, чрезвычайно высокий уровень маркеров ранней и поздней активации свидетельствуют о высокой активности Т клеточного звена и соответственно высокой концентрации медиаторов воспаления в зоне поражения как во время обострения, так и в ремиссию заболевания. Кроме этого высокая «выживаемость» цитотоксических лимфоцитов у больных ХОБЛ в результате торможения апоптоза из-за низкой экспрессии Fas-лиганда делают процесс воспаления длительным.

Таблица 3. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных с хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от стадии заболевания (%).

Маркеры активации	Здоровые доноры n=22	Больны ХОБЛ n= 50	
		Обострение	Р е м и с и я

			С С И Я
CD 23	5.29±0.30	17.85±2.53 p<0.001	6 . 3 8 ± 0 . 6 3
CD25	6.04±0.24	22.81±2.54 p<0,001	1 2 . 3 4 ± 1 . 3 5 p < 0 , 0 1
HLA-DR	11.83±0.30	29.20±0.72 p<0,001	1 1 .

			6 8 ± 2 · 1 5
CD 54	5.55±0.33	15.91±2.79 p<0,001	1 5 · 5 6 ± 2 · 3 1 p < 0 , 0 0 1
CD 71	6.32±0.21	22.95±2.26 p<0,001	1 2 · 3 8 ± 2 , 1 9

			p < 0 , 0 0 1
--	--	--	---

Таблица 4. Характеристика активационных маркеров лимфоцитов периферической крови больных с хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от стадии заболевания (%)

Маркеры активации	Здоровые доноры n=22	Больны ХОБЛ n= 50	
		Обострение	Ремиссия
CD 95	4.42±0.20	15.04±1.06 p<0.001	13.64±1.84 p<0.0

			1
CD 178	9.22±1.04	4.82±2.34 p<0.05	7.8 ±1 .1
CD 25/CD 95	1.43±0.06	1.5±0.13	1.0 0± 0.1 9
HLA-DR/CD95	3.04±0.33	1.95±0.14 p<0.01	1.1 4± 0.4 9 p< 0.0 1

3.1.3. Роль курения в патогенезе хронического воспаления у больных ХОБЛ на начальном этапе заболевания.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – хроническое воспалительное заболевание легких, при которой в результате персистирующего

воспаления развивается лишь частично обратимое ограничение проходимости скорости воздушного потока [76,145,165]. Установлено, что персистирующее воспаление при ХОБЛ развивается вследствие взаимодействия как генетических, так и внешних факторов среды [147,148]. Воспаление в дыхательных путях у пациентов ХОБЛ представляет собой физиологический, но чрезмерно выраженный (усиленный) воспалительный ответ на длительное воздействие раздражающих факторов [141,200,240]. Одним из ведущих механизмов поддержания воспаления при ХОБЛ является нарушение ПОЛ (перекисного окисления липидов) и избыток протеиназ в легочной ткани, а одним из установленных факторов, инициирующим оксидативный стресс в легких является сигаретный дым [77,147]. Курение является самым распространенным и наиболее изученным фактором риска развития ХОБЛ, однако заболевание может развиваться и у некурящих лиц, что является причиной этого пока не совсем ясно [23,30,147].

Исследования, посвященные изучению особенностей воспаления при ХОБЛ на ранних стадиях заболевания чаще всего основываются на оценке эндобронхиальных биоптатов, данных БАЛ (бронхо-альвеолярного лаважа) [170,225,278], анализов мокроты и составу выдыхаемых маркеров. Сегодня стало очевидным, что при ХОБЛ воспалительный процесс не ограничивается только повреждением бронхов и легочной ткани, а носит системный характер [98,151].

На наш взгляд, мало уделяется внимание изучению показателей, характеризующих состояние системного воспаления, что, возможно, является первопричиной приводящей к развитию и прогрессированию ХОБЛ. Поэтому исследования состояния иммунной системы посредством определения содержания в крови больных ХОБЛ цитотоксических Т – лимфоцитов, В-лимфоцитов и НК – клеток позволит уточнить патогенетические механизмы персистирующего течения этого заболевания.

Задачей нашего исследования было определение значения курения на развитие респираторного и системного воспаления у больных ХОБЛ 2 степени тяжести.

Под наблюдением находились 50 больных ХОБЛ 2 степени тяжести согласно критериям GOLD 2016 г [76]. 30 пациентов с ХОБЛ 2 ст. имели индекс курения не менее 20 пачка\ лет и 20 больных, которые никогда не курили. У всех больных отсутствовали данные об атопии и бронхиальной астмы в анамнезе. Все обследуемые больные получали ингаляционный М -холинолитик - спириву 18 мкг ежедневно и по требованию короткодействующие бронхолитики (вентолин или беродуал) по 2 вдоха. Возраст больных составивший 1 группу (курящих) от - 50 до 62 лет (средний возраст $54,1 \pm 1,3$ года). 2-ой группы (не курящих) – 58 до 75 лет ($58,21 \pm 0,7$ года) . В первой группе больных длительность анамнеза заболевания на момент осмотра составляли $6,5 \pm 0,3$ года, а во второй $3,4 \pm 0,8$ года, эта разница по годам была статистически достоверна.

В результате нашего исследования установлено, что у больных ХОБЛ 2 степени тяжести достоверной разницы между двумя группами по определяемым иммунологическим показателям получено не было (таблица 5).

Следующим этапом исследования было изучение процессов, связанных с перекисным окислением липидов, позволяющих оценить тяжесть «оксидантного стресса» у больных обеих групп. Известно, что при ХОБЛ происходит нарушение баланса системы «оксиданты – антиоксиданты» в пользу первых, что ведет к развитию так называемого «оксидантного стресса»[77,189]. У всех обследованных нами больных ХОБЛ 2 ст отмечено повышение первичных и вторичных продуктов пероксидации и эти показатели были достоверно выше нормальных значений в обеих группах пациентов (таблица 6).

Подобные изменения происходили на фоне достоверного снижения активности таких ферментов антиоксидантной защиты клеток, как супероксиддисмутаза (СОД) и глутатионпероксидаза (ГП) (таблица 6). Патологические изменения ПОЛ при ХОБЛ 2 степени тяжести подтверждены показателями, полученные при определении резистентности ЛНП к окислению *in vitro*, что было статистически достоверно (таблица 7). При сравнении 2-х групп больных ХОБЛ 2 ст. видно, что более выраженные изменения ПОЛ отмечены в группе курящих пациентов (таблица 7).

Есть мнение, что воспаление дыхательных путей и паренхимы легких связано с развитием иммунологической воспалительной реакции в ответ на ирританты (в частности на табачный дым)[176,270]. Механизм такого усиления воспалительной реакции или амплификации пока остается до конца не изученным, но он может быть детерминирован генетическими факторами, или латентными бактериальными или вирусными инфекциями [187,250,281]. В эксперименте роль аутоиммунной системы в нарушении процессов репарации в легких, приводящей к апоптозу и амплификации иммунных дефектов в ткани легких было продемонстрировано тем, что внутрибрюшная инъекция крысам CD 4 – T – лимфоцитов, полученных из селезенки, приводит к развитию эмфиземы легких у испытуемых [286]. До конца не выясненными остаются истоки наблюдаемого при ХОБЛ системного воспаления. Статья Hogg с соавторами – первая и основополагающая работа, в которой системное воспаление в легких всесторонне изучено у больных на всех стадиях ХОБЛ [201]. По мере возрастания тяжести ХОБЛ авторы наблюдали прогрессирующие утолщение стенки бронхов, вызванное в первую очередь аккумуляцией клеток воспаления, а в случае тяжелой и крайне тяжелой степени (III и IV – стадии по классификации Международной инициативной группы по проблемам ХОБЛ –GOLD) лимфоциты были уже организованы в фолликулы, что указывает на развитие адаптивного иммунного ответа [93,187,201].

В нашем исследовании в обеих группах у больных ХОБЛ 2 ст. в периферической крови отмечали повышение первичных и вторичных продуктов пероксидации, снижения активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы). Однако степень этих изменений оказалась выше в группе больных ХОБЛ, имевших высокий индекс курения (более 20 пачка\лет). Как известно, сигаретный дым – наиболее важный фактор, инициирующий «оксидантный стресс» в легких, оксиданты оказывают прямое токсическое действие на структурные элементы легких – соединительную ткань, ДНК, липиды, белки [267] и данные полученные в нашем исследовании вполне согласуются с этим утверждением. В связи с тем, что признаки

нарушения ПОЛ получены и в группе некурящих больных, можно утверждать, что курение не единственный фактор, способствующий «оксидативному стрессу» при ХОБЛ и его механизм инициирования, пока остается до конца неизвестен. Мнение, что это генетически детерминированный ответ на латентные вирусные или бактериальные инфекции требует дальнейшего изучения и подтверждения [237].

У всех обследованных нами пациентов уже на ранних стадиях заболевания ХОБЛ 2 степени тяжести были выявлены изменение иммунного статуса, свидетельствующие не только о локальном воспалении дыхательных путей, но и о системном. В сыворотке крови больных ХОБЛ 2 ст. обеих групп, выявлены изменения в крови трех основных популяций лимфоцитов: Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и НК – клеток, а также субпопуляций Т- и В- лимфоцитов и показателей активации апоптоза [129]. В работах Hogg, W.Q и др. 2004 г. и Gan W.Q. 2004 г. [187,201], посвященных изучению воспаления при ХОБЛ отмечена четкая тенденция усиления активности адаптивного иммунного ответа по мере прогрессирования заболевания и появления системной патологии со стороны других органов и систем у больных 3-4 стадии ХОБЛ [286].

В нашей работе признаки активного иммунного ответа на воспаление в легких и показатели нарушения перекисного окисления липидов имеются в системном кровотоке уже на ранних стадиях заболевания ХОБЛ 2 степени тяжести.

Мы установили, что у больных ХОБЛ 2 степени тяжести отмечены достоверные изменения иммунологических показателей по сравнению с здоровыми людьми (таблица 5). Но достоверной разницы в иммунологическом статусе у больных ХОБЛ 2 ст. между курящими и не употребляющие табак получено не было. Возможно, это связано с недостаточным количеством обследуемых пациентов в нашей работе, а может говорить о изначально генетически детерминированной патологии.

В ряде работ не исключается, что в основе системного воспаления при ХОБЛ, лежит проявление генетически обусловленной чувствительности к действию

сигаретного дыма на различные ткани «органов мишеней»[221,311]. Наши данные это не подтверждают.

Возможно, воспаление дыхательных путей и паренхимы легких при ХОБЛ связано с развитием системной иммунологической воспалительной реакции в ответ на различные раздражители, в частности табачного дыма [147]. Что дает основание согласиться с гипотезой «перетекания» (spillover), что бронхиальное воспаление сочетается с системным уже на ранних этапах проявления заболевания [196,246,208,293].

Итак, ХОБЛ – заболевание, в основе которого лежат совершенно различные, но чаще всего взаимосвязанные процессы. На фоне иммунологических изменений признаки «оксидантного стресса», как ведущего механизма поражения легких при ХОБЛ, выявляются в периферической крови у больных уже на ранних стадиях заболевания [77]. Выраженный «оксидантный стресс» у больных ХОБЛ, злоупотребляющих курением, приводит к более раннему появлению и тяжелому течению болезни. Длительность заболевания у больных ХОБЛ 2 ст. тяжести составляла $6,5 \pm 0,3$ лет (у некурящих $3,4 \pm 0,8$ лет), а средний возраст в этих группах составил $54,1 \pm 1,3$ лет и $58,21 \pm 0,7$ лет соответственно. Изучение различных звеньев патогенеза и их взаимодействия позволит в дальнейшем разработать стратегию ранней патогенетической профилактики и лечения ХОБЛ [97,130,172].

Таблица 5. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у больных ХОБЛ 2 ст.

Популяции лимфоцитов	Маркеры лимфоцитов	Здоровые доноры n =22	1-ая группа больных ХОБЛ n =30	2-ая группа больных ХОБЛ n =20 (без курения)
T-лимфоциты	CD3	65.2 ± 0.66	53.3 ± 2.2	51.8 ± 1.02
	CD4	36.48 ± 0.95	33.8 ± 0.61	35.0 ± 2.6

	CD8	25.9±0.50	32.9±1.9	32.23±0.27
НК – клетки	CD16	13.22±0.43	22.1±1.1	23.8±2.1
	CD56	4.47±0.09	18.0±1.9	20.1±2.18
В - лимфоциты	CD20	10.15±0.16	12.2±0.6	11.5±0.16
	CD72	10.10±0.39	10.34±1.0	10.8±1.2
	mlgM	5.13±0.18	12.1±2.0	13.1±0.9
	mlgG	6.54±0.48	13.1±1.1	12.9±1.6

Таблица 6. Изменения показателей ПОЛ у больных ХОБЛ 2 (группа 1 курящие и 2 группа – без употребления курения).

Показатели\норма	Норма	ХОБЛ 2 – 1 группа (30 больных)	ХОБЛ 2– 2 группа (20 больных)
Гидроперекиси липидов (ГПЛ)	0.56 ± 0.03 отн. Ед\мл.эр.	1.0±0.007**	0.9±0.014*
Малоновый диальдегид(МДА)	1.138 ± 0.14 нмоль\10 ⁻⁶ эр.	1.4±0.1**	1.2±0.09*
Супероксиддисмутаза (СОД)	1510 ±52.0 УД, акт\ г, НВ	1280±96**	1300±11.2*
Глютатионпероксидаза (ГП)	0.06±0.005 ЕД, акт\г НВ	0.04±0.0045**	0.06±0.003

Примечание: ** <0,05 по сравнению с нормой

* < 0,05 по сравнению между группами

Таблица 7. Исходный уровень ПОЛ и резистентность к окислению ЛНП у больных ХОБЛ.

Содержание продуктов ПОЛ в ЛНП (нмоль мда\мг лип) исходно и после инкубации.

Группа обследованных	0	0.5 часа	1 час	2 часа	3 часа
Контрольная группа	2.1±0.18	3.9±0.5	8.5±1.1	13.1±0.8	13.2±1.5
I группа ХОБЛ(курящие)	2.7±0.1*	6.5±0.6*	10.1±0.9*	14.5±1.8*	14.7±2.0*
II группа ХОБЛ (не курящие)	2.2±0.2**	4.6±0.7**	7.2 ±1.0**	10.1±1.3**	11.5±1.3*

Примечание: * p < 0,05 по сравнению с контрольной группой.

** p < 0,05 по сравнению с ХОБЛ.

3.2. Сравнительная характеристика поверхностных рецепторов лимфоцитов у больных ХОБЛ и БА.

Бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких - два самостоятельных хронических заболевания респираторной системы, наиболее распространенные среди населения. Несмотря на вполне определенные различия между БА и ХОБЛ по механизмам развития, в клинических проявлениях и принципах профилактики и лечения эти два заболевания имеют некоторые общие черты [128]. Вместе с тем дифференциальный диагноз между ХОБЛ и БА в ряде случаев представляет значительные трудности, что диктует необходимость поиска новых маркеров заболеваний, в частности, среди иммунологических показателей [95,128,129,132].

Целью этой главы является проведение дифференциальной диагностики с помощью современных иммунологических методов обследования у больных ХОБЛ и БА. Метод определения поверхностных антигенов лимфоцитов с помощью моноклональных антител обладает такими неоспоримыми преимуществами, как быстрота постановки эксперимента и относительная методическая простота [105,106,107,109].

В соответствии с задачами настоящего исследования у больных оценивали представительство в периферической крови трех основных популяций лимфоцитов: Т – лимфоцитов, В – лимфоцитов и НК – клеток.

Обострение БА характеризуется достоверным снижением общего числа Т-лимфоцитов ($CD3^+$) в периферической крови. Это снижение происходит как за счет уменьшения хелперно-индукторных лимфоцитов ($CD4^+$), так и в результате снижения количества цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD8^+$)(рисунок 9). Отражением этих изменений является достоверное повышение соотношения $CD4/CD8$ (иммунорегуляторный индекс) с $1,42 \pm 0,04$ у доноров до $1,65 \pm 0,005$ у больных БА ($p < 0,001$).

У больных ХОБЛ, напротив, наблюдалось существенное увеличение содержания в крови цитотоксических лимфоцитов, независимо от стадии заболевания ($p < 0,001$). В то же время у больных ХОБЛ в стадию ремиссии также

наблюдалось снижение содержания в крови Т-лимфоцитов (CD3) до $52,28 \pm 2,27\%$ по сравнению со здоровыми людьми. При этом в крови больных ХОБЛ в стадии ремиссии выявляется высокое содержание Т-лимфоцитов с фенотипом CD8⁺ ($32,9 \pm 1,96\%$), что, по-видимому, является отражением чрезмерной стимуляции Т-клеточного звена иммунной системы у этих пациентов (рисунок 9).

Рисунок 9. Содержание популяции Т – лимфоцитов и их субпопуляций у больных ХОБЛ и БА.

При изучении содержания естественных натуральных киллеров в крови больных БА было выявлено увеличение количества активированных НК-клеток (CD56⁺-лимфоциты). У больных ХОБЛ наблюдалось выраженное повышение содержания в крови обеих субпопуляций лимфоцитов (CD16, CD56) ($p < 0,0001$) (рисунок 10). По-видимому, резкое увеличение содержания НК клеток при ХОБЛ связано с тем, что ИЛ-1 и TNF- α усиливают их пролиферацию [264,268], а синтез именно этих цитокинов существенно повышен при ХОБЛ [6,7,8].

Рисунок 10. Содержание субпопуляций НК-лимфоцитов в крови больных ХОБЛ и БА.

В стадии обострения у больных с БА и ХОБЛ исследование содержания В-лимфоцитов в периферической крови больных демонстрирует увеличение всех дифференцированных форм В-лимфоцитов (рисунок 11). Общее содержание В-лимфоцитов (CD20⁺) увеличивается у больных БА в стадии обострения более чем в 1,5 раза. Количество премированных антигеном В-лимфоцитов (CD72⁺) также

повышено и превышает уровень здоровых доноров в 1,5 раза. У больных ХОБЛ повышение содержания этих форм лимфоцитов было еще выше (рисунок 11).

В то же время содержание маркеров CD20⁺ и CD72⁺ В-лимфоцитов в крови больных БА и ХОБЛ в стадию ремиссии практически не отличалось от показателей группы контроля (рисунок 11).

Рисунок 11. Содержание В-лимфоцитов в крови больных ХОБЛ и БА.

Анализ содержания в периферической крови зрелых В-клеток, несущих поверхностные иммуноглобулины М и G, показал их существенное увеличение, независимо от стадии заболевания в обеих группах больных (рисунок 12).

Рисунок 12. Содержание В-лимфоцитов, экспрессирующие поверхностные Ig в крови больных ХОБЛ и БА.

Из представленных результатов следует, что у обследованных больных в стадии обострения имеет место существенное повышение количества В-лимфоцитов всех стадий дифференцировки, что позволяет говорить об активации В-клеточного звена иммунной системы в целом.

Таким образом, анализ изменений основных популяций лимфоцитов позволил выявить, что при бронхиальной астме как в стадии ремиссии БА так и при обострении этого заболевания наблюдается снижение общего количества Т-лимфоцитов (CD3⁺) за счет субпопуляций как Т-хелперов, так и цитотоксических Т-лимфоцитов (таблица 8) причем содержание цитотоксических Т-лимфоцитов снижается в большей степени. Напротив, независимо от стадии заболевания, у больных ХОБЛ наблюдается существенное увеличение содержания в крови цитотоксических Т-лимфоцитов. Изучение содержания в крови больных НК-клеток показало, что при БА наблюдается повышение уровня только CD56⁺-

лимфоцитов, в то время как содержание $CD16^+$ -находится в пределах нормы или даже снижено (таблица 8). У больных же ХОБЛ наблюдается резкое повышение содержания в крови обеих субпопуляций НК-клеток, независимо от стадии заболевания. Изменения В-клеточного звена иммунной системы у больных БА и ХОБЛ были однонаправленными (таблица 8). В стадии обострения мы наблюдали у обследуемых больных обеих групп изменения всех субпопуляций В – лимфоцитов в сторону увеличения. В стадии ремиссии БА и ХОБЛ, в отличие от стадии обострения, не наблюдается достоверных изменений в содержании в периферической крови общего количества В-лимфоцитов ($CD20^+$), а также лимфоцитов, экспрессирующих $CD72$ -антигены (таблица 8). В тоже время, количество зрелых В – лимфоцитов, экспрессирующих иммуноглобулины $mIgM$, $mIgG$ на клеточной мембране лимфоцитов, достоверно выше по сравнению с группой контроля у больных ХОБЛ в обе стадии заболевания (таблица 8). Существенное повышение содержания в крови лимфоцитов, экспрессирующих поверхностные иммуноглобулины позволяет, в свою очередь, утверждать, что у больных БА и ХОБЛ В-клеточная активация является отражением постоянно поддерживаемого процесса антигенной стимуляции с хроническим течением.

Независимо от периода заболевания при БА понижается содержание Т-лимфоцитов ($CD3^+$) за счет преимущественного снижения количества цитотоксических клеток ($CD8^+$). Напротив, для больных ХОБЛ, независимо от периода заболевания, характерно резкое увеличение содержания в крови цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток. Возможно, именно эти выявленные изменения в организме у больных ХОБЛ играют ведущую роль в повреждении легочной ткани и быстром развитии эмфиземы и пневмосклероза [130,132,138,273,275,276].

Таблица 8. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных ХОБЛ и БА в зависимости о стадии заболевания (%).

Популяции лимфоцитов	Маркеры лимфоцитов	Здоровые доноры (n=22)	Больные БА (n=50)		
			обострение	ремиссия	обострение
Т-лимфоциты	CD3	65.20±0.66	56,64±1.72*	50.52±1.02*	61.65±2.95
	CD4	36,48±0.95	33.42±0.73**	32.96±0.53***	32.60±0.71***
	CD8	25.90±0.50	20.69±0.73*	18.81±0.27*	36.23±2.54*
NK - клетки	CD16	13.22±0.43	9.73±0.33*	12.41±0.74	25.24±3.16*
	CD56	4.47±0.09	15.58±1.14*	9.57±0.55*	22.18±2.13*

В - лимфоциты	CD20	10.15±0.16	17.44±0.64*	12.40±0.52	26.35±1.92*
	CD72	10.10±0.39	15.67±0.56*	10.18±0.35	18.15±2.34**
	mIgM	5.13±0.18	14.22±0.32*	8.89±0.26**	29.14±2.18*
	migG	6.54±0.48	14.17±0.31*	8.94±0.22***	21.65±1.15*

3.3. Сравнительная характеристика активационных антигенов лимфоцитов у больных ХОБЛ и БА.

При анализе содержания в крови больных лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены, было показано, что и у больных ХОБЛ, и у больных БА наблюдается достоверное повышение содержания в крови CD25⁺ и CD71⁺-лимфоцитов независимо от стадии заболевания. Из нашей работы следует, что у больных ХОБЛ и БА даже вне обострения заболевания, мы не отмечаем нормализацию иммунологических показателей, что свидетельствует об отсутствии достижения иммунологической ремиссии. В то же время содержание HLA-DR⁺-лимфоцитов в крови больных существенно увеличивалось только в стадию обострения. Характерно, что у больных ХОБЛ в стадию обострения содержание активированных форм лимфоцитов было существенно выше, чем у больных бронхиальной астмой (рисунок 13).

Рисунок 13. Содержание лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены у больных БА и ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания.

У больных бронхиальной астмой независимо от стадии заболевания наблюдается достоверный прирост количества активированных В-лимфоцитов (CD23⁺) по сравнению с группой контроля. У больных ХОБЛ существенное повышение содержания в крови CD23⁺-лимфоцитов наблюдалось только при обострении заболевания. Полученные результаты не позволяют считать повышение содержания в крови CD23⁺-лимфоцитов патогномичным только для атопических заболеваний, в частности бронхиальной астмы (рисунок 14).

Рисунок 14. Изменение в содержании CD23⁺-лимфоцитов у больных БА и ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания.

У больных с обеими патологиями наблюдается существенное увеличение в крови содержания лимфоцитов, экспрессирующих рецептор адгезии CD54 (ICAM-1), что, по-видимому, отражает повышенную готовность лимфоцитов крови к миграции в ткань и их взаимодействие с антигенпрезентирующими клетками. Это увеличение не зависит от стадии заболевания. Уровень CD54⁺-лимфоцитов в крови больных с бронхиальной астмой был почти в 2 раза выше, чем у больных ХОБЛ (рисунок 15).

Рисунок 15. Изменение в содержании CD54⁺-лимфоцитов у больных БА и ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания.

Из наших данных видно, что для определения течения и введения больных с ХОБЛ и БА необходимо учитывать не только клинические симптомы, но и

динамику иммунологических показателей, что позволит уточнить объем и длительность терапии при этих заболеваниях.

Интересные результаты были получены при оценке содержания в крови лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы индукции Fas-зависимого апоптоза CD95 и лиганда к этому рецептору CD178. Содержание в крови лимфоцитов, экспрессирующих Fas-антиген, у больных БА в стадии обострения имеет тенденцию к понижению по сравнению с группой контроля. В то же время у больных БА в стадии ремиссии содержание в крови CD95⁺-лимфоцитов существенно возрастало. У больных же ХОБЛ, независимо от стадии заболевания, содержание в крови лимфоцитов, экспрессирующих Fas-антиген резко возрастало. Показано, что у больных БА содержание в крови CD178⁺-лимфоцитов было существенно выше, чем у здоровых людей, в то время как у больных ХОБЛ этот показатель был ниже в 2 раза, чем в контрольной группе (рисунок 16).

Рисунок 16. Содержание лимфоцитов, экспрессирующих рецептор Fas-зависимого апоптоза (CD95) и Fas-лиганд (CD178) у больных БА и ХОБЛ.

Для оценки изменений в иммунной системе приоритетное значение имеет не абсолютное количество лимфоцитов, экспрессирующих конкретные маркеры лимфоцитов, а изменения функциональной активности лимфоцитов, сопряженное с соотношением маркеров в популяции. В связи с этим было предложено оценивать соотношения CD25/CD95 и HLA-DR/CD95 (рисунок 17) [255].

Рисунок 17. Характер активационных соотношений у больных БА и ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания.

Показано, что при обострении БА соотношение CD25/CD95 увеличено в 2 раза по сравнению с соответствующими параметрами контрольной группы. Это отражает более высокую готовность клеток к вступлению на путь пролиферации и дифференцировки по отношению к готовности к вступлению на путь активационного апоптоза. Соотношение HLA-DR/CD95 в период обострения

астмы по сравнению с группой контроля также увеличено, что отражает превышение готовности клеток к приобретению позднего дифференцировочного антигена HLA-DR над готовностью клеток вступать на путь активационного апоптоза. Из сопоставления степени повышения CD25/CD95 по сравнению с HLA-DR/CD95 следует, что в ходе обострения БА процессы пролиферации и дифференцировки лимфоцитов преобладают над процессами активационного апоптоза.

При ремиссии БА в отличие от периода обострения этого заболевания определяется иной характер активационных соотношений CD25/CD95 и HLA-DR/CD95. Соотношение CD25/CD95 понижается (таблица 9) что, с одной стороны, свидетельствует о снижении остроты процесса, а с другой стороны, отражает преобладание повышенной готовности лимфоцитов к индукции Fas-опосредованного апоптоза (CD95) над готовностью лимфоцитов к пролиферации (CD25). Нарушение баланса CD95⁺-лимфоцитов и HLA-DR⁺-лимфоцитов при ремиссии БА проявляется в виде достоверного снижения показателя HLA-DR/CD95 до $1,75 \pm 0,01\%$ у больных в этот период заболевания по сравнению с $3,04 \pm 0,33\%$ в контрольной группе. Это соотношение отражает направление перестройки иммунной системы. В данном случае мы наблюдаем преобладание процессов активационного апоптоза лимфоцитов (CD95) над их готовностью к дифференцировке и приобретению позднего дифференцировочного антигена (HLA-DR). По-видимому, для периода ремиссии характерно формирование иммунологической анергии при этом заболевании.

Независимо от стадии заболевания у больных ХОБЛ не наблюдается достоверного изменения соотношения CD25/CD95, а соотношение HLA-DR/CD95 было ниже, чем у здоровых людей. Это, по-видимому, связано с высоким содержанием в крови больных ХОБЛ CD95⁺-лимфоцитов, что характерно для активации иммунной системы [91,104,255].

При оценке полученных результатов необходимо учитывать, что развитие Fas-индуцированного апоптоза происходит только после взаимодействия Fas-антигена с Fas-лигандом [219,282]. Поэтому, несмотря на более высокое

содержание CD95⁺-лимфоцитов в крови больных ХОБЛ, по сравнению с обследованными больными бронхиальной астмой, можно предположить, что для ХОБЛ характерен более низкий уровень апоптоза лимфоцитов, чем при астме из-за низкого содержания лимфоцитов экспрессирующих Fas-антиген.

Для более полного представления об изменениях активационных антигенов у больных БА и ХОБЛ полученные результаты представлены в таблице 9 .

Сравнительный анализ результатов изучения активационных маркеров лимфоцитов при БА и ХОБЛ позволил выявить, что обострение при обоих заболеваниях приводит к существенному повышению содержания в крови лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены CD23, CD25, CD71 и HLA-DR (таблица 9).

В стадию ремиссии у больных БА и ХОБЛ сохранялось повышенное содержание лимфоцитов, несущих на поверхности ранние активационные антигены CD25 и CD71. Эти изменения можно объяснить тем, что клиническая ремиссия при изученных заболеваниях не сопровождается полной иммунологической ремиссией, и иммунопатологические процессы носят персистирующий характер.

Показательно, что содержание в крови больных БА CD23⁺-лимфоцитов, экспрессирующих низкоаффинный рецептор к IgE оставалось повышенным в обе стадии заболевания, тогда как у больных ХОБЛ отмечалось существенное увеличение этого показателя только в стадию обострения заболевания (таблица 9). Полученные нами данные свидетельствуют о том, что повышение содержания в крови CD 23 – лимфоцитов не являются патогномичными только для атопических заболеваний.

В крови у больных с обеими изучаемыми патологиями содержание CD54⁺-повышалось независимо от стадии заболевания, однако у больных бронхиальной астмой было выше почти в 2 раза (таблица 9). Возможно, более высокое содержание в крови больных БА и ХОБЛ лимфоцитов, экспрессирующих молекулу адгезии ICAM-1 связано с особенностями цитокинового профиля при этих заболеваниях. Из литературных данных известно, что экспрессия ICAM-1 усиливается под влиянием цитокинов (IL-1, TNF-α, INF-γ, LPS), обладающих

деструктивным действием на ткань легких [91,92,93]. Поэтому можно предположить, что повышение ICAM-1 является одним из косвенных доказательств персистирующего деструктивного процесса легких у больных ХОБЛ и БА [98].

Таблица 9. Характеристика активационных маркеров лимфоцитов периферической крови больных с бронхиальной астмой и больных с хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от стадии заболевания (%).

Маркер активации	Здоровые доноры n=22	Больные БА n=50	Бо л ь н ы е Х О Б Л 2 с т а д и я n = 5 0

		обострение	ремиссия	обострение
CD23	5,29±0,30	13,26±0,36 p<0,001	9,76±0,39 p<0,05	17,85±2,53 p<0,001
CD25	6,04±0,24	15,70±0,37 p<0,001	11,83±0,26 p<0,01	22,81±2,54 p<0,001
CD71	6,32±0,21	13,11±0,77 p<0,001	11,3±0,34 p<0,01	22,95±2,26 p<0,001
HLA-DR	11,83±0,30	23,85±0,65 p<0,001	12,92±0,29	29,2±0,72 p<0,001
CD54	5,55±0,33	27,92±1,55 p<0,001	26,29±0,69 p<0,001	15,91±2,79 p<0,001
CD95	4,42±0,20	3,74±0,68	7,74±0,32 p<0,01	15,04±1,06 p<0,001
CD178	9,22±1,04	13,85±1,09 p<0,01	10,1±1,2	4,82±2,34 p<0,05
CD25/CD95	1,43±0,06	3,17±0,45 p<0,01	1,20±0,08 p<0,05	1,05±0,13
HLA-DR/CD95	3,04±0,33	5,23±0,64 p<0,01	1,75±0,01 p<0,01	1,95±0,14 p<0,01

Таким образом, изменения в иммунной системе, развивающиеся при ХОБЛ, имеют ряд существенных отличий от изменений, характерных для больных БА, в первую очередь за счет существенного повышения содержания цитотоксических лимфоцитов в крови. Для ХОБЛ характерно значительное повышение содержания в периферической крови цитотоксических лимфоцитов: Т – лимфоцитов (CD 8) в среднем до 34%, а НК-клеток (CD 16) до 33%. Напротив, при БА характерно низкое содержание в периферической крови цитотоксических лимфоцитов: Т – лимфоцитов (CD 8) в среднем до 21%, а НК-клеток (CD 16) до 10%.. Вероятно, высокая активность цитотоксических лимфоцитов и НК-клеток является одним из факторов наследственной предрасположенности к развитию

ХОБЛ. В свою очередь, высокая «выживаемость» цитотоксических лимфоцитов у больных ХОБЛ может быть объяснена снижением их апоптоза из-за низкой экспрессии Fas-лиганда.

Выявленные изменения иммунного ответа у больных, страдающих ХОБЛ, позволяют понять причину неуклонно прогрессирующего персистирующего воспаления и определяют направление поиска патогенетически оправданного медикаментозного лечения.

Полученные данные позволяют выделить понятие «иммунологической ремиссии», что позволит более оправдано определять сроки и объем медикаментозной терапии при ХОБЛ и БА.

При БА мы получили низкие по сравнению с группой контроля показатели CD8, CD16 лимфоцитов, а при ХОБЛ, наоборот, аналогичные показатели достоверно выше контрольных. При БА мы выявили высокое содержание CD 178 лимфоцитов, а при ХОБЛ достоверно низкие. При сравнении содержания CD 54 – лимфоцитов у больных БА и ХОБЛ у последних эти значения примерно в 2 раза ниже. При сравнении содержания CD 95 лимфоцитов в периферической крови у больных ХОБЛ и БА у последних содержание данного показателя достоверно низкое, а при ХОБЛ достоверно высокое.

Таблица 10. Дифференциальные отличия поверхностных маркеров лимфоцитов у больных ХОБЛ и БА.

Заболевание	Поверхностные маркеры лимфоцитов			
	CD8	CD16	CD178	CD54
ХОБЛ				

БА				
-----------	--	--	--	--

Использование представленных в таблице 10 иммунологических параметров позволяет повысить точность дифференцировки между БА и ХОБЛ, что приводит не только к улучшению диагностики, но и выявлению терапевтических мишеней и предикторов ответа на лечение при этих заболеваниях.

Заключение

Хронические обструктивные заболевания легких являются одной из ведущих причин стойкой и временной утраты трудоспособности, нанося обществу значительный экономический ущерб, что обуславливает их общую медицинскую и социальную значимость [2,18,19,73,122,123,127].

В России распространенность ХОБЛ составляет около 16 чел на 100000 населения и сокращает продолжительность жизни больных в среднем на 8 лет. В настоящее время ХОБЛ встречается у 5-7% людей старше 40 лет и является 4-ой по значимости причиной смертности. По данным ВОЗ прогноз роста экономического ущерба от ХОБЛ неутешителен и к 2020 году это заболевание выйдет на первое место среди болезней органов дыхания и на 5-ое среди всех заболеваний [6,8,9,71,72,73]. Бронхиальная астма поражает от 1 до 18% населения в разных странах, существенно снижает качество жизни пациентов, имеет высокую стоимость лечения, является причиной смерти 250 тыс. больных в год [188,189]. В Российской Федерации зарегистрировано 1,4 млн. пациентов с БА, при этом ежегодно регистрируется до 120 тыс. новых случаев и 3,6 тыс. больных умирают от этого заболевания [41,78]. По данным Российского респираторного общества в нашей стране согласно результатам эпидемиологических исследований распространённость БА среди детей составляет 5,6-12,1 %, среди взрослых -5,6-7,3 % [65]. При анализе эпидемиологических исследований БА у детей и взрослых, проведенных с 1990 по 2009 г., было отмечено продолжающиеся увеличение распространённости БА в большинстве регионов мира, особенно выраженное в странах с низким уровнем заболеваемости БА на период 1990-х годов [188,190]. Кроме того, более чем у половины больных БА, получающих лечение, не достигается контроль заболевания, а стало быть, возникает низкое качество жизни пациентов [10,65,176,205,254,216].

Происходящие изменения в эпидемиологии этих заболеваний, неуклонный рост заболеваемости, увеличение тяжелых форм и роста смертности от них, существующие трудности в подборе лечебных и профилактических средств в промышленно развитых странах, определяют медико-социальное значение БА и ХОБЛ, что обуславливает необходимость поиска новых методов диагностики и терапии [55,56,78,85,118,234]. Для поиска лекарственных средств, способных тормозить хроническое воспаление, лежащее в основе БА и ХОБЛ, необходимы дальнейшие исследования клеточных и молекулярных механизмов этого процесса при данных заболеваниях [149,161,299,302]. Несмотря на достигнутые успехи в

лекарственной терапии больных БА и ХОБЛ [116,117,159,171,172,238,239], уровень контроля над симптомами заболевания БА нельзя считать удовлетворительным, еще ниже он отмечен у больных ХОБЛ [55,65,76,97]. Для достижения полного контроля над БА и ХОБЛ возникает необходимость в изучении причин низкого уровня контроля над течением этих заболеваний и факторов, которые могут влиять на течение данной патологии.

Целью настоящего исследования было определение новых подходов в оценке активности и прогрессирования воспаления у больных ХОБЛ и БА на основе полученных клинико-иммунологических показателей и проведения дифференциальной диагностики между этими заболеваниями.

Для клинической иммунологии наибольший интерес представляет изучение экспрессии мембранных гликопротеидных молекул, обозначаемых как CD3-, CD4- и CD8-антигены и характеризующие Т-клеточное звено иммунной системы [133,149,151]. Это связано с тем, что CD3-антиген является составной частью мембрано-ассоциированной структуры антигенспецифического Т-клеточного рецептора (TcR/CD3), обеспечивающей запуск процессов антигензависимой активации Т-клетки [158,193], а молекулы CD4 и CD8, распознающие структурные детерминанты антигенов соответственно II и I классов главного комплекса гистосовместимости, обеспечивают процесс иммунологического ограничения и, кроме того, способны самостоятельно, без участия TcR/CD3 передавать активирующий Т-клетку сигнал [179]. И, наконец, несмотря на известные ограничения [214,282], антигены CD3, CD4 и CD8 остаются широко используемыми маркерами для количественной оценки всей популяции Т-клеток (CD3), хелперно-индукторной (CD4) и супрессорно-цитотоксической (CD8) субпопуляции Т-лимфоцитов [105,160].

Не менее важным является изучение и В-клеточного звена иммунной системы, основанное на выявлении различных маркеров В-лимфоцитов. Это объясняется тем, что В-лимфоциты по своим функциональным свойствам предназначены для реализации реакций гуморального иммунитета посредством выработки специфических антител. Среди наиболее важных маркеров,

характеризующих В- клеточное звено, выделяют такие антигены как CD20-, CD72-, mIgM и mIgG. CD20 – антиген, который характеризует общее количество В- лимфоцитов. Мембранный гликопептид CD72 обнаруживается на всех В-лимфоцитах в периферической крови и в костном мозге, исключая плазматические клетки [274]. Биологическая роль CD72- антигена заключается в активации зрелых В- лимфоцитов и в регуляции иммунного ответа при недостаточности его у новообразованных В- лимфоцитов [204,301,310]. Отличительной особенностью созревающих и зрелых В- лимфоцитов является наличие поверхностных иммуноглобулиновых молекул. Активно синтезируемые поверхностные иммуноглобулины отсутствуют на других клетках иммунной системы и с высокой степенью достоверности характеризуют В-клетки [105]. Основными изоформами мембранных иммуноглобулинов (mIg) являются mIgM и mIgG. mIgG представлен на небольшом количестве В – лимфоцитов. Однако это количество может увеличиваться при связывании с иммуноглобулином через Fc-рецептор [47].

Представляет интерес изучение еще одной популяции лимфоцитов, такой как естественные киллерные клетки (NK – клетки), отличающиеся от Т- и В-лимфоцитов не только по происхождению, но и по выполняемым функциям. NK – клетки первыми настраиваются на защиту организма против чужеродных и измененных клеток. Отличаются естественные киллерные клетки от основных популяций лимфоцитов и поверхностными рецепторами. В качестве маркера NK – клеток используют поверхностный рецептор CD16, который отражает общее количество NK – клеток. О количестве активированных естественных киллерных клетках судят по экспрессии другого антигена – CD56. При заболеваниях легких, в том числе при БА и ХОБЛ, эта популяция клеток изучена слабо, поэтому требуется проведение дополнительных исследований.

Поскольку проведенный нами количественный анализ иммунологических показателей больных БА и ХОБЛ не отражает полностью механизмов вовлечения иммунной системы в патологический процесс, нами проведено изучение изменений экспрессии активационных маркеров лимфоцитов, характеризующих

функциональное состояние различных звеньев иммунной системы. Этот этап исследований был также проведен отдельно для больных в стадии обострения заболевания и в стадии ремиссии. Широкое практическое применение в иммунодиагностике получили маркеры ранней (CD25, CD71) и поздней (HLA-DR, CD95) активации лимфоцитов [224]. Для оценки запуска активации лимфоцитов использовали маркеры ранней активации – CD 25 - рецептор для интерлейкина-2, обеспечивающий быстрое размножение и последующую дифференцировку наивных Т- клеток до зрелых форм. Пролиферативную активность лимфоцитов оценивали по экспрессии рецепторов для трансферрина - CD71, опосредующего включение ионов железа в клетки и регулирующего их рост и активацию. Для изучения активации В- клеток определяли экспрессию антигена CD23 – низкоафинного рецептора для mIgE. Увеличение экспрессии HLA-DR- антигена свидетельствует о включении поздней стадии активации лимфоцитов. Этот маркер несут как В- лимфоциты, так и активированные Т- клетки. CD54- адгезивный лиганд лимфоцитов – также рассматривается как показатель активации иммунокомпетентных клеток. Величина экспрессии CD95⁺-лимфоцитов отражает готовность лимфоцитов вступить в апоптоз т.е. включить механизм запрограммированной клеточной гибели по Fas – зависимому механизму.

Независимо от стадии заболевания БА характеризуется достоверным снижением общего числа Т – лимфоцитов (CD 3⁺) в периферической крови. Это снижение происходит как за счет уменьшения хелперно – индукторных лимфоцитов (CD 4⁺), так и в результате снижения количества цитотоксических Т – лимфоцитов (CD 8⁺). Отражением этих изменений является достоверное повышение соотношения CD4/ CD8 (иммунорегуляторный индекс) с $1,42 \pm 0,04$ у доноров до $1,65 \pm 0,005$ у больных БА ($p < 0,001$).

Изучение содержания в крови больных НК-клеток показало, что при БА наблюдается повышение уровня CD56⁺- лимфоцитов, независимо от стадии заболевания, в то время как содержание CD16⁺- снижено в стадии обострения, а при ремиссии этот показатель не отличался от группы контроля. В стадии ремиссии при БА практически не наблюдается достоверных изменений в

содержании в периферической крови общего количества В - лимфоцитов (CD20⁺), а также лимфоцитов, экспрессирующих CD72-антигены. В тоже время количество зрелых В-лимфоцитов, начавших синтез антител и экспрессирующих иммуноглобулины на клеточной мембране (mIgM⁺ -лимфоциты) и в стадии ремиссии исследуемых патологий оказывается увеличенным. При этом содержание mIgG⁺ -лимфоцитов также повышено. При анализе содержания в крови больных БА лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены наблюдается достоверное повышение CD25⁺ и CD71⁺ - лимфоцитов независимо от стадии заболевания. Однако содержание HLA-DR⁺ - лимфоцитов в крови больных существенно увеличивалось только в стадии обострения. У больных бронхиальной астмой, независимо от стадии заболевания, наблюдается достоверный прирост количества активированных В-лимфоцитов (CD23⁺) по сравнению с группой контроля. У больных с БА, независимо от стадии заболевания, наблюдается существенное увеличение в крови содержания лимфоцитов, экспрессирующих рецептор адгезии CD54(ICAM-1), что, по-видимому, отражает повышенную готовность лимфоцитов крови к миграции в ткань и их взаимодействие с антигенпрезентирующими клетками. Интересные результаты были получены при оценке содержания в крови лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы индукции Fas – зависимо апоптоза CD95 и лиганда к этому рецептору CD178. Так содержание в крови лимфоцитов, экспрессирующих Fas – антиген, у больных БА в обе стадии заболевания имеет тенденцию к понижению, но при ремиссии значения CD95 были достоверно выше по сравнению с группой контроля

Содержание в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих Fas – лиганд CD178 было повышено в обе стадии БА.

Показано, что при обострении БА соотношение CD25/ CD95 увеличено в 2,5 раза по сравнению с соответствующими параметрами здоровых доноров. Это отражает более высокую готовность клеток к вступлению на путь пролиферации и дифференцировки по отношению к готовности к вступлению на путь активационного апоптоза. Соотношение HLA-DR/CD95 в период обострения

астмы по сравнению со здоровыми донорами также увеличено, что отражает превышение готовности клеток к приобретению позднего дифференцировочного антигена HLA-DR над готовностью клеток вступать на путь активационного апоптоза.

Из сопоставления степени повышения CD25/CD95 по сравнению с HLA-DR/CD95 следует, что в ходе обострения БА процессы пролиферации и дифференцировки лимфоцитов преобладают над процессами активационного апоптоза. При ремиссии БА в отличие от периода обострения этого заболевания иной характер активационных соотношений CD25/CD95 и HLA-DR/CD95. Соотношение CD25/CD95 понижается, что, с одной стороны, свидетельствует о снижении остроты процесса, а с другой стороны, отражает преобладание повышенной готовности лимфоцитов к индукции Fas- опосредованного апоптоза (CD95) над готовностью лимфоцитов к пролиферации (CD25). Нарушение баланса CD95⁺-лимфоцитов и HLA-DR⁺- лимфоцитов при ремиссии БА проявляется в виде достоверного снижения показателей HLA-DR/CD95 до $1,75 \pm 0,01\%$ по сравнению с $3,04 \pm 0,33\%$ у здоровых доноров. Это соотношение отражает направление перестройки иммунной системы у больных БА. В данном случае мы наблюдаем преобладание процессов активационного апоптоза лимфоцитов (CD95) над их готовностью к дифференцировке и приобретению позднего дифференцировочного антигена (HLA-DR). По-видимому, для периода ремиссии характерно формирование «иммунологической анергии» при этой патологии.

У больных при обострении ХОБЛ наблюдалось достоверное увеличение содержания в крови цитотоксических лимфоцитов, независимо от стадии заболевания. В то же время у больных ХОБЛ в стадию ремиссии также наблюдалось снижение содержания в крови Т-лимфоцитов (CD3) до $52,28 \pm 2,27\%$, а при обострении до $61,65 \pm 2,9\%$, что было статистически достоверно. При этом в крови больных ХОБЛ в стадии ремиссии выявляется высокое содержание Т-лимфоцитов с фенотипом CD8⁺ ($18,44 \pm 4,02\%$), что по-видимому является отражением чрезмерной стимуляции Т-клеточного звена иммунной системы у

этих пациентов. У больных ХОБЛ наблюдалось достоверное повышение содержания в крови обеих субпопуляций (CD16, CD56) лимфоцитов независимо от стадии заболевания. По-видимому, резкое увеличение содержания НК-клеток при ХОБЛ связано с тем, что ИЛ-1 и TNF-*d* усиливают их пролиферацию [263]. А синтез именно этих цитокинов существенно повышен при ХОБЛ. Возможно, именно резкое повышение цитотоксических лимфоцитов, НК-клеток в организме больных ХОБЛ играет ведущую роль в повреждении легочной ткани и быстром развитии эмфиземы и пневмосклероза у больных ХОБЛ [126,129].

Исследование содержания В-лимфоцитов в периферической крови больных в стадию обострения ХОБЛ демонстрирует увеличение всех дифференцированных форм В-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой. У больных в стадии обострения ХОБЛ отмечалось повышение содержания лимфоцитов CD20⁺, CD72⁺, которые были в 2 раза выше, чем в контрольной группе. Также у больных ХОБЛ существенное повышение содержания в крови CD23-лимфоцитов при обострении заболевания. В стадии ремиссии эти показатели (CD20⁺, CD72⁺) практически не отличались от показателей здоровых людей. При анализе содержания в периферической крови зрелых В-клеток, несущих поверхностные иммуноглобулины М и G, показал их достоверное увеличение, независимо от стадии заболевания. В стадии ремиссии ХОБЛ, в отличие от обострения, не наблюдается достоверных изменений в содержании в периферической крови общего количества В-лимфоцитов (CD20⁺), а также лимфоцитов, экспрессирующих CD72-антигены. В тоже время количество зрелых В-лимфоцитов, начавших синтез антител и экспрессирующих иммуноглобулины на клеточной мембране (mIgM⁺-лимфоциты) и в стадии ремиссии оказывается увеличенным. При этом содержание mIgG⁺-лимфоцитов также повышено.

При анализе содержания в крови больных лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены, было показано, что у больных ХОБЛ, наблюдается достоверное повышение содержания в крови CD25⁺ и CD71⁺-лимфоцитов независимо от стадии заболевания. В то же время содержание HLA-DR⁺-лимфоцитов в крови этих больных существенно увеличилось только в стадию

обострения. У больных ХОБЛ наблюдается достоверное увеличение в крови содержания лимфоцитов, экспрессирующих рецептор адгезии CD54 (ICAM-1), что, по-видимому, отражает повышенную готовность лимфоцитов к миграции в ткани и их взаимодействия с антигенпрезентирующими клетками.

У больных ХОБЛ, независимо от стадии заболевания, количество лимфоцитов экспрессирующих Fas-антиген, резко возрастало. Содержание в периферической крови лимфоцитов, экспрессирующих Fas-лиганд CD 178 было снижено в обе стадии заболевания. У больных ХОБЛ этот показатель был достоверно ниже, чем в группе контроля. У больных ХОБЛ, независимо от стадии заболевания, не наблюдается изменения соотношения CD25/CD95, а соотношение HLA-DR/ CD95 было ниже, чем в группе контроля. Это, по-видимому, связано с высоким содержанием в крови больных ХОБЛ CD95⁺- лимфоцитов, что характерно для активации иммунной системы.

У больных ХОБЛ содержание в крови CD95⁺- лимфоцитов в 3 с лишним раза превышало показатель здоровых людей, независимо от стадии заболевания. По-видимому, это связано с высокой концентрацией в крови больных ХОБЛ различных форм цитотоксических лимфоцитов, выделяющих медиаторы, индуцирующие процессы запуска апоптоза. Из представленных результатов следует, что у обследованных больных ХОБЛ и БА в стадии обострения имеет место существенное повышение количества В-лимфоцитов всех стадий дифференцировки, что позволяет говорить об активации В- клеточного звена иммунной системы в целом. Существенное повышение содержания в крови лимфоцитов, экспрессирующих поверхностные иммуноглобулины, позволяет, в свою очередь, утверждать, что у больных ХОБЛ и БА В- клеточная активация является отражением постоянно поддерживаемого процесса антигенной стимуляции с хроническим течением.

Таким образом, анализ изменений основных популяций лимфоцитов позволил выявить, что при бронхиальной астме как в стадии ремиссии, так и в стадии обострения заболевания наблюдается снижение общего количества Т-лимфоцитов (CD3⁺) за счет субпопуляций Т-хелперов и цитотоксических Т-

лимфоцитов, причем содержание цитотоксических Т-лимфоцитов снижается в большей степени. Напротив, у больных ХОБЛ наблюдается, независящее от стадии заболевания, существенное увеличение содержания в крови цитотоксических Т-лимфоцитов. Изменение В-клеточного звена иммунной системы у больных БА и ХОБЛ были однонаправленными. Исследование характера иммунных изменений при БА и ХОБЛ свидетельствует о зависимости этих изменений от стадии заболевания. Характерно, что у больных ХОБЛ в стадии обострения содержание активированных форм лимфоцитов было существенно выше, чем у больных бронхиальной астмой. Полученные результаты не позволяют считать повышение содержания в крови CD23⁺ - лимфоцитов патогномичными только для atopических заболеваний, в частности бронхиальной астмы.

Повышение при ХОБЛ соотношения CD25/CD95 можно оценивать как преобладание активации лимфоцитов с последующей пролиферацией над их готовностью к вхождению в Fas- опосредованный апоптоз [46]. В свою очередь, повышение соотношения HLA-DR/CD95 отражает преобладание процессов дифференцировки клеток над их элиминацией. Снижение этих показателей отражает преобладание активационного апоптоза, приводящее к «выключению» иммунного ответа [88]. При оценке полученных результатов необходимо учитывать, что развитие Fas- индуцированного апоптоза происходит только после взаимодействия Fas-антигена с Fas- лигандом. Поэтому, несмотря на более высокое содержание этих показателей в крови больных ХОБЛ, по сравнению с аналогичными данными у больных БА, можно предположить, что для ХОБЛ характерен более низкий уровень апоптоза, чем при астме из-за низкого содержания лимфоцитов, экспрессирующих Fas-антиген.

Сравнительный анализ результатов изучения активационных маркеров лимфоцитов при БА и ХОБЛ позволил выявить, что развитие обострения при обоих заболеваниях приводит к существенному повышению содержания в крови лимфоцитов, экспрессирующих активационные антигены CD23, CD25, CD71 и HLA-DR. В то же время следует отметить, что в стадию ремиссии у больных БА и

ХОБЛ сохранялось повышенное примерно в 2 раза по сравнению со здоровыми людьми содержание лимфоцитов, несущих на поверхности ранние активационные антигены CD25 и CD71. Эти изменения можно объяснить тем, что клиническая ремиссия при изученных заболеваниях не сопровождается полной иммунологической ремиссией.

Содержание в крови CD 54 повышалось независимо от стадии заболевания, однако у больных БА этот показатель был выше почти в 2 раза по сравнению с группой ХОБЛ. Возможно, более высокое содержание в крови больных БА лимфоцитов, экспрессирующих молекулу адгезии ICAM 1 связано с особенностями цитокинового профиля у этих больных.

При сравнении содержания в крови лимфоцитов, несущих на поверхности Fas-лиганд, было показано, что у больных БА содержание этих лимфоцитов существенно повышено, в то время как у больных ХОБЛ оно в 2 раза ниже, чем у здоровых людей.

По современным данным, ХОБЛ характеризуется наличием в легких «патологического» воспаления индуцированного вредными частицами и газами в атмосфере [146,166]. Есть мнение, что воспаление дыхательных путей и паренхимы легких связано с развитием иммунологической воспалительной реакцией в ответ на вдыхание раздражителей (в частности на табачный дым) [173,270]. В настоящее время общепризнано, что воспаление при ХОБЛ не ограничивается легкими, а распространяется также на системный кровоток [207,208]. Невыясненными остаются истоки, наблюдаемые при ХОБЛ системного воспаления. Чаще других в литературе упоминалась гипотеза о его «перетекании» из легких, но прямой связи между тяжестью бронхиального и системного воспаления при ХОБЛ не обнаружено [199]. В нашей работе мы решили уточнить вклад курения в развитии бронхиального и системного воспаления на ранних стадиях ХОБЛ. Для этого сравнили определяемые нами иммунологические показатели у больных ХОБЛ средней степени тяжести у курящих и не употребляющих табак. У больных ХОБЛ 2 ст. тяжести забор крови приводили вне

обострения заболевания при клинически стабильном состоянии, как минимум, в течении 4 недель.

В результате нашего исследования установлено, что у больных ХОБЛ средней степени тяжести между двумя группами достоверной разницы по иммунологическим показателем получено не было, но полученные показатели были достоверно хуже по сравнению с аналогичными, определяемые в группе здоровых лиц. Эти данные противоречат данным Hogg с соавт. 2004, которые утверждают, что «развитие системного адаптативного иммунного ответа» наблюдается у больных ХОБЛ на поздних стадиях болезни [199,201].

В тоже время, известно, что сигаретный дым – наиболее изученный из известных факторов, инициирующих «оксидантный стресс» в легких, оказывает прямое токсическое действие не только на структурные элементы легких, но и на другие органы-мишени (например сердце, сосуды и т.д). Данные полученные в нашем исследовании подтверждают это положение.

В нашем исследовании в обеих группах у больных ХОБЛ средней степени тяжести в периферической крови отмечали повышение первичных и вторичных продуктов пероксидации, снижение активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы). Однако степень этих изменений оказались выше в группе больных ХОБЛ, имевших высокий индекс курения (более 20 пачка\лет). В связи с тем, что признаки нарушения ПОЛ получены и в группе некурящих больных, можно утверждать, что курение не единственный фактор, способствующий «оксидативному стрессу» при ХОБЛ и его механизм инициирования, пока остается до конца не известен.

Возможно, воспаление дыхательных путей и паренхимы легких при ХОБЛ связано с развитием системной иммунологической воспалительной реакции в ответ на различные ирританты, в частности табачного дыма [146,147,148]. В ряде работ не исключается, что в основе системного воспаления при ХОБЛ, лежит проявление генетически обусловленной чувствительности к действию сигаретного дыма на различные ткани «органов мишеней» [221,311].

Исходя из полученных данных, можно утверждать, что «оксидантный

стресс» на фоне иммунологических изменений у больных ХОБЛ, злоупотребляющих курением, приводит к раннему появлению и более тяжелому течению болезни, что отражается на длительности заболевания (у всех курящих пациентов с ХОБЛ средней степени тяжести он был короче, а больные этой группы были моложе, чем в группе неподверженных табакокурению). Очевидно, что на ранних стадиях ХОБЛ одной из ведущих причин поддержания воспаления следует отводить «оксидантному стрессу» на фоне изменённых иммунологических показателей при этой патологии.

Таким образом, изменения в иммунной системе, развивающиеся при ХОБЛ имеют ряд существенных отличий от изменений, характерных для больных бронхиальной астмой, в первую очередь за счет существенного повышения содержания цитотоксических лимфоцитов в крови. Возможно, именно высокий цитотоксический потенциал иммунной системы при ХОБЛ и вызывает развитие пневмосклероза и эмфиземы легких. Вероятно, высокая активность цитотоксических лимфоцитов и НК-клеток является одним из факторов наследственной предрасположенности к развитию ХОБЛ. Можно предположить, что случаи развития ХОБЛ на фоне бронхиальной астмы также связаны с высокой цитотоксической активностью лимфоцитов у больных. В свою очередь, высокая «выживаемость» цитотоксических лимфоцитов у больных ХОБЛ может быть объяснена снижением их апоптоза из-за низкой экспрессии Fas-лиганда. Исходя из полученных данных, мы смогли выделить иммунологические особенности для больных ХОБЛ и БА, что позволяет более четко дифференцировать эти заболевания по предложенному иммунологическому алгоритму.

Выводы

1. У обследованных больных, независимо от стадии заболевания, отмечены существенные различия в иммунологических показателях; так, для ХОБЛ характерно достоверное повышение содержания цитотоксических Т-

лимфоцитов (CD8), NK-клеток (CD16); При БА, напротив, отмечено снижение этих показателей.

2. У больных ХОБЛ и БА, независимо от стадии заболевания, определяется высокий уровень ранних активационных маркеров CD25, CD71 и рецептора адгезии CD54, что характерно для постоянной активации иммунной системы и сохранения воспалительного процесса в легких.
3. Повышенное содержание в крови лимфоцитов, экспрессирующих поверхностные иммуноглобулины mIgM и mIgG, при ХОБЛ и БА, вне зависимости от стадии заболевания, свидетельствует о их постоянной В – клеточной активации.
4. У больных ХОБЛ, независимо от стадии заболевания, отмечается высокое содержание маркера Fas (CD95), но низкое содержание FasL (178), что свидетельствует о нарушении индукции апоптоза и поддержании персистирующего воспаления.
5. Курение инициирует «оксидантный стресс», что способствует более раннему проявлению и худшему течению заболевания у больных ХОБЛ уже на ранних стадиях заболевания.

Практические рекомендации

1. Выявленные иммунологические различия между ХОБЛ и БА дают возможность более точной дифференциальной диагностики этих заболеваний.

2. В качестве дополнительного метода оценки активности воспалительного процесса при ХОБЛ следует определять следующие показатели: HLA-DR, CD23, CD25, CD71, CD20, CD72, mIgM, mIgG.
3. В качестве дополнительного метода оценки качества контроля за течением БА, наряду с клиническими симптомами, следует использовать показатели: HLA-DR, CD20, CD72, CD23, mIgM, mIgG для установления «иммунологической ремиссии» заболевания.
4. В качестве алгоритма дифференциальной диагностики ХОБЛ и БА предложено исследование поверхностных маркеров лимфоцитов при этих заболеваниях.
5. На ранних стадиях ХОБЛ, наряду с бронходилататорами, следует использовать препараты, обладающие антиоксидантным действием.

Диагностический алгоритм при бронхообструктивном синдроме

Симптомы:

кашель, одышка, приступы удушья, свистящие дыхание

ЕСТЬ ИЗМЕНЕНИЯ

Рентгенография органов грудной клетки

НЕТ ИЗМЕНЕНИЙ

Легочные заболевания:

Заболевания сердца:

Изменения

Спирометрия

Норма

-плевральный выпот

Обструкция крупных дых.путей

Кашлевой в-т БА

-пневмоторакс

ЭХО_КГ

Обструктивные заболевания легких

Гипервентиляционный с-м

-интерстициальные заболевания легких

Рестриктивные заболевания легких

ТЭЛА

-эмфизема

Проведение пробы с вентолином (400 мкг)

-хронический бронхит

ПРИРОСТ <12%

ПРИРОСТ >12%

(кашлевой в-т БА, ХОБЛ, дисфункция голосовых связок)

(БА, ХОБЛ, ХОБЛ+БА)

Проведение иммунологического теста

ХОБЛ (CD8 ↑, CD16 ↑, CD54 ↑, CD178 ↓, CD 95 ↑)

БА (CD8 ↓, CD16 ↓, CD 54 ↑↑, CD 178 ↑, CD 95 ↓)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.

Asn 1093 – аспарагин (аминокислота).

CD4/CD8 – иммунорегуляторный индекс.

CD 54 (ICAM-1), CD23, CD 95L (CD 178) – функциональные активационные маркеры лимфоцитов.

CD25,CD 71,HLA-DR, CD95 – активационные антигены дифференцировочного характера.

C4- компонент системы комплимента 4.

C8 – компонент системы комплимент 8.

GOLD (Global initiative for Chronic Lung Disease). (Глобальная инициатива по ХОБЛ).

Fas- лиганд,CAD, FasL – поверхностные рецепторы лимфоцитов.

FADD, DEDD, DISC, CAP3, FLIP – внутриклеточные белки, вовлеченные в передачу сигнала апоптоза.

Fas/Apo1- мембранный рецепторный гликопротеин.

G1, S – фаза – фазы клеточного цикла.

IL-8 – интерлейкин - 8

IL-1 – интерлейкин -1.

NK – лимфоциты – «натуральные» киллерные клетки.

PaO₂ – парциальное давление кислорода.

p 53 – внутриклеточный апоптогенный белок.

SaO₂ – сатурация кислорода.

Th₂ - субпопуляция лимфоцитов Т-хелперов.

TNF4 – фактор некроза опухоли - 4.

TNF α - фактор некроза опухоли альфа.

TcR / CD3 – антигенспецифический Т-клеточный рецептор.

БА – бронхиальная астма.

БАВ – биологически активные вещества.

ГКС – глюкокортикоиды.

ГМ –КСФ – гранулоцитарно - макрофагальный колониестимулирующих фактор.

ДН – дыхательная недостаточность.

ЖЕЛ – жизненная емкость легких.

ЗФР – забуференный фосфатами физиологический раствор.

ИТ– индекс Тиффно.

ИГКС – ингаляционные глюкокортикоиды.

ЛНП – липопротеины низкой плотности.

МОС25 (FEF 25) – минутная объемная скорость 25% выдоха.

МОС50 (FEF 50) – минутная объемная скорость 50% выдоха.

МОС75 (FEF 75) – минутная объемная скорость 75% выдоха.

мин - минуты.

ОФВ₁ (OFV₁) – объем форсированного выдоха за 1 сек.

ПКГ – программированная клеточная гибель.

ПОС (PEF) – пиковая объемная скорость выдоха.

сек – секунды.

ПСВ – пиковая скорость выдоха.

СФ – спектр фотометр.

ТМПМ – трансмембранный потенциал мембраны.

ФВД – функция внешнего дыхания.

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких. (FVC)

ФЛ (PL) – фосфолипиды.

ФС (PS) – фосфотидилсерин.

ФЭ (PE) – фосфотидилэтаноламин.

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких.

ЦАМФ – циклический аденозинмонофосфат.

ЧД – частота дыхания.

ЧСС – частота сердечных сокращений.

Эндонуклеаза G – протеаза, гидролизующая пептидные связи внутри полипептидной цепи.

ЭКГ – электрокардиография.

ЭДТА – этилендиаминтетраацетата натрия раствор.

1. Авдеев С.Н. Хроническая обструктивная болезнь легких: обострения// Пульмонология.-2013.-№3.С. 5-19.
2. Авдеев С.Н. Дыхательная недостаточность // Атмосфера.пульмонология и аллергология. – 2004. – №1(12).№ 2(13). – С. 21-26 ,11-15.
3. Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Архипов В.В. и др. Согласованные рекомендации по применению режима единого ингалятора фиксированной комбинации буденосид\форматерол в терапии пациентов с БА//Практическая пульмонология. - 2016.- №1.-С.2-15.
4. Авдеев С.Н., Трущенко Н.В. Двойная бронходилатация – новая парадигма длительной терапии хронической обструктивной болезни легких//Практическая пульмонология.- 2015-№3.-С.24-32.
5. Авдеев С.Н. Новые возможности противовоспалительной терапии хронической болезни легких //Пульмонология.- 2013.- №4.-С.95-101.
6. Аматауни В.Г., Пирумян М.С. Значение генетических и некоторых средовых факторов в возникновении хронического бронхита. // Тер.архив.- 1986.-№1.- С.88-91.
7. Айсанов З.Р., Калманова Е.Н. Бронхиальная обструкция и гипервоздушность легких при хронической обструктивной болезни легких // Практическая пульмонология.-2016.-№2.С. 2-9.
8. Лазарев А.А. Частота встречаемости отдельных фенотипов ХОБЛ в РФ, их характеристики и подходы к лечению//Практическая пульмонология. -2016.- №3.-С.20-24.
9. Алтымышева А.Т., Шабыкеева С.Б., Абилова С.С., Сооронбаев Т.М. Состояние контроля бронхиальной астмы, возможные факторы отсутствия //XIX Нац. конгресс по болезням органов дыхания. М.-2009-С.35.
10. Александров А.Л. и др. Частота и выраженность легочной гипертензии у больных с заболеваниями легких и сердца // Клиническая медицина. — 1990. — № 5. — С. 71—74.
11. Алексеев В.Г., Яковлев В.Е.Очерки клинической пульмонологии. — М., 1998. — С.184.
12. Балаболкин И.И., Булгакова В.А. Генетические аспекты прогнозирования

- эффективности и безопасности фармакотерапии атопической бронхиальной астмы у детей //Фарматека.-2016.- № 14 (327).-С14-19.
13. Банков В.В., Юрков Ю.А. Способ определения устойчивости эритроцитов//Бюл. изобр. и открытий.-1986.-№ 11-С.207.
 14. Банков В.В. Про – и антиоксидантный эффект эргокальциферола и идентичность его влияния на мембраны эритроцитов *invivo* и *invitro* у недоношенных детей// Биоантикоагулянт.- Черноголовка.-1986.-Т.2.-С 94-95.
 15. Баранов С.А. Роль табакокурения в развитии хронических неспецифических заболеваний легких. (Обзор литературы) // Здравоохр. Рос. Федерации. – 2002. - №1.- С. 53-55.
 16. Баранов В.П., Куренкова И.Г., Казанцев В.А., Харитонов М.А. Исследование функции внешнего дыхания. – Спб.: Элби –2002.С.12.
 17. Баур К., Прейссер А. «Бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких. Перевод с немецкого 2010. М. с. 148-155.
 18. Баймаканова Г.Е., Авдеев С.Н. Значение биомаркеров при хронической обструктивной болезни легких //Пульмонология-2013.-№3.-С.105-110.
 19. Белевский А.С. Глобальная инициатива по ХОБЛ – пересмотр 2003 г // Лечебное дело. – 2003. - №1. – С. 76-80.
 20. Балаболкин И.И., Булгакова В.А.,Смирнов И.Е. и др. Современный взгляд на развитие бронхиальной астмы у детей//Педиатрия. Журнал.им. Г.Н.Сперанского.-2014.-№93(3).-С.92-100.
 21. Белевский А.С., Визель А.А., Зырянов С.К., Игнатова Г.А., Колбин А.С., Лещенков И.В., Титова О.Н., Фролов М.Ю. Хроническая обструктивная болезнь легких: проблемы сегодняшнего дня// Практическая пульмонология.- 2015 .- №3. -С. 18-23.
 22. Быстрицкая Е.В. Заболеваемость и смертность по причине бронхиальной астмы в России. В кн: Сборник трудов XXVI Национального конгресса по болезням органов дыхания. М., 2016:308.
 23. Болезни системы дыхания. Губачев Ю.М., Сименков В.И., Ильяшевич И.Г. // Библ. Семейного врача.Кн.12.- Спб.,2000. – С. 11-23.
 24. Бокша В.Г. Нарушение дыхательной функции при бронхолегочных и

сердечно-сосудистых заболеваниях. — Киев, 1991.-200 с.

25. Борисова А.М. Применение высокоэффективного иммуномодулятора рибомунила для лечения и профилактики бронхолегочных заболеваний // Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунокоррекции. - М., 1997. С. 182-189.

26. Бэч П.Б., Браун С.Е., Гелфанд С.Е., МакКрори Д.С. Клинические рекомендации: Часть 2. Ведение больных с обострениями хронических обструктивных заболеваний легких: суммирование и оценка опубликованных данных // Международный журнал мед практики. – 2002. - №2. – С. 43-64.

27. Бронхиальная астма: Руководство по лечению (Британское Торакальное Общество)/ Пер. с англ.// Русский медицинский журнал. – 1999.-№5. -С. 218-228.

28. Бродская О.Н., Белевский А.С. Факторы достижения контроля бронхиальной астмы: глобальный и персонафицированный подход// Практическая пульмонология.-2016.-№4.-С.3-8.

29. Ванников А.Л. «Тканевая гипоксия и ее коррекция» Из-во Наука. Новосибирск. 1981 г. с 4-27.

30. Вильчинская Н.В., Шуганов Е.Г., Распопина Н.А. Оксидативный стресс и риск развития атеросклероза у больных ХОБЛ // Врач. - 2004.- №7.- С. 26-28.

31. Виха Г.В., Пивнюк В.И., Ярилин А.А, Василов Р.Г. // Белки и пептиды: В 2х томах. М., Наука .-1995. – Т.1.- С. 448.

32. Ворохов А. И. Острый бронхит и бронхиолит. Болезни органов дыхания: В 4 томах. Т. 2 / Под ред. Н.Р. Палеева. — М., 1989. -С. 5—16.

33. Волкова Л.И. Особенности легочной и центральной гемодинамики у больных с легочным сердцем// 5-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания, 14-17 марта, 1995г. Тез.докл. – М., -1995. - №445.

34. Вотчал Б.Е. Легочное сердце // Руководство по внутренним болезням. – Т.3-М.-1964. – С.335-373.

35. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы./ под ред. А.Г.Чучалина,2008. с. 25 М Издательский дом «Атмосфера»

36. Гриппи Майкл А. Патопфизиология легких. – М.,1999.с. 28-34.

37. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.Н. Модифицированный метод определения

гидроперекисей липидов в крови //Лабораторное дело.-1983.-№3.-С.33-36.

38. Гуревич М.В., Гуревич К.Г. Современные подходы к терапии хронической обструктивной болезни легких // Фарматека. – 2004. - №5. С. 13-20.
39. Гурылева М.Э., Визель А.А., Хузиева Л.В. и др. Качество жизни больных хроническими обструктивными болезнями легких // Мед.помощь. – 2002. №4.- С. 13-15.
40. Даниляк И.Г. Кашель: этиология, патофизиология, диагностика, лечение // Пульмонология. – 2001. - №3.- С.33-37.
41. Емельянов А.В., Сергеева Г.Р. Бронхиальная астма : как улучшить отдаленные результаты лечения//ConsiliumMedicum.-2010.-Т.12,№ 3.-С. 80-85.
42. Жданов В.Ф. О противовоспалительном лечении хронических бронхитов // Пульмонология. – 2002. - №5. – С. 102-107.
43. Жданов В.Ф., Петрова М.А. Международный консенсус по диагностике и лечению бронхиальной астмы.- Спб. – 1995.-43с.
44. Журавлева Н.Е., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М. Диагностическое значение определения поверхностных антигенов лимфоцитов у больных атопической бронхиальной астмой (опыт использования моноклональных антител серии ЛТ)//Пульмонология.-1992.-№2.-С. 57-60.
45. Зиновьев Ю.В., Козлов С.А., Савельев О.А. В кн. «Резистентность к гипоксии» Издательство Красноярск.-1988.- С. 170-176.
46. Зильбер И.Е., Распопина Н.А., Салмаси Ж.М., Шуганов А.Е. и др. Анализ активационного профиля лимфоцитов у больных ХОБЛ в период ремиссии и обострения //Земский Врач.-2012.-№1 (11). –С.67-69.
47. Йегер Л. Клиническая иммунология и аллергология. Перевод с немецкого в 3 томах. М., Медицина, -1990.-Т.1.-С. 72-80.
48. Казимирский А.Н., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М. Роль экспрессии рецепторов адгезии в аллергическом воспалении //Клин. Патофизиология.- 2001 .- №1.-С.3-12.
49. Казимирский А.Н., Терентьев А.А. Механизмы внутриклеточного запуска апоптоза // Вестник РГМУ. – 2002. – Т.24, № 3.- С.34-39.
50. Квятковская С.В.// Мед.иммунол.-2004.- Т.6.- №3.-С. 269-271.

51. Калманова Е.Н., Айсанов З.Р. Значение определения цитотоксических лимфоцитов при заболеваниях легких. Исследование респираторной функции и функциональный диагноз в пульмонологии // Рус. Медицинский Журнал.- 2000.-Т.8. №12. – С. 510-514.
52. Клиническое значение мониторинга бронхиальной проходимости у больных бронхиальной астмой и хроническим обструктивным бронхитом. Пособие для врачей. – М.: МОНИКИ.-1998.- С.7-8.
53. Клинические рекомендации. Хроническая обструктивная болезнь легких. / Под ред. Чучалина А.Г. – М.: Изд-во «Атмосфера»,2003.С 25-30.
54. Клячкин Л.М. Хроническая обструктивная болезнь легких. – М.-1998.-С. 291 – 309.
55. Княжеская Н.П. Глюкокортикостероиды в терапии бронхиальной астмы//Рус. мед. журн.-2002.-№ 10(5).С-245-250.
56. Княжеская Н.П. Комбинированная терапия при хронической обструктивной болезни легких // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2004. - №2(13). – С. 37-39.
57. Комлев А.Д., Собченко С.А., Коровина О.В. и др. Хроническая обструктивная болезнь легких в практике пульмонолога // Новые С.-Петербург. лечеб. Вредности. – 2002. – №2. – С.36-40.
58. Ковальчук Л.В. Антигенные маркеры клеток иммунной системы человека CD(CLASTERDIFFERENTIATION) система. – Учебно – методическое пособие. М.,РГМУ.-2003.-С.76 .
59. Костина В.В. Хронический бронхит: этиология, патогенез, особенности клиники и лечения // Нижегород. мед.журнал. – 2002. - №1. – С.1229-134.
60. Казимирский А.Н., Порядин Г.В.,Салмаси Ж.М. Роль экспрессии рецепторов адгезии в аллергическом воспалении//Клиническая патофизиология.- 2001.-№1.-С.5-11.
61. Крестйкнс Х., Постма Д. Хронические обструктивные заболевания легких. Пер. с англ. // Доказательная медицина. Ежегодный реферативный журнал.- 2004.-С.21-30.
62. Ланкин Г.Ф. Биометрия. – М., Высшая школа.- 1990.- 349 с.

63. Лещенко И.В., Лившиц В.Р., Романовских А.Р. Вопросы фармакоэкономики при лечении хронического обструктивного бронхита // Тер. Архив. – 2002. - №3.- С.38-40.
64. Лещенко И.В. Ключевые вопросы ранней терапии хронической обструктивной болезни легких// Consilium Medicum.- 2008.-№10(10).-С.46-50.
65. Ненашева Н.М. «Практическая пульмонология» Издательство «ГЭОТАР» - Медиа.2015.С2-5.
66. Лещенко И.В., Баранова И.И. БА и ХОБЛ – две болезни одного больного. Современные подходы к диагностике и лечению // Фарматека (пульмонология/лор/орви).- 2014.-№3.-С. 14-18.
67. Ненашева Н.М. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и терапии бронхиальной астмы 2016: что нового?// Практическая Пульмонология.- 2016 .-№3.- С.20-24.
68. Ланкин В.З. К вопросу о ферментативной регуляции свободнорадикального окисления липидов в норме и патологии». М.1976 г.с.108-110.
69. Ненашева Н.М.GINA 2014: Обзор некоторых основных изменений //Практическая Пульмонология.-2014.- №3.- С 2-15.
70. Ненашева Н.М. Современное представление о фенотипах бронхиальной астмы //Фарматека.-2013.- №4.- С.41-46.
71. Новиков В.Е., Новиков Д.В. Лечение хронической обструктивной болезни легких // Клиническая фармакология и терапия.-2002.-№5.-С.5-12.
72. Новиков В.Е. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ): диагностика и лечение // Consilium medicum./- 2004./- приложение.- С. 26-30.
73. Новиков В.Е. Хроническая обструктивная болезнь легких // Качество жизни. Медицина.-2004.-№1(4).-С.36-41.
74. Овчаренко С.И., Лещенко И.В. Современные проблемы диагностики хронической обструктивной болезни легких // Рус.медицинский журнал.- 2003.-Т.11.-№4.-С.160-163.
75. Овчаренко С.И. Факторы, влияющие на развитие обострений ХОБЛ // Фарматека. -2010.-№4.-С.17-19.

76. Овчаренко С.И., Галецкайте Я.К. Эволюция глобальной инициативы по ХОБЛ и новый подход к противовоспалительной терапии // Лечащий врач.- 2014.-№1.- С 2-7.
77. Овчаренко С.И. Муколитические (мукоурегуляторные) препараты в лечении хронической обструктивной болезни легких // Рус.медицинский журнал.- 2002.-Том 10.-№4.- С.153-156.
78. Овчаренко С.И., Акулова М.Н., Смулевич А.Б.. Что может улучшить контроль течения бронхиальной астмы // Consiliummedium. -2010.-Т.12.- №3. -С. 62-67.
79. Овчаренко С.И., Капустникова В.А. Оксидативный стресс и антиоксидантная терапия больных ХОБЛ // ConsiliumMed.-2001.-С.7-8.
80. Окорочков А.Н. Лечение болезней внутренних органов: Т.1. Лечение болезней органов дыхания. Лечение болезней органов пищеварения. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Мед.лит.,-2001.-С.176-209.
81. Основы иммунологии / А.А. Ярилин / М. Медицина 1999 г., с. 608.
82. Палеев Н.Р., Черейская Н.К., Шуганов Е.Г., Распопина Н.А., Гнеушева Т.Ю. Хроническая обструктивная болезнь легких.-М., -2003 .-С 45-93.
83. Палеев Н.Р., Черейская Н.К., Кривоносова М.Л. и др. Эффективность контролируемой базисной терапии больных бронхиальной астмой // Терапевт. Архив.-2002.-Т.74.-№1.-С.22-24.
84. Палеев Н.Р., Карандашов В.И., Жомов В.А., Петухов Е.Б., Зродников В.С., Островский Е.И. Реологические свойства крови у больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких // Клиническ. Медицина.- 2002.- Т.80.-№6.-С.25-27.
85. Пауел Р., Снэшалл П.Д «Практический подход к астме» .СПБ: Ассоциация «Астма и аллергия», 1995;3-171.
86. Петров Р.В., Атауллаханов Р.И. «Клеточные мембраны и иммунитет» М.Высшая школа.1991.С 141.
87. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Макарьков А.И. Молекулярные механизмы IgE – опосредованной аллергии.- М.: Издательство РГМУ. – 1996 г. – С.123.

88. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Макаров А.И. Механизмы регуляции экспрессии поверхностных структур дифференцированного лимфоцита.// Иммунология. – 1997. - №33.-С.4-8.
89. Порядин Г.В., Оршанко А.М., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н. Активационные процессы в лимфоцитах пациентов с латентной сенсбилизацией//Патологическая физиология и экспериментальная терапия.- 2009. Т. I-III. -С. 23-24.
90. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Сычева О.В. Сравнительный анализ иммунологических изменений при бронхиальной астме у детей и взрослых// Российская ринология.-1999.- N 1.- С.88.
91. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н., Журавлева Н.Е., Семенова Л.Ю., Алиева З.О. Особенности развития иммунного ответа в процессе развития воспаления при атопии// Клиническая патофизиология. – 2002. - №1.С.5-11.
92. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Зильбер И.Е. и др. Сравнение поверхностного фенотипа лимфоцитов больных ХОБЛ и атопической БА// X Международный конгресс «Современные проблемы алергологии, иммунологии и иммунофармакологии».-2009 г. Казань.- С.298-299.
93. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Зильбер И.Е. и др. «Особенности поверхностного фенотипа лимфоцитов ХОБЛ// X Международный конгресс «Современные проблемы алергологии, иммунологии и иммунофармакологии».-2009 г. Казань.-С.304.
94. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н. Клиническая патофизиология. -2002.-№1.-С 5-11.
95. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н. Сравнительная характеристика маркеров Fas – зависимого апоптоза у больных бронхиальной астмы и ХОБЛ// Российский иммунологический журнал.- 2013.- Т.7.- № 2-3.- С.207.
96. Рагино Ю.И., Душкин М.И. Простой метод исследования резистентности к окислению гепарин-содержащих В – липопротеидов сыворотки крови//Клиническая лабораторная диагностика.- 1998.-№3.-С.6-9.

97. Распопина Н.А., Каземирский А.Н., Шуганов А.Е. К вопросу о патогенезе персистирующего воспаления при хронической обструктивной болезни легких. Материалы международной научн.-прак//Конференции «Стратегия лечения современной науки – 2014».15.02.2014. Польша.- Т. 26,48-54.- С.16-20.
98. Распопина Н.А. Шуганов Е.Г.,Палеев Ф.Н, Салмаси Ж.М., Шуганов А.Е. Роль цитотоксических лимфоцитов в воспалении у больных ХОБЛ в стадиях обострения и ремиссии//Альманах клинической медицины .-2014.-№35.-С 49-53.
99. Распопина Н.А.,Шуганов А.Е.,Палеев Ф.Н.,Салмаси Ж.М.,Казимирский А.Н. Роль цитотоксических лимфоцитов в воспалении у больных ХОБЛ в стадию обострения и ремиссии//Медицинский альянс.-2014.- №1.-С. 12-16.
100. Сетдикова Н.Х., Латышева Т.В. «Иммунология».-2000.-№3.-С 48-50.
101. Распопина Н.А. Противовоспалительная терапия фенспиридом при хронических заболеваниях нижних дыхательных путей//ConsiliumMedicum .- 2015.-№ 11.-С.46-47.
102. Распопина Н.А.,Шуганов А.Е.,Палеев Ф.Н. и др. Роль цитотоксических лимфоцитов в воспалительнии при хронической обструктивной болезни легких в стадии обострения и ремиссии // Альманах клинической медицины.-2014.- №3 (35).-С.49-54.
103. Тец Г.В., Смирнова Е.И., Кардава К.М. и др. Выбор антибиотиков при смешанных инфекциях при ХОБЛ//Практическая пульмонология.№ 4.-2015.- С.39-41.
104. Сноу В., Лэсчер С., Моттур – Пилсон К. Клинические рекомендации: Часть 1. Обоснование тактики ведения больных с обострениями хронических обструктивных заболеваний легких // Междунар. журн. мед.практики.- 2002. - №2.- С.38-42.
105. Федосеева В.Н., Порядин Г.В., Ковальчук Л.В. Руководство по иммунологическим и аллергическим методам в гигиенических исследованиях. – М.: Промедек.- 1993.-320с.
106. Фримель Г. « Иммунологические методы». Пер. с немецкого яз. – М. Медицина.-1987.-427с

107. Филатов А.В., Бачурин П.С., Маркова Н.А., Сурпакова Н.Е. Панель моноклональных антигенов лимфоцитов человека.// Экспер. Онкология. – 1989. – Т.11. №2. – С. 28-32.
108. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина. – 2000. – 432 С.
109. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина 2-е издание. – 2002. – 536 С.
110. Хаитов Р. М., Ильина Н.И., Латышева Т.В. рациональная фармакотерапия аллергических заболеваний. М.2007.
111. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И.// « Экологическая иммунология», М., ВНИРО – 1995 – 210 С.
112. Хмелько М.А и соавт. Влияние бронходилататоров на легочную гипертензию у больных хронической обструктивной болезнью легких // Пульмонология. – 2004.- № 2. – С.97 – 102.
113. Хронический бронхит и обструктивная болезнь легких. Под ред. Кокосова А.Н.- Спб.: Изд-во «Лань».-2002.-С. 40-42.
114. Хроническая обструктивная болезнь легких. Под редакцией А.Г. Чучалина. М. Издат. дом «Атмосфера».- 2008.-С.12-24.
115. Цветкова О.А. Острый и хронический бронхиты, пневмония. – М.: Издательский дом «Русский врач»,2002.
116. Цой А.Н. Новые пролонгированные холинолитики в терапии хронической обструктивной болезни легких // Consiliummedicum.-2003- Т.5.- №10.- С. 591- 593.
117. Цой А.Н. Место бета2-агонистов длительного действия в терапии астмы и хронической обструктивной болезни легких // Consiliummedicum.- 2003.- Т.5.-№10.- С. 593- 598.
118. Цой А.Н.,Архипов В.В Контроль над бронхиальной астмой: каким он будет завтра?// Пульмонология.-2004.-№ 4-С. 92-104.
119. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Воспаление при хронической обструктивной болезни легких: молекулярные основы патогенеза.// Consiliummedicum.- 2008.- Том 10.-С. 57-63.

120. Чикина С.Ю. Муколитики: современная роль в ведении больных хронической обструктивной болезнью легких//Практическая пульмонология №4.- 2015.-С. 18-20.
121. Чучалин А.Г., Аусанов З.Р.,Авдеев С.Н. др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению ХОБЛ// Русский медицинский журнал.- 2014.- №22(5)-С.331-346.
122. Чучалин А.Г., Калтаев Н., Антонов Н. и др. Хроническая обструктивная болезнь легких в 12 регионах РФ.//intern.J.COPD.-2014.- №9.С- 963-974.
123. Чучалин А.Г., Айсанов З.Р., Авдеев С.Н. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению ХОБЛ// РМЖ.-2014.- № 5.-С.331-346.
124. Шуганов Е.Г., Салмаси Ж.М.,Шуганов А.Е. и др. Клинико-иммунологические эффекты карбоцистеина при лечении больных ХОБЛ// Альманах клинической медицины.- 2014.-№3(35).- С. 60-71.
125. Шуганов А.Е., Салмаси Ж.М., Палеев Ф.Н. и др. Эффективность терапии карбоцистеином в сочетании с бронхолитиком у больных ХОБЛ// Медицинский альянс.-2017.-№ 1.- С. 68-74.
126. Шуганов А.Е., Палеев Ф.Н., Распопина Н.А. и др. Особенности иммунного воспаления у больных с хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой// Архивъ внутренней медицины.- 2015.-№3 (23). - С. 56-62.
127. Шуганов А.Е.,Распопина Н.А., Палеев Ф.Н. и др. Роль курения в патогенезе бронхиального и системного воспаления на начальном этапе ХОБЛ// Архив внутренней медицины.-2017.- Т.7.- №2.- С. 139-144.
128. Шмелев Е.И. Сочетание бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких //ConsiliumMedicum.-2004.-Т.6.-№10.-С. 754.
129. Шуганов Е.Г., Распопина Н.А., Салмаси Ж.М. Клинико-иммунологические корреляции у больных хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмы// Альманах клинической медицины.-2014.-№35. – С.54-59.

130. Шуганов Е.Г., Шелест Е.А, Гнеушева Т.Ю.,Салмаси Ж.М., Шуганов А.Е. Место карбоцистеина в комплексной терапии у больных ХОБЛ// Земский врач.- 2014.- №1(22). –С.37-40.
131. Ярилин А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии.// в Кн. Актуальные проблемы патофизиологии. Под редак. Акад. РАМН Б.Б Мороза.М //Медицина. – 2001. – С. 13-56.
132. Abronson M.J., Perret J.L.,Pharmage S.C., Mc Donald C.F. Distinguishing adultonset asthma from COPD: a review and a new approach //Int.J. Chron. Obstr. Pulmon. Dis.-2014.-№ 9. - P. 945-962.
133. Akbari O., Fful J.L., Hayte E.G., Berry G.J., Wahistrom J., Kronenberg M. et all. CD 4⁺ invariant T-cell-receptor⁺ natural Killer T cells in bronchial asthma//N Engl. J Med.- 2006.- №354 (11).- P.1117-29.
134. Ashkenazi A., Dixit V.M. Apoptosis control by death and decoy receptors// Curr. Opin. Cell. Biol.-1999. - V.11.-P.255-260.
135. Agusti A.G., Noguera A., Saulda J., Sala E., Pons J., Busquets X. Systemic effects of chronic obstructive pulmonare disease//The Eur.Resp.Jorn.-2003.-№21.- P. 347-360.
136. Antonisen N.R., Connet Y.E., Kiley Y.P. et al. Effect of smoking intervention and the ust of an inhaled anticholinergic bronchodilatator on the rate of decline of FEVI // J.A.M.A. – 1994. –N272. -P.1497-1505.
137. Andersen H., Lampela P., Nevanlina A.,Saynajakandas O.,Keistinen T. High hospital burden in overlap syndrome of asthma and COPD // Clin Respir J.- 2013.- Vol. 7.- P.342-346.
138. Aoshiba K., Yokohpri N, Nagai A. Alveolar wall apoptis causes lung destruction and emphysematous changes//Am. J. Respir Cell Mol Bial.- 2003.- №28.-P.555-62.
139. Aryal S., Diaz – Guzman E., Mannino D.M. influence of sex on chronic obstructive pulmonary disease risk and treatment outcomes//Int. J.Chron. Obstruct Pulman Dis. - 2014.-№ 9.-P. 1145-54.
140. Assing K., Bodtger U., Poulsen D.K., Malling H.J., J Clin. Exp. Allergy. - 2006. - Vol. 36.-№ 3. - P.283-292.

141. Buels K.S., Fruer A.D. *Handb. Exp. Pharmacol.*-2012. - Vol. 208.- P. 317-341.
142. Barclay A.N., Broun M.N., Law S.K.A., McKnight A.J., Tomlinson M.G., van der Merve P.A. // *The leukocyte antigen*. Academic Press. Harcourt Brase & Company, Publishers, N.Y. – 1997. – P.613 .
143. Barnes P.J. Role of HDAC 2 in the patophysiology of COPD *Ann Rev Physiol* 2008. (Epub Ahead of Print PMD: 18817512).
144. Barnes P.J., Chung K.F., Page C.P. Inflammatory mediators of asthma: an update//*Pharmacol Rev.*-1998.-№ 56(4).-P. 515-96.
145. Barnes P.J. Cytokine modulators as novel therapies for asthma. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*-2002.- 42-81-98.
146. Barnes P.J., Shapiro S.D., Pauwels R.A. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular meshanisms //*Eur. Respir. J.*-2003.-№22.P- 672-688.
147. Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease// *N.Engl.J. Med.*-2000.-№ 343.-P.269-280.
148. Barnes P.J. Molecular genetics of chronic obstructive pulmonary diasease//*Thorax.*-1999-№54.-P.245-252.
149. Berke G. Killing mechanism of cytotoxic lymphocytes//*Curr.Opin.Hematol*-1997.
150. Bosken C.H., Hads J., Gatter K., Hogg J.C. Characterization of the inflammary reaction in the peripheral airway of cigarette smokers using immunocytochemistry//*Am.Rev. Respir. Dis.* -1992.-№145.-P.911-7.
151. Beanchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and assays applicable to aerylamide gels//*Analit. Biochem.*- 1971.- V.44,N1.- P.276-287.
152. Bafadhel M. Mc Kenna,Terry S. et al Amite exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease// *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*-2011.-№184.-P.662-71.
153. Black J.L. Asthma – more muscle cells or muscular cells? //*Am J Respir Crit Care Med.*- 2004.-№ 169(9).-P.-980-1.

154. Bodtger V., Darks K., Paulsen Ph.D. et al //J Allergy Clin. Immunol. – 2002.- Vol.111.-№1.-P. 149-154.
155. Brisk R., Heaney L.G. Asthma control and exacerbations: two different sides of the same coin// Curr Opin Pulm Med.-2016.- № 22(1).-P. 32-37.
156. Boyum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow// Scand.J. Lab. Invest. – 1968.- Vol.21.-Suppl.97.-P. 9-109.
157. Bousquet J., Jeffery P.K., Busse W.W., Johnson M., Vignola A.M. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling//Am J Respir Crit Care Med.- 2000.- № 161(5).-P.1720-45.
158. Barclay A.N., Brown M.N., Law S.K.A., McKnight A.J., Tomlinson M.G., van der Merve P.A.// The leukocyte antigen. Academic Press. Harcourt Brase & Company, Publishers,N.Y. – 1997.-P.613 .
159. Bourbean J., Chistodouloupoulas P., Maltais F. et al. Effect of salmeterol/fluticasone propionate on airway inflammation in COPD: a randomized controlled trial// Thorax.-2007.-№62.-P. 938-943.
160. Bisset L.R., Lung T.L., Kaelin M., Labwig E., Dubs R.W. Reference values for peripheral blood lymphocyte phenotypes applicable to the healthy adult population in Switzerland// Eur J Haematol. – 2004. – V.72. N3. Mar.-P.203-212.
161. Bucchioni E, Kharitonov S.A., Allegra L., Barnes P.J. High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate of patients with COPD// Respir.Med.- 1997.-№12.-P.1299-1302.
162. Burr JS, Kimzey SL, Randolph DR, Green JM. CD 28 and CTLA 4 coordinately regulate airway inflammatory cell recruitment and T – helper cell differentiation after inhaled allergen//Am J Respir Cell Mol Biol.-2001.- V.24.-№5.- P. 563-568.
163. Calverley A., Walker P. Chronic obstructive pulmonary disease//Lancet.- 2003.-362:1053-61.
164. Carroll N., Cooke C., James A. The distribution of eosinophiles and lymphocytes in the large and small airways of asthmatics// Eur. Respir J.-1997.- №10.P.-292-300.

165. Celli B.R., Barnes P.J. Exacerbation of chronic obstruction pulmonary disease//Eur Respir. J. -2007.-№ 29.-P. 1224-1238.
166. Chin R.C.,Guenette J.A.,Cheng S., Raghavan N.,Amornputtisathaporn N., Cortes-Telles A., Webb K.A.,O Donnell D.E. Does the respiratory system limit system exercise in mild chronic obstructive pulmonary disease? //Am J Repir Crit Care Med.- 2013.-№ 187(12).-P. 1315-1323.
167. Custaldi P.J. Cohn M., Langerman F.,Mora Torragona N et al. The COPD genetic ass compendium: a comprehensive online database of COPD genetic associations// Hum. Mol. Genet.-2010.-.№19.-P.526-34.
168. Chuchalin A.G., Aysanov Z.R., Avdeev S.N. et al «Federal Clinical Guidelines on Diagnosis and Management of COPD// Russkiy meditsinnskiy zhurnal.-2014.-№22(5).-P.331-346.
169. Casio M.G., Saetta M, Agusti A. Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease //N Engl J Med. – 2009.-№360. -P. 2445-54.
170. Dahl M.,Vestbo J.,Lange P., Bogesten S.E., Tybjaery – Hansen F.,Nordestgaard. C – reactive protein as predictor of prognosis in chronic obstructive pulmonary disease//Am. J. Respir. crit. Care Med.-2007.-№175.-P.250-255.
171. Dal Negro R.W., Bonadimand., Tognella S., Bricollo F.P., Turcop. «Excelent and prevalence of cognitive dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease chronic non-obstructive bronchitis ad in asymptomatic smokers,compared to normal reference values//Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. -2014.-№ 9.-P.675-83.
172. Decramer M., Janssens W., Miravitless M. Chronic obstructive pulmonary disease//Lancet.- 2012.- 379(9823)1341-1351.
173. Donaldson G.C, Seemungal T.A., Bhowmik A., Wedzicha J.A. Relationship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease// Thorax.-2002.-№57(10).-P.847-852.
174. Donaldson G.C., Hurst J.R., Smith C.J. Hub Wedricha J.A. Increased risk of myocardial inflection and stroke following exacerbate chest.-2010.-Vol.137.-P. 1091 -1097.

175. Dima E., Rovina N, Gerassimou C. et al. Pulmonary function test, sputum indication and bronchial provocation test: diagnostic tools in the challenge of distinguishing asthma and COPD phenotypes in clinical practice// *Int.J. Chron. Obstruct. Pulm. Dis.*- 2010.- №5.-P.287-96.
176. Chapman K.R., Boulet L.P,Rea R.M., Franssen E. Suboptimal asthma control: prevalence, detection and consequences in general practice// *Eur. Respir. J.*-2008.-№31(2).-P. 320 – 5.
177. Erust P., Gonzaler A.V., Brassard P. et al Inhaled corticosteroid use in chronic obstructive pulmonary disease and the risk of hospitalization for pneumonia // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*-2007.-№176.-P.-162-166.
178. Engelkes M., Janssens H.M., de Jongste J.C., Sturkenboom M.C., Verhamme K.M. Medication adherence and risk of severe asthma exacerbations: a systematic review//*Eur.Respir J.*-2015.-№ 45(2).-P.396-407.
179. Favero J., Dixon J.E.P., Bishop P.C., Parker J.W.// Anti-CD4 monoclonal anti-bodies enhance phorbol 12-myristate, 13-acetate-induced activation of human T cells.// *Cell.Immunol.*-1989.-V.122,N2.-P.307-318.
180. Fairclough L., Urbanowicz R.A., Corne J., Lamb J.R. Killer cells in chronic obstructive pulmonary disease// *Clin Sci (Lond).*-2008.-№114(8).-P.533-41.
181. Fu J., Mc Donald V., Gibson P. et al Systemic inflammation in older adults with asthma – COPD overlap syndrome//*Allergy Asthma immunol. Res.*-2014.- №6(4).-316-324.
182. Folli C., Chiappori A., Pellegrini M., Garelli V., Riccio A.M, De Ferrari L.,Braidò F., Canonica G.W. COPD treatment: real life and experimental effects on peripheral NK – cells, their receptors expressions and their IFN – γ secretion// *Pulm. Pharmacol. Ther.* -2012.-№ 25(5).-P.371-6.
183. Galli S.J., Kalesnikoff J., Grimbaldston M.A., Piliponsky A.M., Williams C.M., Tsai M. Mast cells as „tunable,, effector and immunoregulatory cells: recent advances// *Annu Rev Immunol.*- 2005.-№ 23.-P. 749-86.
184. Gan W.Q., Man S.F., Senthilselvan A., Sin D.D. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic

inflammation: a systematic review and a meta – analysis//Trorax.- 2004.-№59.- P.574-580.

185. Chaudhuri R., Livingston C., McMahon A.D., Lafferty J., Flaser I, Spears M., Mc Sharry C.P., Thomson N.C. Effects of smoking cessation on lung function and airway inflammation in smokers with asthma//Am J Respir Crit Care Med.- 2006 Jul 15.-№ 174 (2).-P.127-33.

186. Cohn L., Elias J.A., Chupp G.L. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression//Annu Rev Immunol .-2004.-№22.-P.789-815.

187. Gan W.Q., Man S.F., Sin D.D. Effects of inhaled corticosteroids on sputum cell counts in stable chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and a meta-analysis// BMC Pulm.- 2005.-P. 563.

188. Global Initiative for Chronic Obstruction Lung Disease. Global Strategy For Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Deasease. Update 2017.<http://www.goldcord.com>.

189. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. NHLBI / WHO workshop report Update 2014.

190. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma (GINA) 2017. The GINA reports are available on www.ginasthma.org.

191. Gamble, Grootendorst P.C., Hattotuwa K. Airway mucosal inflammation in COPD is similar in smokers and ex – smokers: a pooled analysis// Eur. Respir. J.- 2007.-№30.-P.467-471.

192. Guenette J.A., Chin R.C.,Cory J.M.,Webb K.A.,O Donell D.E. Inspiratory capacity during exercise: measurement, analysis, and interpretation. - Pulm Med.- 2013.-956081.

193. Grumelli S., Carry D.B., Sony D.Z.,Green D., Huh J., Hacken J., Espada R., Bag R., devis P.E., Kheradmand F. An immune basis for lung parenchymal destruction in chronic obstructive pulmonary disease ad emphysema// Plos. Med.- 2004 Oct.- 1(1): e 8.

194. Global initiative for Chronic Obstructive lung Disease Update 2016.
<http://www.goldcord.com>. P. 120-124.

- 195.** Grulich C., Richter M., Exner S., Finke J. Fas ligand is not constitutively expressed in low – grade B-cell lymphoma and B-lymphoblastoid cells. // *Eur J haematol.*- 2003. – V. 3. N71.- P.184-188.
- 196.** Harnett M., Rigley. K. Thy role of G – proteins versus protein tyrosine kinases in the regulation of lymphocyte activation.// *Immunol. Today.* – 1992.- V.13.N.12.-P.482-486.
- 197.** Hardin M., Silverman E.K., Burr R.G.et al The clinical features of the overlap between COPD and asthma// *Respir.Res.*-2011.-№ 12.-P.127.
- 198.** Hamid Q.A « Peripheral inflammation is more important than central inflation» *Respir Med.*-1997.-№91.-P. 11-2.
- 199.** He Z., Chen Y., Chen P., Wu G., Cai S. «Local inflammation in patients with COPD// *Respirology.*-2010.-№ 15.-P.478-484.
- 200.** Hill A.T., Campbell E.J., Hill S.L., Bayley D.L., Storkley R.A. Association between airway bacterial load and markers of airway inflammation in patients with stable chronic bronchitis//*Am. J Med.*- 2000.-№ 109.-P.- 288-295.
- 201.** Hogg J.C., Chu F., Utoraparch S. et al. The nature of small – airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease// *N. Engl. J. Med.* -2004.- №350.-P. 2645 – 2653.
- 202.** Holgate S.T. Genetic and environmental interaction in allergy and asthma// *J Allergy Clin Immunol.* -1999.-N 104(6).-P.1139-46.
- 203.** Hori S., Nomura T., Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3// *Science.* – 2003. – V.299.- N 5609.- P. 1057-1061.
- 204.** Howard L.M., Reen D.J. CD72 ligation regulates defective naïve newborn B cell responses//*Cell Immunol.*-1997 Feb 1.-№175(2).-P.179-88.
- 205.** Howell G. «J. Asthma» -.2008.- V.45.- P.723.
- 206.** Hogg J.C. Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease// *Lancet.*-2004.-№364.-P.709-21.
- 207.** Hurst J.R., Wedzicha J.A. The biology of a chronic obstructive pulmonary disease exacerbation//*Clin. Chest Med.* -2007.-№ 28.-P- 525-536.

- 208.** Hurst J.R. Роль бронхиального и системного воспаления в патогенезе ХОБЛ// Hot Topics Respir Med.- 2010.- №5 (15).-P.17-21.
- 209.** Hurst J.R., Vestibo J., Aurueto A et al. Susceptibility to exacerbation in chronic obstruction pulmonary disease//N. Engl. J. Med.-2010.-№ 363.-P. 1128-38.
- 210.** Hurst J.R. Exacerbation phenotyping in chronic obstructive pulmonary disease//Am. J.Respir. Crit. Care Med.- 2011.-№184.-P. 625-66.
- 211.** Hurst J.R. Airway and systemic markers at exacerbation in: Wedziche J.A. Martines F.J.-2009.-P.20-27.
- 212.** Hurst J.R., Perera W.R, Wilkinson T., Donaldson G., Wenzicha J.A. Systemic and upper and lower airway inflammation at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease// Am.J. Resp. Crit. Care Med.- 2006.-№173.-P.71-78.
- 213.** Holgate S.T. Genetic and environmental interaction in allergy and asthma//J Allergy Clin Immunol.- 1999.-№ 104(6).-P.1139-46.
- 214.** Hori S., Nomura T., Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3// Science. – 2003. – V.299. N 5609.-P. 1057-1061.
- 215.** James A. Airway remodeling in asthma //Curr. Opin Pulm Med.-2005-.№5(1).-P.49-56.
- 216.** James A.L., Wenzel S. Clinical relevance of airway remodeling in airway disease//Eur. Respir. J.-2007.- V 30.- P. 134-155.
- 217.** Jadab A.R., Moher M., Browman G.P., Booker L., Sigonis C., Fuentes M. et al. Systematic reviews and meta-analyses on treatment of asthma: critical evaluation BMJ.- 2000.-№320.-P.537-40.
- 218.** Jeffery P.K. Pathology of asthma and COPD : a synopsis // Eurpp. Respir. Rev.-1997.- Vol.7.N 43.-P.111-118.
- 219.** Joannidies C.G., Freedman R.S., Platsoucan C.D. OKT 4 monoclonal antibody-induced activation of an autoreactive T-cell clone. // Cell.Immunol. – 1989.-V.123. N1. – P.244-252.

220. Kay A.B., Phipps S., Robinson D.S. A role for eosinophils in airway remodeling in asthma//Trends Immunol .-2004.-№ 25(9).-P. 477-82.
221. Kaptoge S., Di Angelantonio E., Lowe G et al. Emerging Risk Factors Collaboration. C – reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke and mortality^ an individual participant meta – analysis//Lancet – 2010.-№ 375.-P.132-140.
222. Kupczyk M., ten Brinke A., Sterk P.J., Bel E.H.,Papi A., Chanez P., Nizankowska – Mogilnicka E., Gjomarkaj M., Gaga M., Brusselle G., Dalen S. – E.;BIOAIR investigators. Frequent exacerbators – a distinct phenotype of severe asthma// Clin Exp Allergy.- 2014.-№ 44(2).-P.212-221.
223. Kuipers H., Lambrecht B.N. The interplay of dendritic cells, Th2 cells asthma// Curr Opin Immunol.- 2004.-№ 16(6).-P.702-8.
224. Landowski T.N., Moscinski L., Burke R., Buyuksal I., Painter J.S., Goldstein S., Dalton W.S. CD95 antigen mutations in hematopoietic malignancies. // Leuk Lymphoma. – 2001. –V 42. - N 5.- P.835-846.
225. Lacoma A., Prat C., Andreo F., Domingues J. Biomarkers in the management of COPD// Eur. Respir. Rev.- 2009.- №18 (112).-P 96-104.
226. Lamprecht B., Mc Burnic M.A., Vollmer W.M et al COPD in never smokers: results from the population – based burden of obstructive lung disease study//Chest.-2011.-№139.-P.752-63.
227. Larche M., Robinson D.S., Kay A.B. The role of T-lymphocytes in the pathogenesis of asthma//J Allergy Clin Immunol.- 2003.-№ 111(3).-P.450-63.
228. Leckie M.J., Jenkins G.R., Khan J., Smith S.J., Walker C., Burnes P.J., Hansel T.T. Sputum T – lymphocytes in asthma., COPD and healthy subjects have the phenotype of activated intraepithelial T – cells (CD 69+;CD 103+)// Thorax. -2003 Jan.-№ 58(1).-P. 23-9.
229. Leonardi – Bce J, Pritchard D, Britton J. Asthma and current intestinal infection: systematic review and meta-analysis//Am J Respir Crit Med.-2006 Sep 1.-№ 174(5).-P.514-23.
230. Left A.R. Regulation of leukotrienes in the management of asthma: biology and clinical therapy// Annu Reu Med.- 2001.-№52.-P1-14.

231. Levings M.K., Sangregorio R., Roncarolo M.G. Human CD 25+CD 4+ T Regulatory cells Suppress naïve and Memory T Cell Proliferation and Can Be Expanded In Vitro without Loss of Function // J. Exp. Med. – 2001. – V. 193. N 11.- P.1295 – 1301.
232. Levings M.K., Sangregorio R., Sartirana C., Moschin A.L., Battaglia M., Orban P.C., Roncarolo M.G. Human CD25+CD4+T Suppressor Cell Clones Produce Transforming Growth Factor, but not Interleukin 10, and Are Distinct From Type 1 T Regulatory Cells // J. Exp. med. – 2002. – V. 196.T 10.- P. 1335-1346.
233. Lin H.Y., Martino L.J., Wilcox B.D., Davis F.B., Gordinier P.J. Potentiation by Thyroid Hormone of Human IFN-g Induce HLA-DR Expression.// The Journal of Immunology. – 1998. – V. 161.-P.843-849.
234. Lange P., Marott J.L., Vestbo J., Olsen K.R., Ingebrigtsen T.S., Dahl M., Nordestgaard B.G. Prediction of the clinical course of chronic obstructive pulmonary disease, using the new GOLD classification: a study of the general population// Am J Respir Crit Care Med.-2012.-№186 (10).-P.975-981.
235. Lange D., Ciavaglia C.E.,Neder J.A.,Webb K.A., O Donell D.E. Lung hyperinflation in chronic obstructive pulmonary disease: mechanisms, clinical implications and treatment// Expert Rev Respir Med.- 2014.-№ 8(6)-P. 731-749.
236. Mahler D.A.,O Donell D.E. Recent advances in dyspnea//Chest.- 2015.-№147(1).- P.232-241.
237. Martinez F.J., Curtis J.L., Albert R. Role of macrolide therapy in chronic obstructive pulmonary disease //Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.-2008.- №3(3).-P. 331-350.
238. Martin R.J. Therapeutic significance of distal airway inflammation in asthma //J. Allergy Clin Immunol.- 2002.-109 (2 Suppl.): S. 447 – 460.
239. Masoli M., Fabian D., Holt S., Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of GWA Dissemination Committee Report. Allergy.- 2004.- №59.-P.-469-478.

240. Meshi B., Vitalis T.Z., Lonescu D et al. Emphysematorus Lung destruction by cigarette smoke. The effects of latent adenoviral infection on the lung inflammatory response // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*-2002.-№26.-P.52-57.
241. Moy M.L., Teylan M., Weston N.A., Gadron D.R., Danilack V.A., Gashik E. Daily step count is associated with plasma C- reactive protein and IL-6 in a US cohort with COPD.// *Chest.*- 2014.-№145(3)-P.542-550.
242. Mincheva R., Ekerljung L., Bjerd A. et al. Frequent cough in unsatisfactory controlled asthma - results from the population – based// *West Sweden Asthma Study Respiratory Reseach.* -2014. -Vol.15.-P.79.
243. Morrison S.G., Su H., Caldwell H.D., Moriso R.P.. Inflammation and immunity.- 2000.- Vol.68. N 12.-P 6979-6987.
244. Miravitlles M., Barrecheguren M., Roman – Rodriguez M. Frequency and characteristics of different clinical phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease//*Int J Tuberc Lung DIS.*- 2015.-№ 19(8).-P.992-998.
245. Miravitlles M., Cataluca J.J., Calle M., Soriano J.B. Tereatment of COPD by Clinical phenotypes: putting old evidence into clinical practice//*Eur Respir J.*- 2013.-№41(6).P- 1252-6.
246. Miller A.L., Lukacs V.W. Chemokine receptors: understanding their role in asthmatic disease //*Immunol Allergy Clin North Am.*- 2004.-№ 24(4).-P. 667-83.
247. Minshal E.M., Hogg J.G., Hamid Q. Citokine m RNA expression in asthma is not restricted to the large airway. //*J. Allergy Clin. Immunol.*- 1998.-№ 101.-P. 386-390.
248. O Donell D.E., Gebke K.B. Examining the role of activity exercise, and pharmacology in mild COPD//*Postgrad Med.*- 2014.-№ 126(5).-P.135-145.
249. O Donell D.E., Laveneziana P., Webb K., Neder J.A. Chronc obstructive pulmonary disease: clinical intergrative physiology//*Clin Chest Med.*-2014.-№ 35(1).-P 51-69.
250. Papi A. Infections and airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease sever exacerbations.//*Am J Respir Crit Care Med.*- 2006.-№176(10).-P.1114-1121.

251. Pela R., Marchessni F., Agostinelli C. et al. Airways microbial flora in COPD patients in stable clinical conditions and during exacerbations: a bronchoscopic investigation// *Monaldi Arch Chest Dis.*- 1998.-№53.-P.262-267.
252. Pawankar R., Canonica G.W., Holgare S.T., Lockey R.F. Allergic diseases and asthma: a major global health concern// *Err. Opin. Allergy Clin. Immunol.*- 2012.-№12.-P.39-12.
253. Petters – Golden M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma// *Am J Respir Cell Mol Biol.*-2004.-№ 31(1).-P.3-7.
254. Piacentini G.L., Peroni D.G., Bodini A. Azithromycin reduced bronchial hyperresponsiveness and neutrophilic airway inflammation in asthmatic children: a preliminary report// *Allergy Asthma Proc.* -2007.- №28(2).-P. 194-198.
255. Poryadin G.V. Dynamic Characteristic of Surpase Phenotype of Peripheral Blood Lymphocytes in Miocarditis Patients//*Russian Journal of Immunology.*-July 15,1999.-V4, № 2.-P.166-170.
256. Postma D.S., Calverly P. Inhaled corticosteroids in COPD a cose in favour//*Eur. Respir. J.*- 2009.-№ 34 (1).-P. 10-12.
257. Puchelle E., et al. Airway epithelium injury and repair// *Eur. Resp. Rev.*- 1997.-№7(43).-P.136-141.
258. Rabe K.T., Timmer W., Sagkriotis A. et al. comparison of a Combination of Tiotropium Plus Fluticasone in Moderate COPD//*CHEST.*-2008.- №134.-P.255-262.
259. Rahman I. Oxidative stress in pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of chronic obstructive pulmonary disease cellular and molecular mechanisms //*Cell Biochem Biophys.*- 2005.- №43.-P. 167-88.
260. *Respiratory Epidemiology in Europe.*/Eds I.Annesi-Maesano et al.-The European Resp.Soc.Monograf.-2000.-№15.
261. Rennard S. Pathophysiological mechanisms of COPD//*Eur. Resp. Rev.*-1997. - 91, Suppl. A, 2-8.
262. Repapi E. Sayers I, Wain L.V..et al. Genernewide association study identifies live loci associated with lung function //*Nat Genet.*- 2010.-№42.-P.36-44.

263. Robertson M.J., Cameron C., Lazo S., Cochran K.J., Voss S.D., Rits J. Co stimulation of human natural killer cell proliferation: role of accessory cytokines and cell contact- dependent signals//*Nat Immun.*- 1996-1997.-№15(5).-P.213-26.
264. Robinson D.S. The role of the mast cell in asthma: induction of airway hyperresponsiveness by interaction with smooth muscle? //*J Allergy Clin Immunol.*- 2004.- №114(1).-P. 58-65.
265. Roede B.M., Bresser P., Prins J.M. et al. Reduce risk of next exacerbation and mortality associated with antibiotic use in COPD//*Eur. Respir J.*-2009.-№ 33.-P. 282-288.
266. Roy K., Smith J., Kolsum U., Bowill Z., Vestbo J., Singh D. COPD phenotype description using principal components analysis.//*Respir. Res.* -2009.-№10.-P.41.
267. Rutgens S.R., Postma D.S. Ten Hacken N.H. et al Ongoing airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke //*Thorax.*-2000.- №55.-P.12-18.
268. Sabelko – Downes K.A., Russell J.H. The role of Fas ligand in vivo as a cause and regulator of pathogenesis.// *Current Opinion in Immunology.* – 2000.- N12.- P. 330-335.
269. Sachs APE, Koeter G.H., Groenier K.H. et al. Changes in symptoms, peak expiratory flow, and sputum flora during treatment with antibiotics of exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease in general practice//*Thorax.* -1995.-№ 50.-P.758-763.
270. Salor SS., Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers//*Lancet.* -2009.-№ 374(9691).- P.733-43.
271. Saetta M., Di Stefano A, Turato G et al CD 8 + T lymphocytes in the peripheral airway of smokers with chronic obstructive pulmonary disease//*Am.J..Respir. Crit Care Med.*- 1998.-№157.-P.822-826.
272. Schluger N.W., Koppaka R. Lung disease in a global context, F call for public Health action//*Ann. Am. Thorac. Soc.*- 2014.-№11(3).-P.407-16.
273. Schmitz I., Kirchhoff S., Krammer P.H.: Regulations of death receptor mediated apoptosis pathways//*The Intern.Journal of Biochemistry and Cell Biology.*-2000.-Vol 32.-P.1123-1136.

274. Schwarting R., Castello R., Moldenhauer G., Pezzutto A., von Hoegen I., Ludwig WD, Parnes J.R., Dorken B. Human Lyb-2 homolog CD72 is a marker for progenitor B-cell leukemias// *Am J Hematol.* -1992 Nov.-№41(3).-P.151-8.
275. Scuarcialupi M.E., Berton D.C., Cordoni P.K., Squassoni S.D., Fiss E., Neder J.A. Can bronchodilators improve exercise tolerance in COPD patients without dynamic hyperinflation? // *J Bras Pneumol.* - 2014.-№40(2).-P.11-118.
276. Schmitz, Kixchhoff S., Krammer P.H. «Regulation of death receptor mediated apoptosis pathways//*The international Journal of Biochemistry and Cell Biochemistry and Cell Biology.* -2000.-V.32.- P.1123-1136.
277. Smyth L.J. Starkey C., Vestbo J., Singh D. CD 4 – regulatory cells// *Chest.* - 2007 Jul.-№132(1).-P.156-63.
278. Soler N., Agusti C., Angrill J. et al. Bronchoscopy validation of the significance of sputum purulence in severe exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease// *Thorax.* - 2007.-№ 62.-P. 29-35.
279. Soheim I.C., Johannessen A., Gulsvi K.A., Bakke P.S., Silverman E.K., Demeo D.L. Gender differences in COPD: are woman more susceptible to smoking effect then men//*Thorax.*-2010.-№ 65.-P. 480-5.
280. Sporik R., Ingram J.M., Price W, Sussman J.H, Honsinger R.W, Platts-Mills T.A. Association of asthma with serum Ig E and skin test reactivity to allergens among children living at high altitude. Tickling the dragon's breath//*Am.J. Respir Crit Care Med.*- 1995.-№ 151(5).-P.1388-92.
281. Soler-Cataluna J.J., Alcazar-Navarrete B., Miravitless M. The concept of COPD in clinical practice //*Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.*- 2014.-№9.-P. 1397-1405.
282. Stalder T., Hahn S., Erb P. Fas antigen is the major target molecule for CD4⁺ T cells-mediated cytotoxicity// *J. Immunol.* – 1994.- V. 152. N.3. – P. 1127-1133.
283. Stetinova V., Herout V., Kvetina J. In vitro and in vivo antioxidant activity of ambroxol //*Clin. Exp. Med.*- 2004.-№4.-P. 152 – 158.
284. Shelest E.A., Matveeva M.A., Shuganov A.E. et al. Thrombophilia influence on the intensity of the intravascular microcoagulation at the patients with

- atherothrombosis and chronic obstructive pulmonary disease// Trombosis research – 20140 Vol. 133 S3-S55. Spain Valencia.
- 285.** Suneel D. Raza M., Raza A. A multistep process of Fas activation ensures the timely death of the desired target and prevents the bystander death of normal cells // Trends in Immunology. – 2002. – V 23. N 4. P. 187-194.
- 286.** Sullivan A.L., Simonian P.L, Falta M.T. et al Oligoclonal CD 4+ T cells in the lungs of patients with severe emphysema//Am.J. Respir. Crit Care Med. - 2005.-№172.-P. 590-6.
- 287.** Suto A., Nakajima H., Ikeda K., Kubo S., Nakayama T., Taniguchi M., Saito Y., Iwamoto I. CD4+CD25+ T-cell development is regulated by at least 2 distinct mechanisms // Blood. – 2002. – V.99.-N 2. -P.555- 560.
- 288.** Svanes C., Sunyer J., Plana E. Early life origins of chronic obstructive pulmonary disease//Thorax.- 2010.-№65.-P.14-20.
- 289.** Tashking D.P. The role of small airway inflammation in asthma //Allergy Asthma. Perr.-2002.-№23(44).-P. 233-242.
- 290.** Thomsen M., Dahi M., Lange P.et al. Inflammatory Biomarkers And Comorbidities in Chronic Obstructive Pulmonary Disease //Am J Respir Crit Care Med.- 2012.- Vol 186. -№ 10. -P. 982-988.
- 291.** Tattersfield A.E., Knox A.J., Britton J.R., Hall I. P. Asthma//Lancet.- 2002.-№ 360(9342).-P. 1313-22.
- 292.** Thoma M., Decramer M., O'Donnell D.E. No room to breathe: the importance of lung hyperinflation in COPD// Prim Care Respir J.- 2013.- №22(1).- P.101-111.
- 293.** Thurlbeck W.M. Chronic bronchitis and emphysema//Med. Clin. North. Am.- 1973.-№57.-P.651-668.
- 294.** Tudor R.M., Zhenl., Cho C.Y. et al. Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema due to vascular endothelial factor receptor blockade// Am. J Respir. Cell. Moll. Biol.-2003.-№ 29.-P. 88-97.
- 295.** Tudor R.M., Yoshida T., Arap W et al. State of the art. Cellular and molecular mechanisms of alveolar destruction in emphysema: an evolutionary perspective// Pror. Am. Thorac. Soc. -2006.-№3.-P. 503-11.

296. Van Durme Y.M., Verhamme K.M., Afrnoudse A.J. et al. «C – reactive protein levels haplotypes and the risk of incident chronic obstructive pulmonary disease//Am. J Respir Crit Care Med.-2009.-№179.-P.375-382.
297. Vachier I., Vignola A.M., Chiappara G. Inflammatory features of nasal mucosa in smokers and without COPD//Thorax.- 2004.-№59.-P.303-307.
298. Van der Strate B.W., Postma D.M., Brandsma C.A. Cigarette smoke – induced emphysema: a role for the B – cell? //Am.J Respir Crot Care Med.- 2006.- №173.-P.751-8.
299. Von Bulow A., Backer V., Porsbjerg C. Severe asthma – where are we today? Ugeskr Laeger.2014; 176 (3A).
300. Van Noord J.A., Bantje T.A., Eland M.E., Korducki L., Cornelissen P.J. A randomized controlled comparison of tiotropium and ipratropium in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease .The Dutch Tiotropium Study Group Thorax 2000; 55:289-294.
301. Ven Kataraman C., Lu P.J., Buhl A.M., Chen C.S., Cambier J.C., Bondada S. CD72- mediated B cell activation involves recruitment of CD19 and activation of phosphatidylinositol 3-kinase.// Eur. J. Immunol.-1998.-V 28. N 10.- P. 3003-3016.
302. Van Damme N., De Keyser F., Demetter P., Baeten D., Mielants H. et all. The proportion of Th1 cells, which prevail in gut mucosa is decreased in inflammatory lowed syndrome.// Clin Exp. Immunol.- 2001.- V. 125. №3.- P. 383-390.
303. Wahn V., Lau S., Bergmann R., Kulig M., Forster J., Bergman K. et all. Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life//Allergy Clin Immunol.- 1997.- №99(6 Pt 1).-P.- 763-9.
304. Wenzel S. Phenotypes and endotypes:e merging concepts on asthma heterogeneity// Global Atlas of Asthma . Ed. Cezmi A. Akdis, Ioana Agache. -2013. -P. 34-35.
305. White A.J., Gompertz S, Stockley R.A. Chronic obstructive pulmonary disease. 6: The etiology of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease// Thorax.- 2003.-№58.- P.73-80.

- 306.** Wedzicha J.A., Decramer M., Seemungal T.A. The role bronchodilator treatment in the prevention of exacerbation of COPD//Eur. Respir J.- 2012.- №40(6).-P.1545-1554.
- 307.** Wenzel S.E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approached //Nat. Med. -2012.-№18.-P. 16-25.
- 308.** Wenzel S. Mechanisms of severe asthma//Clin Exp. Allergy. -2003. -№33(12).- P.1622-8.
- 309.** Wilson R., Jones P., Schaberg T. et al. Antibiotic treatment and factors influencing short and long term outcomes of acute exacerbation of chronic bronchitis//Thorax.- 2006.- №61.-P.337-342.
- 310.** Wu H.J., Ven Kataraman C., Estus S., Dong C., Davis R.J., Flavell R.A., Bondada S. Positive Signaling Through CD72 Induces Mitogen – Activated Protein Kinase Activation and Synergizes with B Cell Receptor Signals to Induce X-Linked Immunodeficiency B Cell Proliferation.//J. Immunol. – 2001. – N 167.-P. 1263 – 1273.
- 311.** Zachoj, Tybjaerg – Hausen J.S., Grande P., Sillesen H., Nozdestgard B.G. «Genetically elevated C – reactive protein and ischemic vascular disease//N. Engl. J. Med.- 2008.-№ 359.-P.1897-1908.
- 312.** Zeki A.A, Schivo M., Chan A, Albertson T.E.Lerne S. The asthma – COPD overlap syndrome: a common clinical problem in the elderly//J. Allergy.- 2011.-P.861-926.

