ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ ԵՐԵՎԱՆԻ Մ. ՀԵՐԱՅՈՒ ԱՆՎԱՆ ՊԵՏԱԿԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ሀኮሆበኒ8ԱՆ ԼԻԼԻԹ ՀԵԿՏՈՐԻ

էպշտեյն-բարր վիրուսով ասոցացված թոքերի քրոնիկական օբստրուկտիվ հիվանդություն. ախտածագման եվ բուժման ժամանակակից ասպեկտները

ԺԴ.00.03-«Ներքին հիվանդություններ» մասնագիտությամբ բժշկական գիտությունների դոկտորի գիտական աստիձանի հայցման ատենախոսության

ሀԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ-2017

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. М.ГЕРАЦИ

СИМОНЯН ЛИЛИТ ГЕКТОРОВНА

ВИРУС ЭПШТЕЙН-БАРР-АССОЦИИРОВАННАЯ ХРОНИЧЕСКАЯ ОБСТРУКТИВНАЯ БОЛЕЗНЬ ЛЕГКИХ: СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА И ЛЕЧЕНИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.00.03 — «Внутренние болезни»

EPEBAH-2017

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԱՆ Պրոֆ Ռ.Յոլյանի անվան «Արլունաբանական կենտրոն» ՓԲԸ-ի գիտական խորհրդի նիստում։

Պաշտոնական ընորիմախոսներ՝

բ.գ.դ., պրոֆեսոր Մ.Դ. Սաֆարյան բ.գ.դ., պրոֆեսոր Գ.Գ.Մելիք-Անդրեասյան բ.գ.դ., պրոֆեսոր Գ.Ա. Եգանյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

ՀՀ ԱՆ «Նորք» Ինֆեկցիոն կլինիկական հիվանդանոց ՓԲԸ

Ատենախոսության պաշպանությունը կկայանա 2017թ. դեկտեմբերի 14-ին ժամը 14% ԵՊԲՀ-ում գործող ՀՀ ԲՈՀ-ի "Թերապիա-028" մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, p.Երևան 0025, Կորյունի փող. 2)։

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ԵՊԲՀ-ի գրադարանում։ Սեղմագիրն առաքված է 2017թ. նոյեմբերի 11-ին։

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար՝

Janiquely բ.գ.դ. Լ.Գ.Թունյան

Тема диссератации утверждена на заседании ученого совета АОЗТ «Гематологический центр» им проф. Р. Еоляна МЗ РА.

Официальные оппоненты:

д.м.н., профессор Сафарян М.Д. д.м.н., профессор Мелик-Андреасян Г.Г. д.м.н., профессор Еганян Г.А.

Ведущая организация:

АОЗТ Инфекционная клиническая больница "Норк" МЗ РА

Защита диссертации состоится 14-го декабря 2017г. в 14^{00} на заселании специализированного совета ВАК «028-Терапия» при ЕГМУ им.М.Гераци (РА, 0025 г. Ереван, ул. Корюна 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ЕГМУ им.М.Гераци. Автореферат разослан 11-го ноября 2017г.

Ученый секретарь специализированного совета Manywelf

д.м.н. Л.Г.Тунян

ОБШАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относится к числу наиболее распространенных заболеваний человека. Она наносит значительный экологический ущерб, связанный с временной или стойкой утратой трудоспособности самой активной части населения [Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р. и др., 2014; Белевский А.С., 2012; Авдеев С.Н., 2016]. По данным голландских исследователей, распространенность ХОБЛ резко возрастает с возрастом (3,6% в возрасте 40 лет, 24,1% - в 70 лет). По данным исследования ВОLD (Burden of Obstructive Lung Disease), распространенность ХОБЛ ≥ II стадии (GOLD) среди лиц старше 40 лет составляет $10,1 \pm 4,8$ % (среди мужчин $-11,8 \pm 7,9$ %, среди женщин $-8,5 \pm 5,8$ %) [Buist A.S., Mc Burnie M.A., Vollmer W.M. et al., 2007].

В то время, как в 1990–2000 гг. летальность от сердечно-сосудистых заболеваний и инсульта снизилась на 19,9 и 6,9 % соответственно, при ХОБЛ она возросла на 25,5 % [Mannino D.M., Homa D.M., Akinbami L.J. et al., 2002]. При этом особенно выраженный рост летальности от ХОБЛ отмечался среди женщин — в результате все большего распространения среди женщин одного из важных факторов риска ХОБЛ — табакокурения, а также воздействия бытовых воздушных поллютантов при приготовлении пищи и сгорании топлива.

По данным Нациольного института здоровья США, смертность от ХОБЛ не в старших возрастных группах занимает 4-5-е место, т.е. входит в число основных причин смертности США. В Европе смертность от ХОБЛ колеблется от 2,3 (Греция) до 41,4 (Венгрия) на 100 тыс. населения. В России, по результатам подсчетов с использованием эпидемиологических маркеров, гипотетически насчитывается около 11 млн. больных ХОБЛ.

Согласно недавно опубликованным данным Р.G.J. Burney et al., глобальная летальность от ХОБЛ за период 1990–2010 гг. практически не изменилась: ежегодно умирает 2,8–3,0 млн. человек [Burney P.G.J., Pate l.J., Newson R. Et al., 2015].

Основной причиной смерти пациентов с ХОБЛ является прогрессирование основного заболевания. Согласно данным многочисленных исследований, около 50-80 % больных ХОБЛ умирает от респираторных проблем — либо во время обострений основного заболевания, либо от опухолей легких (от 8.5 до 27,0 %) [Garcia I.S., Clara P.C., 2010].

Ввиду того, что легкие представляют собой своеобразную биологическую «мембрану», аэрогематический барьер, преимущественно состоящий из фосфолипидов и липопротеидов, при ХОБЛ особое значение приобретают процессы свободнорадикального окисления, протекающие в клетках легочной ткани [Sandford A., Weir T., Pare P., 1997]. С другой стороны, в настоящее время многие патологические процессы рассматриваются как состояния, сопряженные с поражением клеточных мембран с дестабилизацией структурнофункциональных характеристик последних, приводя к потере их функциональной компетентности, изменению жизнедеятельности клеток в целом и, в конечном счете, к их гибели [Грибанов Г.А., 1991].

Надо отметить, что обострение инфекционного процесса в респираторной системе усугубляет бронхиальную обструкцию и ведет к нарастанию всех признаков болезни. Имеются сведения о том, что респираторные инфекции запускают около половины случаев клинически значимых обострений ХОБЛ [Rennard S.I, Romberger D.J., Spurzem J.R., 2008]. Примерно у 25% больных хронический бронхит, а затем и ХОБЛ формируется как исход нелеченного острого затяжного и рецидивирующего бронхита. У них в качестве первоначального этиологического фактора выступает вирусная или вирусно-бактериальная инфекция, которая формирует гиперреактивность бронхов, бронхоспастический синдром, способствуя хронизации воспаления в бронхах [Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р. и др.,

2014; Punekar Y.S., Shukla A., Müllerova H., 2014; Solem C.T., Sun S.X., Sudharshan L. et al., 2013]. При этом особое место отводится активации герпесвирусных инфекций.

По данным многочисленных исследований, вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) является одним из самых распространенных из группы герпесвирусов, инфицирующий до 90% человеческой популяции [Львов Д.К., Баринский И.Ф., Гараев М.М., Алимбарова Л.М., 2004; Кускова Т.К., Белова Е.Г., 2004; Shoji H., Wakasugi K., Miura Y. et al., 2002]. Причем большинство инфицируется в раннем детстве, а к трем годам до 20-70% населения уже становятся его носителями [Долгих М.С., 2001; Марков И.С., 2002].

ВЭБ, как и остальные вирусы этой группы, обладает способностью, пожизненно персистировать в организме человека. Вирус является лимфотропным агентом, приводящим к болезням иммунной системы с развитием синдромов лимфопролиферации и иммунной недостаточности. Возбудитель обладает оппортунистическими и онкогенными свойствами. Наибольший тропизм он проявляет по отношению к лимфоцитам (особенно В-клеткам) и эпителиоцитам носоглотки, что определяет характер клинических поражений. Вирус способен пребывать в латентной, персистирующей и реактивированной форме.

Первичная ВЭБ-инфекция протекает, как правило, бессимптомно и только в ряде случаев проявляется как инфекционный мононуклеоз. После этого ВЭБ в незначительном количестве сохраняется в организме хозяина в течение всей жизни. С инфицированными клетками ВЭБ распространяется по другим лимфоидным тканям и крови. В 10–25% случаев первичное инфицирование ВЭБ, протекающее бессимптомно, и острая ВЭБ-инфекция могут иметь неблагоприятные последствия [Симованьян Э.Н., Денисенко В.Б., Бовтало Л.Ф., Григорян А.Н., 2007; Cohen J.I., Jaffe E.S., Dale J.K. et al., 2011; Cohen J.I., Кітшта Н., Nакатшта S., KoY-H., Jaffe E.S., 2009] с формированием лимфопролиферативных и онкологических заболеваний, синдрома хронической усталости, ВЭБ-ассоциированного гемофагоцитарного синдрома и др. [Симованьян Э.Н., Денисенко В.Б., Бовтало Л.Ф., Григорян А.В., 2007; Cohen J.I., Jaffe E.S., Dale J.K. et al., 2011; Pagano J.S., 2002; Thracker E.L., Mirzaei F., Ascherio A., 2006].

Надо отметить, что лечение ХОБЛ с использованием лишь стандартных схем лечения не всегда является эффективным. Недостаточно изучена и роль ВЭБ в развитии ХОБЛ. С другой стороны, в литературе малочисленны данные, касающиеся исследований мембран лимфоцитов при ХОБЛ.

В связи с наблюдаемым ростом заболеваемости ХОБЛ, а также высоким инфицированием данной группы населения ВЭБ, приводящим к осложнению хронических заболеваний и угнетению активности иммунной системы, возникла необходимость поиска новых, более рациональных методов лечения ХОБЛ.

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования является изучение отдельных вопросов патогенеза и течения ХОБЛ при хронической инфекции ВЭБ, а также выбор наиболее рациональной тактики лечения на основании результатов клинических, функциональных, биохимических и иммунологических тестов.

Задачи исследования:

- 1. Изучить количество Ig класса M и G к ВЭБ у больных с ХОБЛ.
- Изучить клиническую эффективность проводимой терапии в зависимости от степени тяжести и состояния вентиляционной функции легких.

- Оценить влияние и характер воздействия комплексных методов терапий с использованием инозин пранобекса и плазмафереза на показатели клеточного и гуморального иммунитета при данной патологии.
- Изучить действие плазмафереза и инозин пранобекса на структурные и метаболические характеристики мембран лимфоцитов.
- Дать сравнительную характеристику всех биохимических и клинических показателей в зависимости от проводимого лечения.
- Выявить взаимосвязь между концентрацией антител к ВЭБ и тяжестью заболевания, клинико-функциональными проявлениями, биохимическими и иммунологическими показателями при ХОБЛ.
- На основе анализа всех изученных показателей выявить наиболее рациональный метод терапии больных ХОБЛ.

Научная новизна. Впервые в Армении исследовано количество антител класса М и G к вирусу Эпштейна-Барр при ХОБЛ и определена взаимосвязь между ними и степенью тяжести заболевания.

Впервые проведено исследование иммунопатогенеза ХОБЛ путем оценки показателей иммунной системы. Установлена сопряженность хронизации вируса Эпштейна-Барр с развитием иммунологических нарушений. Установлена особенность иммунного реагирования у больных с данной патологией.

Впервые установлена диагностическая значимость определения отдельных показателей клеточной и гуморальной иммунных систем при ХОБЛ.

Впервые оценено структурно-функциональное состояние мембран лимфоцитов после различных схем терапий у больных с ХОБЛ. Показана высокая эффективность препарата инозин пранобекса в комплексном лечении ХОБЛ.

Обосновано значение экто-5'-нуклеотидазы мембран лимфоцитов в качестве интегрального показателя, отражающего функциональное состояние клеток иммунной системы больных ХОБЛ.

Впервые выявлена взаимосвязь между нарушениями биохимических показателей, количества антител класса G к вирусу Эпштейна-Барр, клиническими данными и показателями ВФЛ у больных с ХОБЛ после различных методов терапий.

Практическая значимость работы. Показано, что нарушения структурных и метаболических характеристик мембран лимфоцитов, а также клеточного и гуморального иммунитета у больных с ХОБЛ в значительной степени влияют на течение и прогноз заболевания.

Показана значимость ВЭБ в развитии ХОБЛ.

Доказана целесообразность применения иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса у больных ХОБЛ совместно с базисной терапией. Особенности инозин пранобекса позволяют применять его в клинической практике с целью иммунокоррекции в условиях хронического патологического процесса в легких.

Внедрение результатов исследования в практику. Научные положения, выводы и рекомендации работы используются в клинической практике терапевтического отделения медицинского объединения «Канакер-Зейтун», включены в программы подготовки студентов на кафедре терапии ЕГМУ.

Апробация работы. Апробация диссертации проведена 07.07.2017г. на заседании ученого совета АОЗТ «Гематологический центр им. проф. Р.О.Еоляна» МЗ РА. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на VII Международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы современной науки» (Москва, 2016); X Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы науки XXI века» (Москва, 2016); 12 th AMWC Armenian Medical World Congress (Argentina, 2017), The Fourteenth International Conference on Biology and Medical Sciences (Vienna, Austria, 2017), European Conference in Technical and Natural Sciences, 15th International scientific conference (Vienna, Austria).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 22 научные статьи.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 225 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов работы, собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и приложения. Работа иллюстрирована 23 рисунками и 27 таблицами. Библиография содержит 299 источников.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проводилось комплексное обследование 346 больных с ХОБЛ, находившихся на стационарном или амбулаторном лечении в терапевтическом отделении медицинского объединения «Канакер-Зейтун» г. Еревана за период 2010-2015 гг. Контрольную группу, сопоставимую с группой исследования по возрасту и полу, составили 75 практически здоровых лиц.

Биохимические исследования проводились в проблемной научной лаборатории биохимии Гематологического центра им. проф. Р.Еоляна M3 PA.

При обследовании использовали клинические, инструментальные (рентгеноскопия или рентгенография грудной клетки, электрокардиография, определение вентиляционной функции легких) и лабораторные методы исследования. Эти исследования проводились в начале, в конце лечения. Диагноз ХОБЛ ставился на основании анамнестических, клинических и параклинических данных, а также методом исключения сходной патологии. При постановке диагноза руководствовались МКБ 10 - Международной классификацией болезней 10-го пересмотра, J.44.

Распределение больных по полу, возрасту, давности заболевания и степени тяжести заболевания было проведено в каждой группе.

Среди обследованных больных было 206 мужчин и 140 женщин.

По возрасту больные делились на три группы: от 30 до 45 лет, от 45 до 60 лет и старше 60 лет. В первой возрастной группе было 38 (11%), во второй – 198 (57%), и в третьей – 110 больных (32%).

По давности заболевания больные распределялись следующим образом: длительность заболевания от 5 до 10 лет – 90 больных (26%), и свыше 10 лет – 256 больных (74%).

В зависимости от состояния бронхиальной проходимости (ОФВ₁ в % от должной величины), а также клинического состояния нами было рассмотрено три степени тяжести ХОБЛ: легкая, средняя и тяжелая. Из группы обследуемых были исключены больные с

крайнетяжелой степенью тяжести заболевания. Легкая степень тяжести была у 38% обследованных больных, у 43% - средняя и у 19% - тяжелая.

В зависимости от схемы лечения все больные были разделены на три группы:

- I группа больные, получавшие только традиционную медикаментозную терапию по стандартным схемам (МТ),
- II группа больные, которым в комплекс лечебных мероприятий включался и мембранный плазмаферез (ПА),
- III группа больные с включением в комплексное лечение иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса (ИМТ).

Больные по вышеупомянутым группам были распределены равномерно в зависимости от пола, возраста, давности заболевания, степени тяжести заболевания.

Больные I группы получали лишь медикаментозную терапию по стандартным схемам с применением традиционных лекарственных препаратов. В схему лечения входили: антибактериальная терапия, препараты, улучшающую дренажную функцию бронхов (муколитики, отхаркивающие, разжижающие мокроту препараты), бронходилятаторы, общеукрепляющие лекарственные средства.

Больным II группы в отделении гравитационной хирургии Гематологического центра МЗ РА на фоне стандартной медикаментозной терапии проводили сеансы лечебного ПА с соблюдением правил асептики и антисептики и мониторированием клинического состояния и гемодинамических показателей крови. У всех больных рассчитывался процент КОД до и после проводимого лечения. ПА проводили на аппарате «Гемофеникс». После венепункции и подключения инфузионного узла к венозному катетеру пациента начинался этап собственно ПА. Нормальный режим работы сопровождался постепенно нарастающим дефицитом возвращаемого объёма, который восполнялся периодическим порционным возмещением плазмазаменяющими растворами после удаления плазмы в объёме 100-300 мл (в зависимости от массы тела больного). Процесс восполнения удаляемого объёма плазмы сопровождался реставрацией как проходимости, так и фильтрационной способности плазмафильтра. что позволяло обеспечить получение за сеанс до 1 литра плазмы, среднеообъемный ПА, в течение 40 мин. В аппарате используется насос желудочкового типа и производительность его определяется ударным объёмом, составляющим 10 мл. Поэтому в течение каждой фазы забора крови требовалось добавление раствора натрия цитрата в соотношении 1:18 или 1:12 при использовании гепарина. При гиперкоагуляции дозу антикоагулянтов увеличивали, а при гипокоагуляции – уменьшали. В случаях с повышенной вязкостью крови (при гематокрите выше 45%) не было нужды увеличивать дозу натрия цитрата или гепарина, при этом забираемую кровь дополнительно разбавляли добавлением изотонического раствора натрия хлорида, создавая «экстракорпоральную гемодилюцию». Завершали процедуру возмещением удаляемой плазмы. ПА проводили от 1 до 3 сеансов на фоне базисной терапии. В зависимости от формы и степени активности заболевания, возраста, массы тела за один сеанс удалялось 600-1200 мл плазмы. Процедуры проводились с интервалом от 2 до 5 дней.

Больным III группы в комплекс лечебных мероприятий, наряду с традиционной медикаментозной терапией, включен иммуномодулирующий был противовирусным действием инозин пранобекс (гроприносин, изопринозин). представляет собой комплекс, содержащий инозин и N₁N-диметиламино-2-пропанол в молярном соотношении 1:3. Эффективность комплекса определяется присутствием инозина. второй компонент повышает его доступность для лимфоцитов. Под его воздействием происходит стимуляция биохимических процессов в макрофагах, увеличивается продукция интерлейкинов, повышается синтез антител, усиливается пролиферация Т-лимфоцитов, Т-

хелперов, естественных клеток-киллеров. Наблюдается стимуляция хемотоксической и фагоцитарной активности моноцитов, макрофагов и полиморфноядерных клеток. Инозин пранобекс подавляет репликацию ДНК и РНК вирусов посредством связывания с рибосомой клетки и изменения ее стереохимического строения. Препарат применяется как в лекарственных, так и в профилактических целях. Он назначается для борьбы с заболеваниями, вызванными вирусной атакой.

Препарат малотоксичен, хорошо переносится даже при длительном использовании. Может применяться у пациентов всех возрастных групп. Препарат быстро метаболизируется. Инозин подвергается метаболизму по циклу, типичному для пуриновых нуклеотидов, с образованием мочевой кислоты. Выводится почками. Полная элиминация препарата и его метаболитов из организма происходит в течение 48 часов. Препарат назначался по расчету 2 таблетки 3-4 раза в день на протяжении 14-20 дней. 1 таблетка содержала 500 мг инозин пранобекса.

Функциональные исследования включали спирографию, определение артериального давления. Спирография проводилась на аппарате «Спирограф-СМП- 21/01-Р-Д» ОООНПП «Монитор» (Россия, Ростов-на-Дону) до и после проводимого лечения. Определяли следующие показатели: ОФВ₁, ЖЕЛ, ОФВ₁/ЖЕЛ, МОС₂₅, МОС₅₀, МОС₇₅. Должные величины определялись по вычислительной системе спирографа в соответствии с возрастом, полом и антропометрическим данным, согласно международным стандартам.

Артериальное давление измерялось по методу Короткова.

В биохимической части исследований для сравнительной оценки показателей нами была обследована контрольная группа практически здоровых лиц, состоящая из 25 человек.

Общие липиды экстрагировали из ацетоновых порошков эритроцитарных мембран в течение 2-5 часов. Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществляли методом одномерной тонкослойной хроматографии в модификации Казаряна П.А. [Казарян П.А., 1982] на закрепленном слое силикагеля марки ЛС 5/40 мк. Для разделения ФЛ использовали систему растворителей хлороформ: метанол: вода (65:25:4 по объему). Время разгонки составляло в среднем 60 минут. После высушивания пластинки ФЛ обнаруживали парами йода. В отдельных случаях фракции идентифицировали с помощью свидетелей, а также по величинам Rf. Содержание липидного фосфора определяли по Светашеву [Светашев В.И., 1973], фотометрируя при 815 нм. Содержание ФЛ выражали в процентах от суммы.

Определение активности ПОЛ проводили общепринятым методом М. Mihara и других [Mihara M. et al, 1980] по выходу малонового диальдегида (МДА). В основе метода лежит реакция МДА с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), в ходе которой при 100°С и кислом значении рН (рН 5,9) образуется окрашенный комплекс, содержащий 1 молекулу МДА и 2 молекулы ТБК. 0,2 мл плазмы крови смешивали с 2 мл 1,4% ортофосфорной кислотой и 1 мл 0,5% ТБК. Смесь инкубировали в кипящей бане 45 мин, после чего охлаждали и добавляли 2 мл н-бутанола. Пробирки тщательно встряхивали и центрифугировали при 4000 g в течение 20 мин. Оптическую плотность измеряли при 535 нм. Содержание липидных перекисей рассчитывали с использованием коэффициента молярной экстинкции МДА и выражали в мкмолях МДА на 1 г ткани.

Определение активности фосфолипазы A_2 проводили в лимфоцитах крови. Лимфоциты выделяли по стандартной методике Innes [Innes J., Runtz M.M., Kim Y.T., Weksler M.E., 1979] в градиенте раствора фиколл-верографина (1 часть 32,8 % верографина и 2,4 части 8 % водного раствора фиколла — 400, d=1,076-1,077). Лимфоциты осаждали и суспендировали (10^5-10^6 клеток/мл) в минимальной основной среде Игла (рН-7,4). Активность фосфолипазы A_2 определяли спектрофотометрическим методом [Grassl M., Moellering H.,

1969] в модификации П.А.Казаряна. Для приготовления раствора ΦX 1 г ΦX растворяли в 10 мл метанола, добавляли 3 мг твина-20 и доводили бидистиллятом до 20 мл. В состав инкубационной смеси (рН 9,5) входили: 0,1 М раствор глицил-глицина, 1 М раствор MgCl₂, 1 % раствор CaCl₂, индикатор — крезол-красный. К 2,7 мл инкубационной смеси добавляли 0,1 мл раствора ΦX , 0,1 мл 1 % раствора трипсина и 0,05 мл супернатанта. Реакция проводилась при 25°C в течение 1 мин. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при длине волны 578 нм. Результаты выражали в условных единицах (поглощение при 578 нм х 100).

Активность Na^+ , K^+ -АTФазы определяли по разнице между общей и Mg^{2+} -АTФазной активностьми. Общую АTФазную активность определяли в среде, содержащей 3 мМ АTФ, 50 мМтрисHCl, 20 мМKCl, 100 мМNaCl и 5 мМ $MgCl_2$. В среду для определения Mg^{2+} -АTФазной активности, помимо названных веществ, добавляли 0,1 мМ уабаин. Реакцию начинали добавлением субстрата (ATФ), инкубировали 15 мин при 37°С и останавливали добавлением 5% раствора трихлоруксусной кислоты. Об ATФазной активности судили по накоплению неорганического фосфора в инкубационной среде. Оптическую плотность измеряли при длине 700 нм. Активность выражали в мкг неорганического фосфора на 1 мг белка. Содержание белка в пробах определяли по методу Bredford.

Определение активности экто-5'-нуклеотидазы проводили по методу Fioretti E. et. al. [1972] в инкубационной среде, содержащей 5мМ АМФ, 25мМ трисНСl, 100 мМ СаСl₂, 50 мМ MgCl₂. Реакцию начинали добавлением АМФ, останавливали — добавлением раствора 10% трихлоруксусной кислоты. Об активности судили по накоплению неорганического фосфора в инкубационной среде. Оптическую плотность измеряли при длине 700 нм.

Определение содержания иммуноглобулинов классов A, M и G проводили методом радиальной иммунодиффузии в агарозном геле по Mancini с использованием моноспецифических сывороток против IgA, IgM, IgG [Mancini G., 1965].

Для определения ЦИК использовали метод преципитации ЦИК 3,5%-ным раствором полиэтиленгликоля. После инкубации и центрифугирования выпавшие в осадок ЦИК растворяли в растворе NaOH и определяли их содержание на спектрофотометре при длине волны 280 нм, выражая количество ЦИК в единицах оптической плотности [Тагпака В., 2002].

Иммунофенотипирование больных проводили классическим методом проточной цитофлюориметрии. 100 мкл крови помещали в пробирки, добавляли по 10 мкл моноклональных антител. Образцы тщательно перемешивали и инкубировали в темноте при температуре 2-8°С в течение 30 мин. После инкубации эритроциты лизировали путем добавления 3 мл лизирующего раствора FACS Lysing Solution (BD, США). Затем образцы тщательно перемешивали и инкубировали в течение 10 мин в темноте. Клетки осаждали центрифугированием (2200 об./мин в течение 3 мин), надосадочную жидкость сливали, а осадок встряхивали. Добавляли фосфатно-солевой буфер PBS Cell Wash (BD, США), процедуру отмывки повторяли 2 раза. После этого к суспензии клеток добавляли 300 мкл 1 %-ного раствора параформальдегида.

Анализ популяций лимфоцитов проводили на 4-х цветном проточном цитометре FACS Calibur (Becton Dickinson). Для каждой пробы учитывали ≥ 50 тыс. клеток. По показателям прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеивания выделяли регион лимфоцитов. В пределах этого региона по маркерам CD3, CD4 и CD8 рассчитывали процент Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-регуляторов в общей популяции лимфоцитов. Двойная экспрессия CD4 и CD8 выявлялась гейтированием по CD45+ лимфоцитам. Далее анализировали количество регуляторных Т-лимфоцитов с фенотипом CD4+CD25+ в популяции Т-хелперов. Результаты выражали в процентном содержании клеток.

Выявление иммуноглобулинов классов М и G к капсидному антигену VCA вируса Эпштейна-Барр проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов «Векто ВЭБ-VCA-IgM» и «Векто ВЭБ-VCA-IgG» фирмы «Вектор-Бест» (РФ) в сыворотке крови.

При определении иммуноглобулинов класса M во время I инкубации происходило связывание специфических IgM к вирусу Эпштейна-Барр, содержащихся в образцах сыворотки крови, с иммобилизованными на поверхности лунок капсидным антигеном VCA вируса Энштейна-Барр. Во время II инкубации связавшиеся IgM вируса взаимодействовали в лунках с конъюгатом антител к IgM человека с пероксидазой хрена.

При определении VCA-IgG на первой стадии анализа исследуемые образцы инкубировали в лунках планшета с иммобилизованными антигенами вируса Эпштейна-Барр, вследствие чего антитела к вирусу связываются с антигенами. Не связавшийся материал удаляли отмывкой. Связавшиеся антитела выявлялись посредством инкубации с конъюгатом антител к IgG человека с пероксидазой хрена.

В обоих случаях количество связавшегося конъюгата определяли цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы — H_2O_2 и тетраметилбензидина. После добавления стоп-реагента измеряли оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм не позднее 5 мин после остановки реакции. Интенсивность окрашивания была пропорциональна концентрации в исследуемом образце антител к соответствующим капсидным антигенам вируса Эпштейн-Барр.

Статистический анализ клинических данных проводили с использованием SPSS 16 пакета программного обеспечения, и тест $\chi 2$ использовался для нечисловых переменных, а методы корреляции Пирсона для численных переменных. Различия между контрольными значениями считались статистически достоверными при P<0,05. О репрезентативности выработки свидетельствовала нормальность распределения, подтвержденная тестами Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилки. Результаты были представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M\pm\sigma$). Достовернность различий количественных показателей определялась с помощью t критерия достоверности Стьюдента. Обработка проводилась с использованием программы Excel 7.0 фирмы Microsoft.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Результаты исследований выявили, что почти у всех обледованных больных с ХОБЛ отмечалось повышение концентрации IgG вируса Эпштейна-Барр. Лишь у одного больного VCA-IgG ВЭБ был в пределах нормы. У другого больного, помимо повышения его концентрации, было обнаружено повышение концентрации VCA-IgM ВЭБ.

Проанализировав данные, полученные в результате исследований VCA-IgG ВЭБ при ХОБЛ, мы заключили, что заболевание сопровождается резким повышением концентрации VCA-IgG ВЭБ. Причем у больных с эмфиземой легких (ЭЛ) данный показатель подвергался более резким изменениям, чем при обструктивной астме (ОА) и хроническом обструктивном бронхите (ХОБ) Было также зарегистрировано, что концентрация VCA-IgG повышалась пропорциально степени тяжести ХОБЛ. Полученные данные возможно, являются следствием того, что ВЭБ паразитирует в клетках иммунной системы (В-лимфоцитах), лишая их возможности выполнять предназначенные функции. Подобное свойство вируса при определенных обстоятельствах вызывает в организме неуправляемые дегенеративные изменения

При рассмотрении эффективности проводимых методов терапии в зависимости от патологического процесса было выявлена интересная закономерность изменения данного показателя под воздействием разных схем лечения. Как плазмаферез, так и иммуномодулирующий препарат инозин пранобекс оказались более эффективными при всех исследованных состояниях ХОБЛ, по сравнению со стандартной медикаментозной терапией (рис.1).

Несмотря на то, что проводимые процедуры плазмафереза показывали больший эффект при ОА, применение иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса оказывало большую коррекцию при ХОБ. При ЭЛ результаты этих двух методов почти соизмеримы. Можно утверждать, что использование данных методов лечения нормализуют резкие отклонения концентрации VCA-IgG ВЭБ. На наш взгляд, эффект плазмафереза связан с механическим удалением антигенов и антител, повышая функциональная способность клеток. Более того, взамен удаленным клеткам из костного мозга поступают несенсибилизированные к тканям организма клетки.

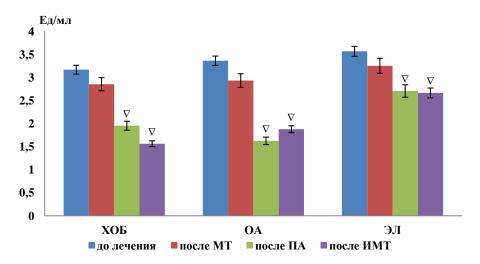


Рис.1 Изменение концентрации IgG-VCA при XOБЛ после применения различных методов терапии (в Ед/мл). P<0.05; без обозначений — данные статистически не достоверны. ∇ — сравнение данных после лечения с результатами до лечения.

При исследовании больных ХОБЛ в зависимости от степени тяжести заболевания были получены следующие данные: как при легкой, так и при средней степени тяжести концентрация VCA-IgG ВЭБ подверглась наибольшему изменению после применения иммуномодулирующей терапии и плазмафереза (рис. 2). Данный показатель почти не подвергся положительной динамике при применении медикаментозной терапии с использованием стандартных схем лечения. При тяжелой степени заболевания все методы лечения являлись малоэффективными. При применении плазмафереза и терапии инозин пранобексом наблюдалась небольшая положительная динамика, при использовании медикаментозной терапии динамики почти не наблюдалась.

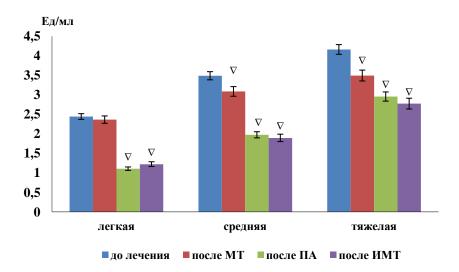


Рис. 2. Изменение уровня IgG-VCA при XOБЛ в зависимости от степени тяжести заболевания (в Eд/мл). Р<0.05; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения.

Клинические наблюдения показали, что проводимая терапия оказывает различное влияние на больных ХОБЛ в зависимости от активности патологического состояния и степени тяжести заболевания. Терапия с включением иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса оказывает выраженное действие на интенсивность кашля и характер мокроты. На фоне проводимого лечения наблюдалось уменьшение кашля и количества мокроты у больных с ХОБ. Положительная динамика чаще наблюдалась у больных с легкой и средней степенью тяжести заболевания. Цианоз также являлся одним из основных клинических симптомов ХОБЛ и наблюдался у 51% больных. После комплексной терапии с применением инозин пранобекса цианоз исчез у 90% леченных больных, также, как и при использовании плазмафереза. Однако при применении медикаментозной терапии цианоз не отмечался лишь у 76% больных.

По мере улучшения бронхиального дренажа с дальнейшим уменьшением количества мокроты уменьшалось количество хрипов в легких и значительно улучшалось состояние больных. При проведении параклинических исследований было выявлено, что до проводимого лечения почти у половины больных при аускультации выслушивались сухие рассеянные хрипы разного калибра, тогда как после применения комплексной терапии – лишь у 47 больных (13%).

При применении в комплексе терапии сеансов плазмафереза наблюдалось значительное улучшение клинического состояния у больных с ОА. У всех больных имело место уменьшение кашля, разжижение мокроты. В процессе лечения повышалась дренажная функция и уменьшалась бронхиальная обструкция. После отхождения мокроты состояние больных значительно улучшалось. Лишь у 3 больных, что составило

3% от всех больных, получавших курс лечения с применением плазмафереза, отмечалось ухудшение состояния, в связи с чем сеансы плазмафереза у них были отмены. Справедливо отметить, что у них диагностировалась тяжелая степень тяжести заболевания.

Сравнивая динамику улучшения клинических симптомов у пациентов данной группы с двумя другими группами больных, получавших нестандартную терапию, можно констатировать, что традиционная терапия оказалась менее эффективной. При применении как плазмафереза, так и иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса на фоне медикаментозной терапии ощутимые изменения клинических симптомов регистрировались на более ранних сроках лечения и были намного выраженнее.

Максимальный эффект при применении иммуномодулирующей терапии у больных ХОБЛ отмечался при легкой или средней степени тяжести заболевания. При рассмотрении эффективности иммуномодулирующей терапии в зависимости от патологического состояния в основном наблюдалось улучшение состояния — у 101 больных. Ухудшения состояния не отмечалось ни разу (рис. 3).

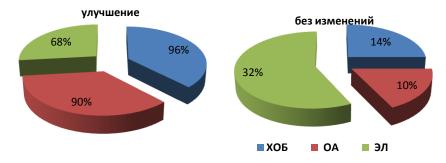


Рис. 3. Клиническая эффективность ИМТ при различных патологических состояниях XOБЛ.

При наблюдении за больными, получавшими сочетанную терапию с использованием плазмафереза, у 3 больных (11%) было установлено ухудшение состояния, причем все больные входили в группу с ЭЛ. Важно также отметить, что улучшение клинического состояния отмечалось у всех больных с ОА. Изменения не наблюдались лишь у 9 больных (8%). При этом оценка состояния больных в зависимости от тяжести заболевания показала, что у всех больных с легким течением заболевания наблюдалось улучшение состояния. У 3 больных с тяжелым течением заболевания отмечалось ухудшение клинического состояния (рис. 4).

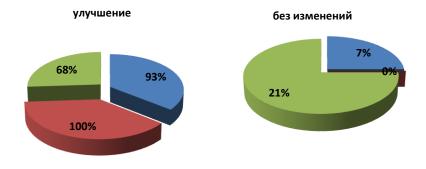




Рис. 4. Клиническая эффективность ПА при различных патологических состояниях XOБЛ.

Эффективность терапии группы больных, леченных по стандарным схемам, также была оценена. Почти у половины больных с ЭЛ результат оценивался как «без изменений». При этом терапия была малоэффективна у больных с тяжелой степенью заболевания (рис. 5).



Рис. 5. Клиническая эффективность терапии по стандартным схемам при различных патологических состояниях ХОБЛ.

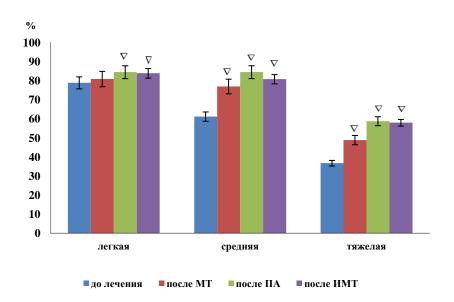


Рис. 6 Изменения ОФВ₁ при различных методах терапии в зависимости от степени тяжести ХОБЛ. P<0.05; без обозначений — данные статистически не достоверны. ∇ — сравнение данных после лечения с результатами до лечения.

Как известно, ведущее значение в диагностике ХОБЛ и объективной оценке степени тяжести заболевания имеет исследование вентиляционной функции легких (ВФЛ). Функциональные расстройства при ХОБЛ проявляются не только нарушением

бронхиальной проходимости, но и изменением структуры статических объемов, нарушением эластических свойств, диффузионной способности легких, снижением физической трудоспособности. Исследования показали, что при ХОБЛ происходит значительное снижение показателей ЖЕЛ и ${\rm O\Phi B_1}$, что свидетельствует о наличии различной степени нарушений бронхиальной проходимости.

После лечения более ощутимым изменениям подверглись больные ХОБЛ, которым в комплексе лечебных мероприятий было использован препарат инозин пранобекс. Значимы были также изменения показателей ВФЛ при лечении с использованием сеансов плазмафереза. Наименьшие изменения регистрировались у больных ХОБЛ, получавших медикаментозную терапию по стандартным схемам (рис.6).

Необходимо также отметить, что выраженные положительные функциональные сдвиги наблюдались у больных с нарушением ВФЛ легкой и средней степенью тяжести. При тяжелой степени заболевания отмечались нестойкие положительные сдвиги функциональных показателей, либо отсутствие таковых. Незначительные изменения у этих больных могли быть связаны с развитием у них необратимых процессов.

При многих хронических заболеваниях, в основе которых лежит персистенция вируса, колонизация клетки вирусом происходит в обход защитных иммунных реакций организма. Между тем феномен персистенции вирусов затрагивает различные звенья системы. C другой стороны. сегодня большинство рассматриваются как состояния, сопряженные с поражением прежде всего клеточных мембран, поскольку дестабилизация молекулярной ультраструктуры мембран при патологических процессах приводит к потере их функциональной компетентности, изменению жизнедеятельности клеток в целом и, в конечном итоге, к их гибели. Хорошо известно, что липиды клеточных мембран являются не только формой депонирования метаболического топлива и основным компонентом клеточных структур, но и системой биологических эффекторов, регуляторов и медиаторов, участвующих практически во всех физиологических процессах клетки.

В связи с вышеизложенным, на следующем этапе наших исследований мы попытались выявить общие закономерности и особенности изменения основных составляющих плазматической мембраны лимфоцитов при ХОБЛ, отягощенной персистенцией ВЭБ.

Согласно нашим данным, при всех вариантах ХОБЛ выявлено заметное статистически достоверное изменение процентного содержания основных классов фосфолипидов. Так, при ХОБ выявлено статистически достоверное повышение уровней лизофосфатидилхолинов (в 1,8 раз), сфингомиелинов (в 1,3 раза), фосфатидилсеринов (в 1,2 раза) и фосфатидилхолинов (в 1,7 раз) с одновременным заметным уменьшением доли фосфатидилхолинов (в 1,5 раз) и фосфатидолэтаноламинов (в 1,2 раза). ЭЛ характеризовалась существенно повышенным уровнем фосфатидных кислот (почти в 2 раза) и лизофосфатидилхолинов (в 2,2 раза). При этом увеличению содержания последних способствует отмечаемое при ЭЛ резкое понижение количества фосфатидилхолинов (почти в 2 раза), вероятно, вследствие активации фосфолипазы А₂. Повышенное же содержание лизофосфатидилхолинов, по-видимому, способствует активации макрофагов и Т-лимфоцитов, модуляции активности иммунной системы.

При ОА наиболее заметные изменения регистрировались во фракциях фосфоинозитидов (повышение в 1,2 раза), сфингимиелинов (повышение в 1,5 раз), фосфатидилэтаноламинов (снижение в 1,8 раз) и дифосфоглицеринов (в 1,8 раз). Надо

заметить, что одним из важных аспектов физиологической роли фосфоинозитидов является их участие в трансформации энергии в клетке. Поэтому накопление монофосфоинозитидов может быть косвенным свидетельством нарушения энергетического обмена в лимфоцитах при ОА. Заметное статистически достоверное увеличение доли дифосфатидилглицеринов при ОА на фоне уменьшения основных классов фосфолипидов, на наш взгляд, может отражать компенсаторные сдвиги, направленные на поддержание стабильности мембран за счет взаимодействия дифосфоглицеринов с белковыми компонентами.

Статистически достоверное повышение концентрации одного из ключевых метаболитов фосфатидогенеза — фосфатидной кислоты, отмечаемое при всех патологических состояниях ХОБЛ, свидетельствует о заметном нарушении структуры мембраны, обусловленном действием эндогенной фосфолипазы Д. Повышение процентного содержания сфингомиелинов, особенно выраженное при ХОБ и ОА, приводит к изменению текучести наружного слоя мембраны, утрате некоторых мембранно-ассоциированных поверхностных белков, приводя к нарушению деятельности определенных сигнальных путей в лимфоцитах.

Общеизвестно, что для нормального функционирования различных органов и систем организма важное значение имеет физиологически установившееся постоянство соотношений между отдельными представителями фосфолипидов. В связи с этим определенный интерес представляли не только изменения в содержании отдельных фосфилипидов, но и колебания в величине коэффициента отношения суммы нейтральных фосфолипидов (фосфатидилхолины + лизофосфатидилхолины + сфингомиелины + фосфатидилэтаноламины) к сумме кислых фосфолипидов (фосфоинозитиды + фосфатидилсерины + фосфатидные кислоты + дифосфатидилглицерины), отличающихся как структурными, так и функциональными особенностями. Установлено, при всех патологических состояниях наблюдается статистически достоверное понижение величины отношения нейтральных фосфолипидов к кислым фосфолипидам, что связано как с убылью фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламонов — основных мембранных фосфолипидов, так и нарастанием количества метаболически более активных дифосфоглицеринов, фосфатидных кислот и фосфоинозитидов.

При ОА также выявлялось заметное повышение (в 1,7 раз) отношения холинсодержащих фосфолипидов (лизофосфатидилхолины + фосфатидилхолины + сфингомиелины), дислоцирующихся в поверхностном слое мембраны, к аминсодержащим (фосфатидилэтаноламины + фосфатидилсерины), локализованным во внутренным слое, что свидетельствовало о повышении ригидности мембраны и, следовательно, о выраженном снижении функциональной активности лимфоцитов при данной патологии. Примечательно, что при ХОБ и ЭЛ отношение холинсодержащих фосфолипидов к аминсодержащим не подвергалось значительным изменениям и колебалось в пределах контрольных величин.

Обнаруженное при XOБЛ повышение отношений лизофосфатидилхолинов к фосфатидилхолинам и фосфатидных кислот к фосфатидилхолинам можно трактовать как активацию процессов деградации липидов в первом случае, и угнетение их биосинтеза – во втором. При этом изменения, происходящие у больных с ЭЛ, более выражены.

Как известно, определенную роль в развертывании патологического процесса в клетке играет изменение микровязкости ее мембраны. О состоянии последней можно судить по величине отношений фосфатидилэтаноламинов к фосфатидилхолинам и фосфатидилсеринов к фосфатидилхолинам. Благодаря ассиметричному расположению

фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов, а также фосфатидилсеринов в бислойной мембране, изменение их соотношения может существенно влиять на величину площадей липидных монослоев, играющих важную роль в обеспечении физических свойств клетки. Более того, регистрирующийся в таких случаях флип-флоп переход фосфатидилсеринов в наружный липидный бислой, в свою очередь, может инициировать активацию ${\rm Ca}^{2+}$ -зависимой внутриклеточной сигнальной системы. Так, если при ${\rm OA}$ коэффициент отношения фосфатидилэтаноламинов к фосфатидилхолинам имел тенденцию к снижению, то при ${\rm XOE}$ и, особенно при ${\rm ЭЛ}$ наблюдалось его повышение, свидетельствующее о повышении текучести лимфоцитарных мембран.

Использованные схемы лечения неоднозначно влияли на качественный и количественный состав фосфолипидов лимфоцитарных мембран. Изменения, происходящие у больных, которые в совокупности со стандартной медикаментозной терапией получали плазмаферез или лечение инозин пранобексом имели тенденцию к нормализации уровней почти всех основных классов фосфолипидов. В обеих группах установлено существенное увеличение фракции фосфатидилхолинов после лечения.

При этом резко снижалась концентрация лизофосфатидилхолинов, свидетельствовало о подавлении активности фосфолипазы А2 и активировании ацилтрансфераз, участвующих в их реацилировании до фосфатидилхолинов. Отмечалась почти полная нормализация уровней легкоокисляемых фосфатидилэтаноламинов. фосфатидилсеринов и фосфатидных кислот. При этом изменения были наиболее выражены у больных, получавших плазмаферез. Регистрирующийся несколько повышенный vровень фосфоинозитидов v паниентов. получавших иммуномодулирующую терапию. активировании на наш взглял. говорит системы. фосфоинозитилной сигнальной являющейся генератором вторичных мессенджеров, участвующих в трансдукции внеклеточных сигналов внутрь клетки. Необходимо отметить, что, несмотря на выраженный корригирующий иммуномодулирующего лечения и, особенно плазмафереза, на большинство фракций фосфолипидов, уровень дифосфоглицеринов после лечения оставался на несколько повышенном уровне.

После стандартной медикаментозной терапии количество основных фосфолипидов - фосфатидилхолинов, оставались ниже контрольных величин почти в 2 раза. Одновременно регистрировался повышенный уровень лизофосфатидилхолинов (превышают норму в 1,6 раз). Как известно, лизофосфатидилхолины в высоких концентрациях способствуют выбросу ряда провоспалительных факторов, усугубляя течение патологического процесса и приводя к развитию различного рода осложнений. Об этом же свидетельствует заметно повышенный уровень дифосфатидилглицеринов и фосфатидных способствуют vвеличению кислот, которые внутриклеточного кальция, влияя на физические характеристики клеток иммунной системы. Ослабление последних неизбежно приведет к снижению функциональной активности лимфоцитов, в результате чего создается возможность инфицирования организма различными патогенами.

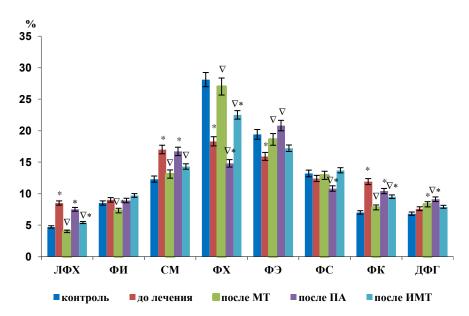


Рис 7. Фосфолипидный профиль мембран лимфоцитов при ХОБЛ после различных методов терапии (в % от суммы). Р<0.05; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * сравнение данных с контролем.

После предпринятой терапии отмечалась почти полная коэффициентов изученных фосфолипид-фосфолипидных соотношений в группе больных, получавших сеансы плазмафереза, указывая на восстановление физических и структурнометаболических характеристик лимфоцитарных мембран (табл. 1). Тенденция к нормализации наблюдалась и в группе больных, дополнительно получавших препарат инозин пранобекс. Необходимо констатировать, что применение лишь стандартной медикаментозной терапии при ХОБЛ приводило к еще большему расстройству фосфолипид-фосфолипидных отношений в мембранах лимфоцитов. При этом наибольшей степени подвергались изменению коэффициенты фосфатидилэтаноламины/фосфатидилхолины сфингомиелины/фосфатидилхолины, И которые превышали контрольные величины в 2 и 2,6 раз соответственно. Мы считаем, что это происходит за счет низкого процентного содержания ΦX , возможно, вследствие все еще активной фосфолипазы А2.

ФЛ	контроль n=25	до лечения n=225	после лечения		
			MT n=75	ПА n=75	ИМТ n=75
НФЛ/КФЛ	1,82±0,4	1,46±0,02 P ₁ <0.01	1,53±0,08 P ₁ <0.01 P ₂ >0.5	1,73±0,07 P ₁ >0.5 P ₂ <0.05	1,46±0,07 P ₁ <0.01 P ₂ >0.5
холинсод./ аминсод.	1,38±0,08	1,55±0,45 P ₁ <0.05	1,23±0,11 P ₁ <0.05 P ₂ <0.05	1,40±0,12 P ₁ >0.5 P ₂ >0.5	1,37±0,16 P ₁ >0.5 P ₂ >0.5
ЛФХ/ФХ	0,17±0,02	0,47±0,22 P ₁ <0.01	0,50±0,06 P ₁ <0.05 P ₂ <0.01	0,15±0,03 P ₁ >0.5 P ₂ >0.5	0,24±0,11 P ₁ >0.5 P ₂ >0.5
ФК/ФХ	0,25±0,03	0,65±0,10 P ₁ <0.01	0,70±0,05 P ₁ <0.01 P ₂ >0.5	0,29±0,05 P ₁ >0.5 P ₂ <0.01	0,42±0,08 P ₁ <0.05 P ₂ >0.5
ФЭ/ФХ	0,69±0,05	0,87±0,04 P ₁ <0.05	1,41±0,10 P ₁ <0.01 P ₂ <0.01	0,69±0,07 P ₁ >0.5 P ₂ <0.05	0,76±0,04 P ₁ <0.01 P ₂ >0.5
СМ/ФХ	0,44±0,04	0,93±0,08 P ₁ <0.01	1,13±0,14 P ₁ <0.01 P ₂ >0.5	0,49±0,09 P ₁ >0.5 P ₂ <0.05	0,64±0,11 P ₁ <0.05 P ₂ <0.05

 P_1 – сравнение данных с контролем. P_2 – сравнение данных после лечения с данными до лечения.

В регуляции состояния мембран клеток принимают участие процессы перекисного окисления липидов, фосфолипазного гидролиза, ферменты протеолитической системы. Изучение их активности может быть важным диагностическим критерием общего состояния организма, характеристикой адаптивных процессов при неблагоприятных воздействиях, компенсаторных возможностей организма.

Результаты исследований свидетельствовали о значительном повышении скорости перекисного окисления липидов во всех изученных нозологиях, причем наиболее выраженные изменения наблюдались при ЭЛ (рост активности почти в 2 раза). При ХОБ и ОА концентрация малонового диальдегида — конечного продукта перекисного окисления липидов, увеличивалась в 1.4 и 1.2 раза соответственно.

Как известно, усиление перекисного окисления липидов влечет за собой изменение мембранной проницаемости для ионов кальция, тем самым способствует активации фосфолипазы A_2 , приводя к удалению токсичных переокисленных жирнокислотных остатков фосфолипидов. В лимфоцитах с активацией фосфолипазы A_2 сопряжена передача сигнала с клеточной поверхности внутрь клетки. Следовательно, изучение активности фосфолипазы A_2 в лимфоцитах при ХОБЛ представляет существенный интерес с точки зрения выяснения ее патогенетического значения при различных вариантах ХОБЛ. Результаты сравнительного анализа показывают, что наиболее существенным являлось повышение активности фермента при ЭЛ. Увеличение активности фермента при ХОБ и ОА составляло 72 и 35 % соответственно.

После лечения пациентов с XOEЛ наблюдается снижение активности деструктивных процессов (рис.8). Закономерно, что наиболее отчетливые изменения прослеживались после плазмафереза и лечения инозин пранобексом. При использовании лишь медикаментозной терапии статистически достоверных изменений в активности фосфолипазы A_2 и перекисного окисления липидов не обнаружено.

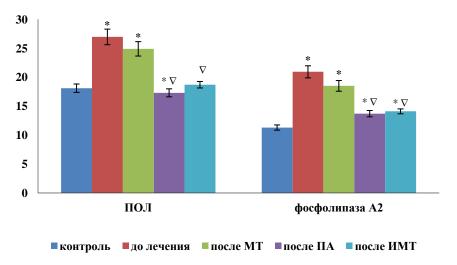


Рис. 8. Активность фосфолипазы A_2 (в у.е.) и ПОЛ (в мкмолях МДА на 1 г ткани) в лимфоцитах при ХОБЛ после различных схем лечения. Р<0.05; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Таким образом, можно констатировать, что применение как инозин пранобекса, так и плазмафереза приводит к нормализации метаболизма липидного компонента мембран лимфоцитов, влияя на физико-химическое состояние мембран и систем регуляций.

С учетом всей важности нормального функционирования мембраносвязанных ферментов в жизнедеятельности лимфоцитов наши дальнейшие исследования были посвящены изучению активности интегральных транспортных белков лимфоцитарных мембран, в частности общей, Мg- и Na/K-ATФазы, при ХОБЛ до и после различных вариантов терапии. Исследования показали, что ХОБ и ЭЛ характеризуются некоторым повышением активности АТФаз (табл. 2). При этом наиболее заметным изменениям подвергались общая и Na/K-ATФазная активности, особенно при ЭЛ (превышают контрольные величины в 1,5 и 2,3 раз соответственно). Интересно, что при ОА отмечается лишь незначительные колебания активности изученных АТФаз. Несомненно, что повышению активности исследуемых АТФаз способствует окислительная деструкция основных классов фосфатидов-глицеридов и накопление лизофосфатодилхолинов, имеющее место в наших исследованиях (рис. 7). Последнее чревато переходом липидного бислоя в монослой и активацией проницаемости мембраны для одновалентных катионов.

Таблица 2 Изменение активности мембранно-ассоциированных ферментов лимфоцитов при различных патологических состояниях ХОБЛ (в мкмолях Фн/г)

Ферменты	контроль n=25	ХОБ n=75	ЭЛ n=75	OA n=75
общая АТФаза	1,7±0,04	2,2±0,04 P<0.05	2,5±0,05 P<0.01	1,2±0,06 P<0.05
Mg-АТФаза	1,1±0,02	1,3±0,03 P<0.05	1,1±0,04 P>0.5	0,7±0,05 P<0.05
Na/K-АТФаза	0,6±0,04	0,9±0,04 P<0.05	1,4±0,02 P<0.01	0,5±0,02 P>0.5

Р – сравнение данных с контролем.

Таблица 3 Изменение активности мембранно-ассоциированных ферментов лимфоцитов при ХОБЛ после различных схем лечения (в мкмолях Фн /г)

Ферменты	контроль	до лечения	после лечения		
	n=25	n=225	MT	ПА	ИМТ
			n=75	n=75	n=75
общая АТФаза	1,7±0,04	2,0±0,03	2,3±0,04	1,8±0,08	1,9±0,08
		$P_1 < 0.05$	$P_1 < 0.01$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ <0.05	P ₂ <0.05	P ₂ >0.5
Mg-ATФаза	1,1±0,02	0,93±0,02	1,2±0,03	1,1±0,08	1,2±0,08
		$P_1 < 0.05$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ <0.05	$P_2 > 0.5$	P ₂ <0.05
Na/K-АТФаза	0,6±0,04	1,03±0,02	1,1±0,03	0,70±0,04	0,7±0,02
		$P_1 < 0.01$	P ₁ <0.01	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			$P_2 > 0.5$	P ₂ <0.05	P ₂ <0.05

 P_1 – сравнение данных с контролем. P_2 – сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Интересная картина развертывается на фоне терапии. Так, после стандартной медикаментозной терапии у больных с ХОБЛ регистрируется дальнейшее повышение активности общей, Мg- и особенно, Na/K-ATФазы (последняя превышает контрольные величины почти в 2 раза) (табл. 3). При плазмаферезе и применении инозин пранобекса отмечается тенденция к нормализации активности изученных ферментных систем, однако, данные несколько превышают норму. Мы полагаем, что это явление носит компенсаторно-адаптивный характер и направлено на поддержание трансмембранной асимметрии ионов после терапии, следовательно, на сохранение функциональной активности лимфоцитов при данной патологии.

При вирусных и бактериальных инфекциях могут индуцироваться все типы клеточных и гуморальных реакций, усиливающих воспаление. Между тем, как отмечено

выше, именно вирусная инфекция, развивающаяся на фоне местного иммунодефицита, играет одну из важных ролей в прогрессировании ХОБЛ. Более того, признаки хронического воспаления могут сохраниться даже после прекращения действия токсикантов-индукторов вследствие развития аутоиммунных процессов и персистирования вирусной инфекции.

Как известно, мембранные молекулы CD4 и CD8 являются корецепторами комплекса TCR-CD3 и рассматриваются как основные маркеры определения Т-хелперов Т-лимфоцитов соответственно. Сравнительное шитотоксичных иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов при различных патологических состояниях ХОБЛ позволило выявить ряд особенностей. Фактически, количество СD4+ хелперно-индукторными свойствами, облалающих достоверно уменьшалось при всех изученных патологических состояниях, наиболее отчетливо при ХОБ (в 2,5 раза) и ОА (в 2,2 раза). Уровень СD8+ клеток с цитотоксичными свойствами повышался при ЭЛ в 1,3 раза, при ОА в 1,5 раза и при ХОБ в 1,1 раз. При этом было обнаружено, что количество CD8+ клеток коррелирует с выраженностью ЭЛ. Взаимодействие цитотоксических Т-лимфоцитов с клеткамимишенями приводит к проникновению в мембраны последних перфоринов и цитолизинов, что способствует гибели клеток путем апоптоза, тем самым поддерживая постоянный воспалительный процесс при ХОБЛ.

Указанные субпопуляционные изменения Т-лимфоцитов закономерно приводили к существенной инверсии иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+. Отмечалось понижение отношения CD4+/CD8+ при всех изученных патологических состояниях (рис.9). Примечательно, что при ЭЛ и ОА значение иммунорегуляторного индекса изменялось преимущественно за счет увеличения содержания цитотоксичных лимфоцитов, а при ХОБ – в результате почти трехкратного повышения уровня Т-хелперов.

Интересная закономерность прослеживалась при исследовании процентного содержания СD25+-клеток, экспрессирующих а-цепь рецептора интерлейкина-2 и являющихся маркерами активации Т-хелперов. Эти клетки формируются в процессе нормальной дифференцировки в тимусе, а не под действием антигенной стимуляции, и являются естественными регуляторными клетками (nTreg). Согласно полученным данным, при ХОБ наблюдалось статистически достоверное повышение (в 1,5 раза) количества CD25+-клеток и снижение – при ЭЛ и ОА (в 1,4 и 1,8 раз). На наш взгляд, это указывает на различия в иммуногенезе изученных патологических состояний. Повышенная активность Т-регуляторных клеток приводит развитию иммунолефицитных состояний и хронизации воспаления, а их дефицит в организме играет патогенетическую роль при аллергии, способствует развитию аутоиммунной патологии.

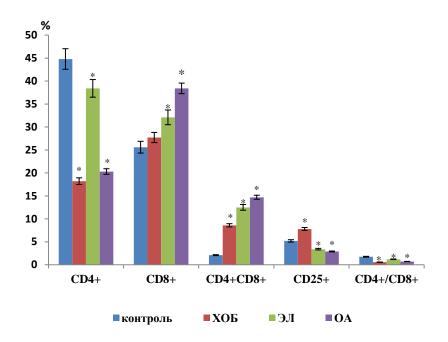


Рис. 9. Основные показатели состояния клеточного звена иммунитета при различных патологических состояниях ХОБЛ (в %). * - Р<0.05; без обозначений – данные статистически не достоверны. Р – сравнение данных с контролем.

Особый интерес представлет анализ популяции дубль-позитивных CD4+CD8+ клеток. CD4 и CD8 маркеры одновременно появляются на мембране лимфоцитов на стадии β-селекции в тимусе. Поэтому появление в крови CD4+CD8+ клеток указывает на выход незрелых лимфоцитов в кровь. Некоторые исследователи отмечают об увеличении количества дубль-позитивных CD4+CD8+ лимфоцитов при таких патологических состояниях, как вызванный ВЭБ мононуклеоз, ВИЧ-инфекция, хронический лимфолейкоз и другие. В наших исследованиях было обнаружено значительное повышение уровня дубль-позитивных CD4+CD8+ лимфоцитов во всех обследованных группах – в 4,1 раз при ХОБ, в 6 раз при ЭЛ, в 7 раз при ОА (рис. 9). Мы считаем это вполне закономерным, так как почти у всех обследованных пациентов с ХОБЛ обнаружен заметно высокий титр ВЭБ, персистирующего в лимфоцитах. Появление большого количества дубль-позитивных CD4+CD8+ лимфоцитов, возможно, обусловлено длительной антигенной стимуляцией и компенсаторной напряженностью иммунитета при персистировании вирусной инфекции.

Таким образом, несмотря на то, что повреждение мембран имеет единый патогенетический механизм, различные патологические состояния при ХОБЛ обнаруживают различный иммунопатогенез. При ХОБ преимущественно поражается Т-хелперное звено иммунитета, в то время, как ЭЛ и ОА протекают с преобладанием цитотоксических реакций. Одним из звеньев иммунопатогенеза при ХОБЛ может

являться функциональная недостаточность клеток иммунной системы, связанная с изменением экспрессии маркера активации Т-клеток – CD25, что приводит к нарушению проведения активационного сигнала, запускающего вторую фазу иммунного ответа. Снижение количества CD25+-клеток сопровождается увеличением дубль-позитивных CD4+CD8+ лимфоцитов, длительная персистенция которых в крови указывает на вирусную отягощенность и, по некоторым данным, может способствовать развитию аутоиммунной патологии.

С учетом различного иммуногенеза изученных патологий, а также с целью оценки эффективности каждого вида терапии при определенном иммунофенотипе ХОБЛ мы сочли целесообразным представить полученные результаты по-отдельности. Так применение лишь стандартной медикаментозной терапии при ХОБ не приводило к нормализации уровня обоих корецепторов, что, несомненно, отражалось на значении иммунорегуляторного индекса (рис. 10). После нее величина отношения CD4+/CD8+была меньше 1, что являлось свидетельством наличия иммунодефицитного состояния, даже после предпринятого лечения.

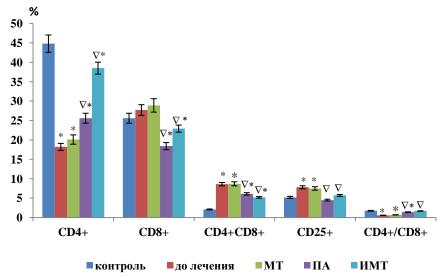


Рис.10 Основные показатели состояния клеточного звена иммунитета при ХОБ после различных схем лечения (в %). P<0.05; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

После плазмафереза, так же, как и после иммуномодулирующей терапии инозин пранобексом наблюдалась почти полная нормализация иммунорегуляторного индекса, но изменения были более выражены после применения иммуномодулятора. Применение плазмафереза и инозин пранобекса приводило к уменьшению содержания как CD25+-, так и CD4+CD8+ клеток. Мы считаем, что это является свидетельством снижения антигенной нагрузки у пациентов данных групп после лечения. Применение стандартной медикаментозной терапии, к сожалению, никаким образом не влияло на изученные

показатели, их количество оставалось на том же уровне, что и до проводимой медикаментозной терапии (рис. 10).

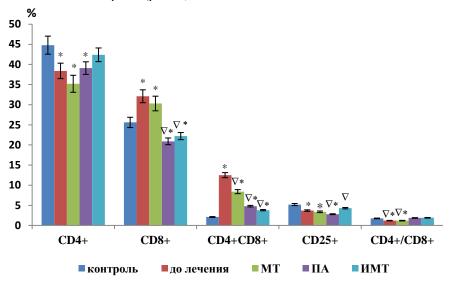


Рис. 11. Основные показатели состояния клеточного звена иммунитета при эмфиземе легких после различных схем лечения (в %). Р<0.05; без обозначений — данные статистически не достоверны. ∇ — сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Концентрация СD4+-клеток при ЭЛ статистически достоверным изменениям не подвергалась (рис. 11). Повышенное содержание CD8+-клеток снижалось, наиболее отчетливо - после плазмафереза и лечения инозин пранобексом, достигая 20,9±3,1 и 22,2±1,6 процентов соответственно. В результате наблюдаемых колебаний в содержании изученных корецепторов отмечалась полная нормализация иммунорегуляторного индекса применения плазмафереза и иммунокорригирующего лечения, медикаментозной терапии. Количество дубль-позитивных CD4+CD8+-клеток также достоверно снижалось, наиболее отчетливо у пациентов получавших сочетанную терапию. В первом случае мы связываем этот эффект с элиминацией их из кровяного русла с помощью плазмафереза, во втором - с модулирующим действием инозин пранобекса. Была обнаружена интересная закономерность в изменении количества поздних маркеров активации Т-хелперов - СD25+-клеток, у пациентов с ЭЛ после различных вариантов лечения. Так, если после применения иммуномодулирующего препарата их содержание приближалось к контрольным величинам, то после стандартной медикаментозной терапии и плазмафереза их концентрация продолжала снижаться. Принимая во внимание тот факт, что ЭЛ развивается и протекает по аутоиммунному механизму, можно предположить, что дальнейшее снижение концентрации CD25+ Tклеток может привести к прогрессированию заболевания. Имеются данные об обратной корреляции между активностью Т-регуляторных клеток и клиническими проявлениями некоторых аутоиммунных заболеваний.

Схожая картина наблюдалась после лечения пациентов с ОА (рис. 12). Как известно, иммунопатогенез ОА сложен: он протекает как по аутоиммунному, так и иммунодефицитному фенотипу, с вовлечением аллергических реакций. Количество CD4+-клеток с Т-хелперными функциями заметно было снижено до проводимой терапии и существенно поднималось лишь после проведения плазмафереза и терапии инозин пранобексом, составляя соответственно 73,4 и 89,5 процентов от контроля. Оба варианта терапии приводили к подавлению иммунного ответа за счет резкого снижения концентрации цитотоксических CD8+-лимфоцитов. Совершающиеся изменения приводили к нормализации отношения CD4+/CD8+, указывая на адекватность иммунного ответа.

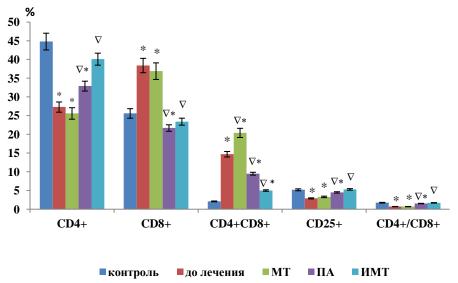


Рис. 12. Основные показатели состояния клеточного звена иммунитета при ОА после различных схем лечения (в %). P<0.05; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

После применения иммуномодулирующей терапии и плазмафереза наблюдалась тенденция к нормализации экспрессии дубль-позитивных CD4+CD8+-клеток, свидетельствуя о снижении антигенной нагрузки. С другой стороны, отмечалось постепенное нарастание количества CD25+-лимфоцитов, ответственных за активирование Т-хелперов. Имеются сведения о способности CD4+CD25+-клеток подавлять аллергические реакции. К сожалению, необходимо констатировать, что медикаментозная тепария по стандартным схемам при ОА не приводила к каким-либо улучшениям изученных показателей клеточного звена иммунитета, а по некоторым параметрам – к прогрессированию зарегистрированных отклонений.

Таким образом, включение в схемы лечения плазмафереза или препарата инозин пранобекса при XOБЛ способствует восстановлению нарушенного звена клеточного иммунитета.

Немаловажное значение в неспецифической защите организма от патогенов имеют факторы гуморального иммунитета — иммуноглобулины и циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК). Увеличение концентрации ЦИК способствует повреждению мембран и развитию иммунопатологического процесса в органах с одной стороны, и активации систем комплимента и свертывания крови, кининовой системы — с другой. При этом наибольшим повреждающим действием обладают свободные ЦИК в плазме

С учетом важного значения иммуноглобулинов и ЦИК в прогрессировании ХОБЛ и их роли в осуществлении гуморального иммунного ответа, нами было проведено исследование концентрации иммуноглобулинов классов A, M и G, а также уровня ЦИК при ХОБЛ и после применения различных схем лечения. Согласно полученным данным, при ХОБЛ отмечалось существенное возрастание уровня ЦИК в крови: в 2,2 раза при ХОБ, в 4,1 раз при ЭЛ и в 3,1 раз при ОА. Примечательно, что эти изменения преимущественно были обусловлены высокой концентрацией IgG, содержание которого при ХОБ повышалось почти в 2 раз, а при ЭЛ и ОА – в 2,7 и 2,6 раз соответственно (табл. 4-6).

Таблица 4 Изменение концентрации основных классов сывороточных иммуноглобулинов и ЦИК при ХОБ после различных схем лечения

Показатели	контроль	до лечения	после лечения		
	n=25	n=43	MT	ПА	ИМТ
			n=15	n=15	n=13
IgA (г/л)	2,34±0,4	3,14±0,5	3,21±0,7	2,17±0,2	2,09±0,1
_		P ₁ <0.05	P ₁ <0.05	P ₁ >0.5	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ <0.01	P ₂ <0.01
ІдМ(г/л)	1,62±0,2	1,25±0,3	1,28±0,6	1,36±0,4	1,56±0,2
_		$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ >0.5	P ₂ <0.05
IgG(г/л)	12,41±1,2	28,32±1,7	20,12±1,3	11,68±0,4	16,24±0,6
_		P ₁ <0.01	$P_1 < 0.01$	P ₁ >0.5	$P_1 > 0.5$
			P ₂ <0.05	P ₂ <0.01	P ₂ <0.05
ЦИК (у.е.)	118,74±5,8	255,61±7,6	212,33±6,2	129,72±4,3	135,50±5,1
		P ₁ <0.01	$P_1 < 0.01$	P ₁ >0.5	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ <0.01	P ₂ >0.05

 $[{]m P_1}$ – сравнение данных с контролем. ${
m P_2}$ - сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Таблица 5 Изменение концентрации основных классов сывороточных иммуноглобулинов и ЦИК при ЭЛ после различных схем лечения

Показатели	контроль	до лечения	после лечения		
	n=25	n=75	MT	ПА	ИМТ
			n=25	n=25	n=25
IgA (г/л)	2,34±0,4	1,67±0,4	1,72±0,5	1,85±0,5	2,11±0,4
			P ₁ <0.05	$P_1 < 0.05$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ >0.5	$P_2 > 0.5$
IgM(г/л)	1,62±0,2	1,98±0,2	1,84±0,3	1,59±0,3	1,71±0,2
		P ₁ <0.05	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ <0.05	P ₂ >0.5
IgG(г/л)	12,41±1,2	33,07±2,1	25,62±1,4	15,25±0,6	17,90±0,5
		P1<0.01	$P_1 < 0.01$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ <0.05	P ₂ <0.01	P ₂ <0.01
ЦИК (у.е.)	118,74±5,8	485,13±7,5	383,27±10,2	166,03±6,3	168,35±4,7
		P ₁ <0.01	$P_1 < 0.01$	$P_1 < 0.05$	P ₁ <0.05
			P ₂ >0.5	P ₂ <0.01	P ₂ <0.01

 P_1 – сравнение данных с контролем. P_2 - сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Таблица 6 Изменение концентрации основных классов сывороточных иммуноглобулинов и ЦИК при ОА после различных схем лечения

Показатели	контроль	до лечения	после лечения		
	n=25	n=75	MT	ПА	ИМТ
			n=25	n=25	n=25
IgA (г/л)	2,34±0,4	1,92±0,2	1,83±0,3	2,06±0,3	2,28±0,3
		P ₁ <0.05	P ₁ <0.05	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ >0.5	P ₂ >0.5
ІдМ(г/л)	1,62±0,2	1,14±0,2	1,20±0,2	1,34±0,4	1,70±0,2
		P ₁ <0.05	$P_1 < 0.05$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ >0.5	P ₂ <0.01
IgG(г/л)	12,41±1,2	31,73±1,8	27,04±1,1	13,72±0,4	15,44±0,7
		P ₁ <0.05	$P_1 < 0.05$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ <0.05	P ₂ <0.05
ЦИК (у.е.)	118,74±5,8	371,66±8,1	272,91±7,2	134,07±5,5	142,18±2,7
		$P_1 < 0.01$	$P_1 < 0.05$	$P_1 > 0.5$	$P_1 > 0.5$
			P ₂ >0.5	P ₂ <0.05	P ₂ <0.05

 $^{{\}bf P}_1$ – сравнение данных с контролем. ${\bf P}_2$ - сравнение данных после лечения с данными до лечения

Обнаруженные изменения, несомненно, обусловлены снижением активности являются отражением иммунитета И функциональной неполноценности фагоцитарной системы, обеспечивающей деградацию и элиминацию ЦИК из организма. При XOБ и ЭЛ концентрация IgM статистически достоверным изменениям не подвергалась. При ОА отмечалось достоверное снижение их уровня в 1.4 Возможно, в условиях общего угнетения функции В-звена иммунитета, наблюдающегося при персистировании вируса, плазматические клетки не отвечали на раздражение усилением выработки IgM. Концентрация IgA повышалась в 1,3 раза при ХОБ, а при ЭЛ и ОА снижалась - в 1,6 и 1,4 раза соответственно. Таким образом, наблюдаемые изменения свидетельствовали о функциональной неполноценности гуморального звена иммунитета, приводя к развитию и прогрессированию аутоиммунной и иммунопатологической реакции.

Как при ХОБ, так и при ЭЛ и ОА у больных, леченных с применением сеансов плазмафереза и препарата инозин пранобекса, наблюдалась существенная тенденция к нормализации основных классов иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов. На наш взгляд, в первом случае положительный эффект обусловлен механическим удалением ЦИК, токсинов, факторов воспаления с плазмой, а во втором — действием иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса, направленным на коррекцию интимных механизмов, лежащих в основе иммунопатогенеза ХОБЛ. Использование только базисной медикаментозной терапии не приводило к полной коррекции нарушенного звена гуморального иммунитета.

Как известно, нарушение деятельности экто-5'-нуклеотидазы или мембранного антигена CD73, являющейся одним из ключевых ферментов пуринового цикла, приводит к функциональной неполноценности клеток иммунной системы. В иммунной системе CD73 экспрессируется во всех клетках, однако она наиболее выражена в лимфоцитах. При этом активность фермента в Т-лимфоцитах намного ниже, чем в В-лимфоцитах. С другой стороны, экто-5'-нуклеотидаза является одним из маркерных ферментов плазматической мембраны, входя в состав липидных рафтов, участвующих в трансдукции сигналов. Ввиду важного значения экто-5'-нуклеотидазы в деятельности как иммунной системы, так и липидных рафтов мы сочли интересным проследить за изменением ее активности при ХОБЛ до и после различных схем лечения, а также сравнить ее активность с другими показателями клеточного и гуморального иммунитета.

Согласно полученным данным, активность экто-5'-нуклеотидазы в мембране лимфоцитов больных с ХОБЛ статистически достоверно снижалась, причем наиболее существенно при ОА. Так, при ХОБ активность фермента снижалась в 1,3 раза, при ЭЛ и ОА – в 1,7 и 2,4 раз соответственно (рис. 13). Как известно, экто-5'-нуклеотидаза является поверхностным белком мембраны и ее активность регулируется состоянием текучести наружного слоя мембраны, оценивающимся по величине отношения сфингомиелинов к фосфатидилхолинам. Как показали наши исследования, подавление активности фермента при ОА и ЭЛ было обусловлено повышенной ригидностью наружного слоя мембраны лимфоцитов. На наш взгляд, потеря экто-5'-нуклеотидазы с поверхности лимфоцитов привела к перестройке липидных рафтов, следовательно, к нарушению передачи дифференцировочных сигналов и к выбросу в кровоток клеток с недостаточной иммунной активностью.

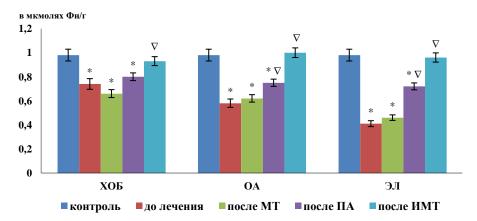


Рис. 13 Изменение активности экто-5'- нуклеотидазы/СD73 при ХОБЛ до и после лечения (в мкмолях Фн/г). Р <0.05; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Интересно отметить об обнаруженной обратной корреляционной связи между активностью экто-5'-нуклеотидазы и содержанием CD4+CD8+-клеток, наиболее сильной при ОА. Так, при ХОБ r=-0.27, при ЭЛ r=-0.33, а при ОА r=-0.63. Интересно, что при ХОБ наблюдалась прямая сильная зависимость между CD25+ и экто-5'-нуклеотидазы (r=0.55), тогда как при ОА и ЭЛ – слабая и обратная корреляционная связь (при ЭЛ r=-0.16, при ОА r=-0.26).

Так же, как и в случае других параметров, характеризующих состояние иммунитета, стандартная медикаментозная терапия не приводила к нормализации активности экто-5'-нуклеотидазы. Тенденция к нормализации отмечалась при использовании в комплексной терапии плазмафереза, и полная нормализация – препарата инозин пранобекса. Последнее вполне закономерно, так как данный препарат является синтетическим производным инозина, который в организме метаболизируется в пуриновом цикле.

Таким образом, анализируя вышеизложенное, можно заключить, что использование лишь стандартной медикаментозной терапии при лечении пациентов с ХОБЛ не эффективно. Почти у всех пациентов с ХОБЛ наблюдалось персистирование вируса Эпштейна-Барр (моно- или микст-инфекция) с нарушением деятельности клеток иммунной системы. Поэтому в схемы лечения таких пациентов предпочтительно включение препаратов с иммуномодулирующими свойствами.

Справедливо отметить, что в наших исследованиях нормализация некоторых биохимических и иммунологических показателей наблюдалась и после включения в комплексное лечение плазмафереза. Однако плазмаферез приводит лишь к механическому извлечению иммуноглобулинов, циркулирующих иммунных комплексов, токсинов и патогенов, не затрагивая интимных механизмов, лежащих в основе иммунных нарушений. Под действием инозин пранобекса наблюдается и коррекция нарушенных мембраноассоциированных процессов в лимфоцитах при ХОБЛ.

выволы

- 1. Хроническая обструктивная болезнь легких сопровождается существенным повышением концентрации VCA-IgG вируса Эпштейна-Барр. При этом изменение концентрации VCA-IgG вируса Эпштейна-Барр пропорционально степени тяжести заболевания и активности патологического процесса.
- 2. Комбинированное лечение ХОБЛ с применением как плазмафереза, так и иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса вызывает отчетливое снижение концентрации VCA-IgG вируса Эпштейна-Барр, особенно при легкой и средней степени тяжести заболевания.
- Сочетанные методы терапии дают ощутимое улучшение как клинических показателей, так и показателей вентиляционной функции легких легкой и средней степени тяжести.
- 4. Использование препарата инозин пранобекса и плазмафереза приводит к нормализации метаболизма липидных и белковых компонентов мембран лимфоцитов, влияя на физико-химическое состояние мембран и системы регуляции, следовательно, на сохранение их функциональной активности при ХОБЛ.
- 5. Различные патологические состояния хронический обструктивный бронхит, эмфизема легких и обструктивная астма, имеют разный иммунопатогенез, в связи с чем изменение показателей клеточного иммунитета носит разнонаправленный характер.
- 6. Стандартная медикаментозная терапия не приводит к каким-либо улучшениям показателей клеточного звена иммунитета, а по некоторым параметрам к прогрессированию зарегистрированных отклонений. Нормализация наиболее существенна после применения плазмафереза и, особенно, препарата инозин пранобекса.
- 7. Комплексное лечение с применением инозин пранобекса и плазмафереза сопровождается нормализацией показателей, характеризующих состояние гуморального звена иммунного ответа, а именно: количества иммуноглобулинов классов A, M, G и ЦИК, при ХОБЛ.
- 8. Экто-5'-нуклеотидаза мембран лимфоцитов больных ХОБЛ является интегральным показателем, отражающим функциональное состояние клеток иммунной системы при данной патологии. Ее активность при различных вариантах ХОБЛ статистически достоверно снижается, наиболее существенно при обструктивной астме. Полная нормализация активности фермента отмечается при использовании в комплексной терапии препарата инозин пранобекса.
- 9. Инозин пранобекс приводит к полной коррекции всех исследуемых показателей у ВЭБ-ассоциированных больных ХОБЛ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Совокупность полученных данных диктуют необходимость

- > Включения в алгоритм исследований больных ХОБЛ определение антител к вирусу Эпштейна-Барр для уточнения уровня хронизации.
- Определения иммунного статуса больного с ХОБЛ для улучшения диагностики заболевания.
- ▶ Определения активности экто-5'-нуклеотидазы/СD73 лимфоцитов для оценки функциональной зрелости клеток иммунной системы при ХОБЛ.

- **>** Включения в комплексное лечение больных ХОБЛ препарата с иммуномодулирующими свойствами, предпочтительно инозин пранобекса, с целью коррекции клеточного и гуморального звена иммунитета.
- У Использования комплексного лечения с применением инозин пранобекса с целью предупрежения прогрессирования заболевания, повышения клинического эффекта и укорочения сроков пребывания больных в стационаре.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

- 1. Симонян Л.Г. Иммунопатогенез вируса Эпштейна-Барр. // Журанл «Медицинская Наука Армении», Ереван, т. LI, №4, 2011, с. 24-30.
- 2. Симонян Л.Г. Спектр Эпштейна-Барр-ассоциированных заболеваний. // Журнал «Эфферентная и физико-химическая медицина», Москва, 2011, № 4, с. 14-18.
- 3. Симонян Л.Г. Роль вируса Эпштейна-Барр в патогенезе бронхолегочных заболеваний. //Научно-практический журнал «Кровь», Ереван, 2012, №1(13), стр. 19-23.
- 4. Симонян Л.Г., Дагбашян С.С., Симонян Л.Г. Влияние плазмафереза на вирус Эпштейна-Барр при хронических обструктивных болезнях легких. //Журнал «Эфферентная и физико-химическая медицина», Москва, 2012, №2, стр. 11-13.
- 5. Симонян Л.Г., Хачатрян Л.Х. Действие гроприносина на IgG вируса Эпштейна-Барр при хронических обструктивных болезнях легких. // Журнал «Медицинская наука Армении», Ереван, 2012, т. LII, № 4, с. 100-106.
- Симонян Л.Г. Влияние вирусной инфекции на развитие хронических обструктивных болезней легких. //Научно-практический журнал «Кровь», Ереван, 2012, № 2(14), с. 37-40
- 7. Симонян Л.Г. Роль вирусов в развитии бронхолегочных заболеваний. //Журнал «Пульмонология», Москва, 2013, №2, стр. 105-108.
- 8. Симонян Л.Г. Изменение состава липидов при развитии бронхолегочных заболеваний.// Журнал «Медицина, наука и образование», Ереван, 2013, №15, с. 87-89.
- 9. Симонян Л.Г., Дагбашян С.С., Назаретян Э.Е., Хачатрян Л.Х., Симонян Л.Г., Мартиросян Н.Г., Симонян М.Г. Изменение уровня IgG вируса Эпштейна-Барр при хронических обструктивных заболеваниях легких в зависимости от степени тяжести при применении противовирусного препарата. //Журнал «Медицинская наука Армении», Ереван, 2013, LIII, №3, с. 54-61.
- Симонян Л.Г. Система перекисного окисления липидов и ее участие в патологических процессах. // Научно-практический журнал «Кровь», Ереван, 2013, №1(15), с. 29-31.
- 11. Симонян Л.Г. Изменение уровня IgG вируса Эпштейна-Барр при использовании различных методов терапии при хронических обструктивных заболеваниях легких в зависимости от степени тяжести. //Журнал «Медицинские новости», Минск, 2013, № 6(225), с. 92-94.
- 12. Симонян Л.Г. Липиды и их роль в развитии легочных заболеваний. // Журнал «Медицинская наука Армении», Ереван, 2013, т. LIII, №4, с. 66-71.
- 13. Симонян Л.Г. Мембрано-патологические изменения при бронхолегочных заболеваниях. //Научно-практический журнал «Кровь», Ереван, 2014, №1(17), с. 44-48.
- 14. Симонян Л.Г., Дагбашян С.С., Симонян Л.Г., Мартиросян Н.Г., Хачатрян Л.Х. Оценка эффективности плазмафереза у больных с хроническими обструктивными болезнями легких по клиническим данным. //Журнал «Медицинская наука Армении», Ереван, 2015, т. LV, №3, с. 69-74.

- 15. Симонян Л.Г. Оценка эффективности противовирусной терапии у больных с хроническими обструктивными болезнями легких по клиническим показателям. // Научно-практический журнал «Кровь», Ереван, 2015, №1(19), с. 22-26.
- 16. Симонян Л.Г. Влияние мембранного плазмафереза на уровень IgG вируса Эпштейна-Барр при хронической обструктивной болезни легких. //Журнал «Медицинские новости», Минск, 2015, № 9(252), с. 61-62.
- 17. Симонян Л.Г., Дагбашян С.С., Пепанян А.А. Изменение фосфолипидного спектра мембран лимфоцитов при ХОБЛ до и после лечения. //VII Межд. научно-практ. конф. «Проблемы и перспективы современной науки», Москва, 2016, №7, часть 1, с. 121-126.
- 18. Симонян Л.Г., Дагбашян С.С., Пепанян А.А. Изменение активности перекисного окисления липидов и фосфолипазы А₂ в мембранах лимфоцитов при ХОБЛ до и после лечения. // X Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы науки XXI века», Москва, 2016, часть 1, с. 90-94.
- 19. Симонян Л.Г. Изменение клинических показателей в зависимости от проводимых терапий при хронических обструктивных болезнях легких. // The Fourteenth International Conference on Biology and Medical Sciences, 15th June, Vienna, Austria, 2017, p. 31-38.
- 20. Симонян Л.Г. Изменения показателей ВФЛ в зависимости от степени тяжести ХОБЛ после применения различных методов лечения. //European Conference in Technical and natural Sciences, 15th International scientific conference, 20th July, Vienna, Austria, 2017, p.51-56.
- 21. Daghbashyan S.S., Simonyan L.H., Martirosyan N.H, Simonayn L.H., Khachatryan L.Ch. Changes in the activity of membrane- associated tansport ATPases in lymphocytes in case of chronic obstructive pulmonary disease before and after treatment. // Journal "Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences, Bulgaria, Tome 70, 2017, p.1765-1770.
- 22. Симонян Л.Г., Хачатрян Л.Х. Влияние различных методов терапий на показатели ВФЛ при ХОБЛ. //European Journal of Technical and Natural Sciences, Vienna&Prague, № 5, 2017, стр. 63-66.

Միմոնյան Լիլիթ Հեկտորի

Էպշտեյն-Բարր վիրուսով ասոցացված թոքերի քրոնիկական օբստրուկտիվ հիվանդություն. ախտածագման և բուժման ժամանակակից ասպեկտները

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Թոքերի քրոնիկական օբստրիուկտիվ հիվանդությունը (ԹՔՕՀ) հիվանդացության և մահացության լուրջ պատձառներից մեկն է, ինչը թույլ է տալիս դիտարկել այն որպես ծանր սոցիալական և տնտեսական բեռ։ ԹՔՕՀ-ի արդիականությունը պայմանավորված է լուրջ բարդությունների զարգացման բարձր ռիսկով, ինչը կարող է հանգեցնել կյանքի որակի իջեցմանը։

ԹՔՕՀ-ի սրացման հաճախակի պատճառը վերին շնչուղիների վիրուսային կամ բակտերիային վարակն է։ Ընդ որում այդ գործում հատուկ տեղ է հատկացվում հերպես վիրուսների ակտիվացմանը։ Էպշտեյն-Բարր վիրուսը դրանցից ամենատարածվածներից է։ Բնակչության մինչեւ 95%-ը վարակված է այս վիրուսով։ Էպշտեյն-Բարր վիրուսը, ինչպես և այդ խմբի այլ վիրուսները, հարաճում է մարդու օրգանիզմում ողջ կյանքի ընթացքում։ Վիրուսն ունի լիմֆոտրոպ հատկություն, ինչը կարող է հանգեցնել իմունային համակարգի հիվանդությունների։

Հետազոտության նպատակն է ուսումնասիրել ԹՔՕՀ-ի ախտածագման և ընթացքի առանձին հարցեր Էպշտեյն-Բարր վիրուսով քրոնիկ վարակի ժամանակ, ինչպես նաև կլինիկական, ֆունկցիոնալ, կենսաքիմիական և իմունաբանական հետազոտությունների արդյունքների հիման վրա ընտրել բուժման առավել ռացիոնալ ռազմավարությունը։

Հետազոտվել է ԹՔՕՀ-ով 346 հիվանդներ, որոնք ըստ բուժման մեթոդի բաժանվել են 3 խմբի.

- 1-ին խմբի հիվանդները ստացել են ստանդարտ դեղորայքային թերապիա,
- 2-րդ խմբի հիվանդներին կատարվել է նաև պլազմաֆերեզ
- 3-րդ խմբի հիվանդներին դեղորայքային բուժման հետ մեկտեղ նշանակվել է ինոզին պրանոբեքս դեղամիջոցը։

Աշխատանքի մեջ տրված է իմունոմոդուլյատոր ինոզին պրանոբեքսի, պլազմաֆերեզի և ստանդարտ դեղորայքային թերապիայի բուժական էֆեկտի համեմատական գնահատականը։ Կլինիկական հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ինոզին պրանոբեքսը և պլազմաֆերեզը ունեն բազմագործոնային ազդեցություն ԹՔՕՀ-ով հիվանդների վրա։ Համալիր բուժում ստացած բոլոր հիվանդների մոտ նկատվում է բոլոր կլինիկական և լաբորատոր ցուցանիշների բարելավում։ Դրական դինամիկան առավել շատ էր արտահայտված իմունոմոդուլյատոր ինոզին պրանոբեքս ընդունելուց հետո։

Կլինիկական հետազոտությունների ցուցանիշները ԹՔՕՀ-ով հիվանդների մոտ թույլ են տալիս եզրակացնել, որ պլազմաֆերեզից և հատկապես ինոզին պրանոբեկսով բուժումից հետո նկատվում են կլինիկական ախտանիշների արտահայտված դրական փոփոխություններ բոլոր

հետազոտված հիվանդների մոտ։ Դրական փոփոխությունները առավել արտահայտված են հիվանդության թեթև և միջին ծանրության ժամանակ։

Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ գրեթե բոլոր հետազոտված հիվանդների մոտ առկա է Էպշտեյն-Բարր վիրուսի կապսիդային հակածնի հանդեպ հակամարմինների կոնցենտրացիայի աձ։

VCA IgG-ի կոնցենտրացիան ամել է համեմատական հիվանդության ծանրության աստիմանին։ Ընդ որում առավել արդյունավետ էին կոմպլեքսային բուժում ստացած հիվանդների արդյունքները։ Հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տվել, որ ԹՔՕՀ-ն ուղեկցվում է լիմֆոցիտների թաղանթների ֆոսֆոլիպիդների մակարդակի արտահայտված փոփոխություններով։ Ինչպես պլազմաֆերեզից, այնպես էլ ինոզին պրանոբեքսից հետո նկատվում է լիմֆոցիտների թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների քանակական և որակական բաղադրության արտահայտված նորմավորում։

Նաև հետազոտվել է թաղանթկախյալ ֆերմենտների՝ Mg²+- և Na/K+-ԱԵՖ-ազների և Էկտո-5'-նուկլեոտիդազի ակտիվությունը ԹՔՕՀ-ով հիվանդների մոտ տարբեր տեսակի բուժումներից հետո։ Հիմնվելով հետազոտությունների արդյունքների վրա՝ կարելի է եզրակացնել, որ լիմֆոցիտների թաղանթում տեղի է ունենում թաղանթկախյալ ֆերմենտների ակտիվության արտահայտված ընկձում։ Կոմպլեքսային թերապիայի օգտագործումից հետո նկատվում է հետազոտված ցուցանիշների նորմավորում։

Հետաքրքիր օրինաչափություն է դիտվում ԹՔՕՀ-ով հիվանդների մոտ CD4+ T-հելփերների, CD8+ ցիտոտոքսիկ, T-կարգավորիչ CD25+, իմունակարգավորիչ ցուցիչի՝ CD4+/CD8+, դուբլ դրական CD4+CD8+ բջիջների հետազոտման ժամանակ։

Քրոնիկական օբստրուկտիվ բրոնխիտի ժամանակ առավելապես ախտահարվում է իմունիտետի T-հելպերային օղակը։ Իսկ օբստրուկտիվ ասթմայի և թոքերի էմֆիզեմայի ժամանակ դիտվում է ցիտոտոքսիկ ռեակցիաների գերակշռում։

Կոմպլեքսային բուժումները կիրառելուց հետո նկատվում է իմունակարգավորիչ ցուցիչի, CD25+ և CD4+CD8+ բջիջների քանակի գրեթե լրիվ նորմավորում, ինչը խոսում է հակածնային բեռնվածության նվազման մասին։

ԹՔՕՀ-ով հիվանդների մոտ նկատվում էր նաև արյան մեջ շրջանառող իմուն կոմպլեքսների (ՇԻԿ) մակարդակի կտրուկ ա՜ձ, որը պայմանավորված է հիմնականում IgG-ի մակարդակի բարձրացումով։

IgA աձում է քրոնիկական օբստրուկտիվ բրոնխիտի ժամանակ, իսկ օբստրուկտիվ ասթմայի և թոքերի Էմֆիզեմայի ժամանակ նրա մակարդակը իջնում է։

Այս դեպքում էլ միայն դեղորայքային բուժումը չի բերում հումորալ իմունիտետի խանգարումների նորմավորմանը։ Իսկ պլազմաֆերեզի և հատկապես ինոզին պրանոբեքսի օգտագործումից հետո դիտվում է ցուցանիշների լիովին կարգավորում։

Հիմնվելով վերոնշյալի վրա՝ կարելի է եզրակացնել, որ ինոզին պրանոբեքսի կիրառումը կոմպլեքսային թերապիայի հանգեցնում է Էպշտեյն-Բարր վիրուսով ասոցիացված ԹՔՕՀ-ով հիվանդների առավել արդյունավետ բուժման։

Lilit Simonyan

Epstein-Barr virus-associated chronic obstructive pulmonary diseases: modern aspects of the pathogenesis and treatment

SUMMARY

Chronic obstructive pulmonary diseases (COPD) are one of the serious causes of morbidity and mortality, representing a high social and economic burden. Moreover, the actuality of COPD is determined by the higher risks of debilitating complications that may decrease the quality of life.

The frequent causes of the COPD exacerbation are the upper respiratory infections, among which an important role is devoted to the reactivation of herpesvirueses.

Epstein-Barr virus (EBV) is one of the most prevalent herpesvirus that affects 95% of earth population.

Similar to other herpesviruses it attaches to host's organisms and persists lifelong. Due to its lymphotropic properties, it may lead to immune alterations.

The aim of our research is to explore several problems associated with the role of chronic EBV infection in pathogenesis of COPD, as well as to select a more rational treatment strategy based on the results of clinical, functional, biochemical and immunological examinations.

We have investigated 346 patients with COPD, who were divided into three groups based on the treatment method:

- group 1 patient who received standard medical therapy,
- group 2 patients who underwent to plasmapheresis in addition to standard therapy,
- group 3 patients who received immunomodulatory inosine pranobex in addition to standard therapy.

The comparative effectiveness of immunomodulatory inosine pranobex, plasmapheresis and standard therapy are explored in the current work. Clinical studies showed that inosine pranobex and plasmapheresis have multifactorial effects on COPD treatment.

We have observed an improvement of clinical and laboratory markers in all patients receiving complex therapy, with a positive dynamic changes being more prominent after inosine pranobex implementation.

The results of clinical examinations in patients with COPD demonstrated a positive clinical dynamic shift of disease symptoms in almost every patient after plasmapheresis, and especially after inosine pranobex treatment.

The results of pulmonary function tests in patients with COPD also demonstrated a positive effect all parameters after using plasmaferesis. But the results after using inosine pranobex with standard therapy were more effective.

In almost every COPD patient, we have observed an increase in anti-EBV Viral Capsid Antigen IgG antibody (anti-VCA) levels that was correlating with the disease severity. Complex treatment implementation led to more effective outcomes.

Our data demonstrate that COPD is associated with the prominent changes of lymphocyte membrane phospholipids. We have observed the qualitative and quantitative improvement of lymphocyte membrane phospholipids after plasmapheresis, as well as after inosine pranobex treatment.

Also, the levels of Mg^{2+} and Na^+/K^+ ATP-ases were explored in COPD patients in different stages of disease severity.

Based on the results we can conclude that there is a decrease in lymphocyte membranedependent enzyme activities that may improve after complex therapy.

An interesting pattern was observed in the levels of CD4+ helper-, CD8+ cytotoxic- and CD25+ regulatory- T-cells, immunoregulatory CD4+/CD8+ index and double positive CD4+CD8+ T-cells in COPD.

Chronic obstructive bronchitis mainly affected the regulatory T cells, while obstructive asthma and emphysema were associated with increased cytotoxic T-cell reactions.

Complex treatment led to improvement of immunoregulatory index and almost completely normalized the CD25+ and CD4+CD8+ cell levels, which speaks about effective decrease of antigenic burden after complex therapy.

We observed increased levels of circulating immune complexes in patients with COPD that was mainly determined by raised IgG levels. An increase in IgA levels was observed in patients suffering from chronic obstructive bronchitis. In contrast, decreased IgA levels were detected in obstructive asthma and emphysema.

Although only standard treatment did not lead to any improvement in immunoglobulin levels, plasmapheresis and especially inosine pranobex led to total normalization of that parameter.

Based on the abovementioned, we can conclude that the inclusion of inosine pranobex in the complex therapy of Epstein-Barr virus-associated COPD may result in a more effective treatment.

