

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ МХИТАРА ГЕРАЦИ**

СИМОНЯН ЛИЛИТ ГЕКТОРОВНА

**“Вирус Эпштейн-Барр-ассоциированная хроническая
обструктивная болезнь легких: современные аспекты патогенеза
и лечения”**

по специальности: 14.00.03–“Внутренние болезни”

Диссертационная работа
на соискание ученой степени доктора медицинских наук

ЕРЕВАН 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	5-6
Введение	7-12
Глава 1 Обзор литературы	13-64
1.1 Современные представления о ХОБЛ	13-18
1.2 Этиологические факторы и их роль в патогенезе ХОБЛ	18-27
1.3 Влияние вирусной инфекции на развитии ХОБЛ	27-28
1.4 Общая характеристика герпесвирусной инфекции	29-31
1.5 Характеристика вируса Эпштейна-Барр	31-42
1.6 Вирус Эпштейна-Барр-ассоциированные заболевания	42-47
1.7 Современные представления о липидах в патогенезе ХОБЛ	47-54
1.8 Система перекисного окисления липидов и ее участие в патологических процессах	54-60
1.9 Участие фосфолипаз в повреждении клетки	60-64
Глава 2 Материал и методы исследования	65-89
2.1 Клиническая характеристика больных с ХОБЛ	65-67
2.2 Клинические и параклинические данные у больных ХОБЛ	67-76
2.3 Общая характеристика проводимых терапий	76-82
2.4 Метод определения активности перекисного окисления липидов	83
2.5 Метод определения активности фосфолипазы A ₂ в тканях и крови	83-84
2.6 Метод определения качественного и количественного состава фосфолипидов	84-85
2.7 Метод определения активности АТФаз	85-86
2.8 Метод определения активности экто-5'-нуклеотидазы	86-87
2.9 Методы исследования гуморального звена иммунитета	84-85
2.10 Определение иммунофенотипа Т-лимфоцитов методом проточной цитофлюориметрии	87-88

2.11 Выявление иммуноглобулинов классов М и G к капсидному антигену VCA вируса Эпштейна-Барр	88-89
Глава 3 Собственный материал	90-121
3.1 Определение уровня IgG вируса Эпштейна-Барр при ХОБЛ	90-94
3.2. Влияние различных методов терапий на уровень анти-VCA IgG при ХОБЛ	94-99
3.3 Изменение уровня анти-VCA IgG при ХОБЛ в зависимости от степени тяжести заболевания и после применения терапии	99-103
3.4 Изменения клинических данных у больных ХОБЛ после применения иммуномодулирующей терапии	103-108
3.5 Эффективность плазмафереза при ХОБЛ по клиническим данным	108-113
3.6 Особенности изменения ВФЛ при ХОБЛ на фоне проводимой терапии	114-121
Глава 4 Изменение структурно-функциональных характеристик мембран лимфоцитов при ХОБЛ до и после различных вариантов терапий	122-143
4.1 Изменение фосфолипидного спектра мембран лимфоцитов при ХОБЛ до и после лечения	123-133
4.2 Изменение активности перекисного окисления липидов и фосфолипазы A ₂ в мембранах лимфоцитов при ХОБЛ до и после лечения	133-139
4.3 Изменение активности мембранно-ассоциированных транспортных АТФаз в лимфоцитах при ХОБЛ до и после лечения	140-143
Глава 5 Изменение иммунного статуса пациентов с ХОБЛ до и после различных методов терапий	144-168
5.1 Изменение основных показателей клеточного иммунитета при ХОБЛ до и после лечения	145-154
5.2 Изменение основных показателей гуморального иммунитета при ХОБЛ до и после лечения	155-161
5.3 Изменение активности экто-5'-нуклеотидазы/CD73 при ХОБЛ до и после лечения	161-168

Заключение	169-192
Выводы	193-194
Практические рекомендации	195
Литература	196-221
Приложение	222-225

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМФ - аденозин монофосфат

БА - бронхиальная астма

ВПГ - вирус простого герпеса

ВГЧ - вирус герпеса человека

ВФЛ - вентиляционная функция легких

ВЭБ - вирус Эпштейна-Барр

ДФГ - дифосфатидилглицерин

ЖЕЛ - жизненная емкость легких

ЖК - жирные кислоты

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИЛ – интерлейкин

ИМТ – иммуномодулирующая терапия

КФЛ - кислые фосфолипиды

ЛФХ - лизофосфатидилхолины

МГ - моноглицериды

МДА - малоновый диальдегид

МТ - медикаментозная терапия

МСВ₇₅₋₂₅ - максимальная скорость выдоха на различных уровнях

МФИ - монофосфоинозитиды

НФЛ - нейтральные фосфолипиды

ОА – обструктивная астма

ОФВ₁ - объем форсированного выдоха за первую секунду

ПА - плазмаферез

ПГ - полиглицерид

ПГ - простагландин

ПОЛ - перекисное окисление липидов

СМ - сфингомиелины
ФГ - фосфатидилглицериды
ФЛ - фосфолипиды
ФЛА₂ - фосфолипаза А₂
ФЛД - фосфолипаза Д
ФХ - фосфатидилхолины
ФЭ - фосфатидилэтаноламины
ФК - фосфатидные кислоты
ФС - фосфатидилсерины
ФИ - фосфатидилинозиты
ФНО - фактор некроза опухоли
ФЖЕЛ - форсированная жизненная емкость
ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких
ХОБ - хронический обструктивный бронхит
ЦИК - циркулирующие иммунные комплексы
ЭЛ - эмфизема легких
ЭКГ - электрокардиография
э5'НТ - экто-5'-нуклеотидаза

ВВЕДЕНИЕ

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 [3, 14, 139]. По данным голландских исследователей, распространенность ХОБЛ резко возрастает с возрастом (3,6% в возрасте 40 лет, 24,1% - в 70 лет).

В результате исследования BOLD (*Burden of Obstructive Lung Disease*) с помощью стандартизированных вопросников и легочных функциональных тестов обеспечена уникальная возможность оценки распространенности ХОБЛ в популяциях взрослых людей старше 40 лет как в развитых, так и развивающихся странах. По данным исследования BOLD, распространенность ХОБЛ $\geq$ II стадии (GOLD) среди лиц старше 40 лет составила $10,1 \pm 4,8$ % (для мужчин – $11,8 \pm 7,9$ %, для женщин – $8,5 \pm 5,8$ %) [160].

В 1990–2000 гг. летальность от сердечно-сосудистых заболеваний и инсульта снизилась на 19,9 и 6,9 % соответственно, однако при ХОБЛ она возросла на 25,5 % [239]. Особенно выраженный рост летальности от ХОБЛ отмечался среди женщин. Эти сведения явились отражением все большего распространения среди женщин одного из важных факторов риска ХОБЛ – табакокурения, а также возросшей роли воздействия на женщин бытовых воздушных загрязнителей при приготовлении пищи и сгорании топлива.

По данным Национального института здоровья США, смертность от ХОБЛ не велика среди людей моложе 45 лет, однако в старших возрастных группах она 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 *P.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 [163].

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 %) [197].

ХОБЛ – собирательное понятие, которое объединяет группу хронических болезней дыхательной системы: хронический обструктивный бронхит (ХОБ), эмфизему легких (ЭЛ), бронхиальную астму (БА) тяжелого течения с обструкцией. В США и Великобритании данное понятие включают также муковисцидоз, облитерирующий бронхиолит и бронхоэктатическую болезнь. Весь комплекс механизмов воспаления ведет к формированию двух основных процессов, характерных для ХОБЛ: нарушению бронхиальной проходимости и развитию центрилобулярной, панлобулярной эмфиземы.

В настоящее время ХОБЛ рассматривают как *группу экологически зависимых болезней органов дыхания* [136, А.Г. Чучалин, 2001].

При ХОБЛ особое место занимает процессы свободнорадикального окисления, так как легкие представляют собой своеобразную биологическую “мембрану”, азрогематический барьер, который состоит преимущественно из фосфолипидов и липопротеидов [272]. С другой стороны, биологическим мембранам принадлежит ключевая роль в обеспечении и регуляции физиологической активности клеток [47]. В настоящее время в основе возникновения многих патологических процессов рассматривают состояния, сопряженные с поражением, прежде всего, клеточных мембран, поскольку при этом происходит дестабилизация структурно-функциональных свойств мембран, приводя к потере их функциональной компетентности, изменению жизнедеятельности клеток в целом и, в конечном счете, к их гибели [46]. Трансформация физиологических функций биомембран может быть вызвана изменением состава фосфолипидов, как основного компонента липидной фракции.

Усугубляет бронхиальную обструкцию и ведет к нарастанию всех признаков болезни обострение инфекционного процесса в респираторной системе. Имеются сведения о том, что респираторные инфекции запускают около половины случаев клинически значимых обострений ХОБЛ [266].

Примерно у 25% больных хроническим бронхитом — чаще у некурящих женщин и мужчин, хронический бронхит, а затем и ХОБЛ формируется как исход нелеченного острого затяжного и рецидивирующего бронхита. У таких больных в качестве первоначального этиологического фактора выступает вирусная и вирусно-бактериальная инфекция (вирусы гриппа, РС- и аденовирусы) которая формируют гиперреактивность бронхов, бронхоспастический синдром, способствуя хронизации воспаления в бронхах [139, 264, 277].

Одной из актуальных проблем современной медицины является высокая инфицированность населения одним из представителей оппортунистических возбудителей — вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ). По данным многочисленных исследований, ВЭБ является одним из самых распространенных из группы герпесвирусов [82, 86, 275].

До 90% человеческой популяции инфицировано ВЭБ, причем большинство инфицируется в раннем детстве, а к трем годам до 20-70% населения становятся его носителями [51, 91].

Вирус Эпштейн-Барр, или HHV-4, принадлежит к семейству гамма-герпес-вирусов и роду лимфокриптовирусов, содержит двухцепочную ДНК и обладает способностью, как и остальные вирусы этой группы, 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 первичной инфекции ВЭБ в

незначительном количестве сохраняется в организме хозяина в течение всей жизни. С инфицированными клетками ВЭБ распространяется по другим лимфоидным тканям и крови. В инфицированных вирусом клетках возможно два вида размножения: литический, то есть приводящий к гибели, лизису клетки-хозяина, и латентный, когда число вирусных копий небольшое и клетка не разрушается.

Важно отметить, что в 10–25% случаев первичное инфицирование ВЭБ, протекающее бессимптомно, и острая ВЭБ-инфекция могут иметь неблагоприятные последствия [118, 178, 180] с формированием лимфопролиферативных и онкологических заболеваний, синдрома хронической усталости, ВЭБ-ассоциированного гемофагоцитарного синдрома и др. [118, 180, 259].

Кроме того, ВЭБ может вызывать хронические манифестные и стертые формы заболевания, протекающие по типу хронического мононуклеоза. Описано множество клинических форм ВЭБ – опухолевых и неопухолевых, при которых вирус играет роль этиологического фактора [118, 209, 289, 294].

Недостаточно изучена роль вируса Эпштейна-Барр при ХОБЛ. Следует отметить, что в литературе малочислены данные, касающиеся исследований мембраны лимфоцитов при хронической обструктивной болезни легких, а также оценки эффективности различных методов терапии на вирус Эпштейн-Барр при данном заболевании.

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 М и G к вирусу Эпштейна-Барр у больных с ХОБЛ.
2. Изучить клиническую эффективность проводимой терапии в зависимости от степени тяжести и состояния вентиляционной функции легких.
3. Оценить влияние и характер воздействия комплексных методов терапии с использованием инозин пранобекса и плазмафереза на показатели клеточного и гуморального иммунитета при данной патологии.
4. Изучить действие плазмафереза и инозин пранобекса на структурные и метаболические характеристики мембран лимфоцитов.
5. Дать сравнительную характеристику всех биохимических и клинических показателей в зависимости от проводимого лечения.
6. Выявить взаимосвязь между концентрацией антител к вирусу Эпштейна-Барр и тяжестью заболевания, клинико-функциональными проявлениями, биохимическими и иммунологическими показателями при ХОБЛ.
7. 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. Установлены особенности иммунного реагирования у больных с данной патологией.

Установлена сопряженность хронизации вируса Эпштейна-Барр с развитием иммунологических нарушений.

Впервые установлена диагностическая значимость определения отдельных показателей клеточного и гуморального иммунной системы при хронической обструктивной болезни легких.

Впервые оценено структурно-функциональное состояние мембран лимфоцитов при различных вариантах терапии у больных с хронической обструктивной болезнью легких. Показана высокая эффективность препарата инозин пранобекса в комплексе с базисной медикаментозной терапией

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 хронической обструктивной болезнью легких после различных методов терапии.

Практическая значимость работы

Показано, что нарушения структурных и метаболических характеристик мембран лимфоцитов, а также клеточного и гуморального иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких в значительной степени влияют на течение и прогноз заболевания. Доказана целесообразность применения иммуномодулятора инозин пранобекса у больных ХОБЛ совместно с базисной терапией. Особенности инозин пранобекса позволяют применять его в клинической практике с целью иммунокоррекции и оказания стимулирующего воздействия в условиях хронического патологического процесса в легких.

Показана значимость Эпштейн-Барр вирусной инфекции при хронической обструктивной болезни легких.

Внедрение результатов исследования в практику

Научные положения, выводы и рекомендации работы используются в клинической практике терапевтического отделения медицинского объединения “Канакер-Зейтун”, а также включены в программы подготовки студентов на кафедре терапии ЕГМУ.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления о хронической обструктивной болезни легких

В XXI век человечество вошло с новой проблемой – резкое увеличение числа хронических заболеваний легких. В условиях ухудшающейся экологии, распространения табакокурения увеличивается не только распространенность этих заболеваний, но и летальность от них [261].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ХОБЛ занимает 3-ю позицию (4,8 %) в мире среди причин смерти [216]; ежегодно от ХОБЛ умирает примерно 2,8 млн. человек [205]. Хроническая обструктивная болезнь легких относится к числу наиболее распространенных заболеваний человека. Она наносит значительный экологический ущерб, связанный с временной или стойкой утратой трудоспособности самой активной части населения. Обострения ХОБЛ (периодическое усиление кашля, одышки и продукции мокроты) вносят серьезный вклад в снижение легочной функции, качества жизни, повышение потребности в неотложной помощи и госпитализации, а также стоимость лечения больных [109].

В России ХОБЛ занимает 1-е место по распространенности среди болезней органов дыхания, опережая при этом бронхиальную астму и пневмонию [81].

В системе легочных заболеваний ХОБЛ занимает 2-ое место по финансовым затратам после рака легких. Ежегодно отмечается неуклонный рост финансовых расходов, связанных с ХОБЛ. В России экономическое бремя ХОБЛ составляет 24,1 млрд руб. в год [139, 176].

По данным голландских исследователей, распространенность ХОБЛ резко возрастает с возрастом (3,6% в возрасте 40 лет и 24,1% в 70 лет).

По данным American Thoracic Society, с 1982 года число больных ХОБЛ к 1995 году возросло на 41,5% и составило 14 млн. человек, причем в 12,5 млн. случаев причиной был хронический обструктивный бронхит [143]. В настоящее время в США около 6% мужчин и 3% женщин болеют ХОБЛ, среди лиц старше 55 лет эта цифра достигает 10% [159, 296].

В США этот показатель для лиц в возрасте 65-74 лет составляет 13,6% у мужчин и 11,8% - у женщин [192].

По данным официальной статистической информации Минздрава России и Росстата, в 2014 г. в России (без учета Крымского федерального округа) показатель смертности населения (ПСН) от болезней органов дыхания (БОД) составил 54,5, в т. ч. от пневмоний – 27,2 на 100 тыс. населения. Самый высокий ПСН от пневмоний в 2014 г. был зарегистрирован в Дальневосточном федеральном округе (40,5 на 100 тыс.). В структуре смертности населения России по причине БОД в 2014 г. пневмония составляла 49,9 % всех случаев, хронические болезни нижних дыхательных путей – 43,2 %, в т. ч. хроническая обструктивная болезнь легких – 40,39 %, бронхиальная астма – 2,3 %. За 9 мес. В 2015 г. ПСН от БОД составил 52,9, от пневмоний – 24,6, от гриппа и острых респираторных заболеваний – 0,3 на 100 тыс. населения. С пневмонией связано 46,5 % смертей от БОД [22].

В связи с существовавшей многие годы терминологической неопределенностью назвать точные данные распространенности ХОБЛ затруднительно. Учитывая разночтения по вопросам определений диагностики и лечения ХОБЛ, в 90-х гг. стали создаваться национальные и международные стандарты по данной проблеме (Канада, 1992; США, 1995; Европейское Респираторное Общество, 1995; Россия, 1995; Великобритания, 1997). В этих документах подчеркивается, что пока нет надежных и точных эпидемиологических данных по ХОБЛ. Особенное неблагоприятие этой тенденции придают данные о поздней диагностике такого тяжелого заболевания, как ХОБЛ. European Respiratory Society (ERS) указывает, что лишь в 25 % случаев заболевание диагностируется своевременно.

Установлено, что распространенность ХОБЛ в мире среди мужчин и женщин во всех возрастных группах составляет соответственно 9,3 и 7,3 на 1000 населения [247].

Особенно велика отрицательная роль курения. По наблюдениям британских ученых (среди лиц 40-68-летнего возраста), выявлено патологическое снижение объема форсированного выдоха за первую секунду у 18% курящих мужчин и 14% курящих женщин, а среди некурящих – лишь у 7% и 6% соответственно [224].

Высоким был показатель смертности в Венгрии, Дании и Германии. И хотя смертность женщин от ХОБЛ значительно ниже таковой у мужчин, в США ожидается нарастание ее в будущем, так как женщины в этой стране, в отличие от мужчин, позже стали прекращать курить или же сокращать его интенсивность.

Сопоставление данных 1990 и 1999 гг. показало, что заболеваемость ХОБЛ среди женщин увеличилась больше, чем у мужчин – на 69% по сравнению с 25%. Эти сведения отражают меняющуюся тенденцию распространенности наиболее важного фактора риска ХОБЛ – табакокурения, а также возросшую роль воздействия на женщин бытовых воздушных загрязнителей при приготовлении пищи и сгорании топлива. В настоящее время в развивающихся странах ряд исследований выявил небольшое преобладание ХОБЛ среди женщин по сравнению с мужчинами [171, 185].

ХОБЛ является единственной из наиболее распространенных болезней, при которых смертность продолжает увеличиваться [251]. По данным Национального института здоровья США, смертность от ХОБЛ невелика среди людей моложе 45 лет, но в более старших возрастных группах она 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 около 11 млн. больных ХОБЛ. Однако, согласно официальной медицинской статистике, их число составляет около 1 млн. Это происходит потому, что заболевание диагностируется на поздних стадиях, когда самые современные лечебные программы не позволяют затормозить неуклонное прогрессирование болезни, являющееся основной причиной высокой смертности больных ХОБЛ.

В исследовании Global Burden of Disease Study (“Глобальный ущерб от болезни”) [193] для оценки основных причин смертности и нетрудоспособности применен

композитный показатель DALY (Disability Adjusted Life Years), определяемый как сумма лет, потерянных из-за преждевременной смертности, и прожитых в состоянии нетрудоспособности, стандартизированной по степени. В соответствии с прогностическими расчетными данными, к 2020 г. ХОБЛ будет занимать по этому показателю 5-ое место среди всех заболеваний в мире (в 1990 г. – 12-ое место) – после ИБС, депрессий, дорожных происшествий и цереброваскулярных заболеваний [6].

Исторический период научного познания болезней, которые рубрифицированы под названием ХОБЛ, охватывает более двух столетий. Общей чертой в изучении ХОБЛ стал дискуссионный характер в принятии каждого из положений этой патологии. Большую роль сыграл симпозиум, организованный фармакологической компанией Ciba (1959 г.), на котором впервые на международном уровне была сделана попытка унифицировать подходы к интерпритации обструктивных заболеваний органов дыхания [177].

Наиболее распространенными терминами, которые обсуждались в этот период, были “бронхит”, “эмфизема”, “хроническая пневмония”. В Западной Европе чаще пользовались термином “бронхит”, которого придерживались, в первую очередь, английские врачи [242].

В США предпочтение отдавалось термину “эмфизема”, в странах Восточной Европы и СССР доминировал термин “хроническая пневмония” (1964). Понятие “хроническая обструктивная болезнь легких” появилось со временем при сближении всех трех терминов, в последующем стал употребляться термин ХОБЛ (русская аббревиатура от английского COPD – chronic obstructive pulmonary disease).

В 70-80-ые годы XX столетия была накоплена новая научная информация о различных методах лечения и профилактики ХОБЛ. В 90-е годы Европейское респираторное общество опубликовало руководство по диагностике и лечению ХОБЛ. В России по инициативе Национального научного общества пульмонологов была создана рабочая группа для разработки федеральной программы по ХОБЛ. В федеральной программе “Хроническая обструктивная болезнь легких” (1999 г.) понятие ХОБЛ рассматривалось с двух позиций [6]. Во-первых, ХОБЛ трактовался как собирательное понятие, которое объединяло группу хронических болезней дыхательной системы, сопровождающихся бронхиальной

обструкцией. Во-вторых, ХОБЛ – заболевание, характеризующееся признаками медленно прогрессирующей необратимой бронхиальной обструкции с нарастающими явлениями хронической дыхательной недостаточности.

В сентябре 2000 г. на очередном конгрессе Европейского респираторного общества был обнародован проект документа под названием GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) – результат деятельности экспертов ВОЗ по проблеме ХОБЛ [6].

В программе GOLD (2001, 2003), основывавшейся на сообщении рабочей группы Национального Института сердца, легких и крови, и Всемирной организации здравоохранения, дано следующее определение ХОБЛ [202, 203]: ХОБЛ характеризуется ограничением воздушного потока, которое обратимо не полностью. Ограничение воздушного потока, как правило, имеет неуклонно прогрессирующий характер и вызвано патологической реакцией легких на воздействие различных вредоносных частиц и газов [200].

В дальнейшем в программе GOLD (2008) было дано следующее определение ХОБЛ: ХОБЛ – заболевание, которое можно предотвратить и лечить, характеризующееся существенными внелегочными проявлениями, способными дополнительно отягощать течение болезни у отдельных пациентов. Ее легочная составляющая характеризуется ограничением скорости воздушного потока, которое обратимо не полностью. Ограничение скорости воздушного потока обычно прогрессирует и связано с патологическим воспалительным ответом легких на действие ингалируемых патогенных частиц и газов [201], при этом заболевание поддается профилактике и лечению [204].

1.2 Этиологические факторы и их роль в патогенезе хронической обструктивной болезни легких

ХОБЛ – это первично хроническое воспалительное заболевание легких с преимущественным поражением дистальных отделов дыхательных путей и паренхимы, формированием эмфиземы, нарушением бронхиальной проходимости с развитием не

полностью обратимой или необратимой бронхиальной обструкции, вызванной патологической воспалительной реакцией.

В настоящее время хроническую обструктивную болезнь легких рассматривают как *группу экологически зависимых болезней органов дыхания* (А.Г. Чучалин, 2001) [136].

Среди прочих факторов риска на первом месте стоит табакокурение. Курильщики составляют 80-90% больных ХОБЛ. Как подчеркивает американское торакальное общество, появлению первых клинических симптомов у больных ХОБЛ обычно предшествует курение, по крайней мере, 20 сигарет в день на протяжении 20 и более лет. Воздействие табачного дыма и токсичных газов оказывает раздражающий эффект на ирритативные рецепторы блуждающего нерва, расположенные в эпителии бронхов, что приводит к активации холинергических механизмов вегетативной нервной системы, реализующихся бронхоспастическими реакциями. Наибольший вред наносят оксиданты, тяжелые металлы и канцерогенные вещества, содержащиеся в табачном дыме и смоле. У курильщиков – максимальные показатели смертности от ХОБЛ, у них быстрее развиваются необратимые обструктивные изменения функции дыхания, нарастают одышка и другие проявления болезни. Табачный дым содержит не только токсичные вещества, такие как формальдегид, бензопирен, винилхлорид, но и является «поставщиком» огромного количества свободных радикалов, запускающих процессы перекисного окисления липидов и ведущих к повреждению эпителия бронхов. «Пассивное курение» также оказывает отрицательное влияние на формирование ХОБЛ. В западных странах смертность от ХОБЛ в старших возрастных группах в начале века быстро возрастала, однако в настоящее время, благодаря реализации программ борьбы с курением, рост ее замедлился [289]. Между тем и среди некурящих нередки случаи возникновения и прогрессирования ХОБЛ. Лишь 10% случаев ХОБЛ исключительно связаны с другими факторами риска: профессиональная вредность, генетические факторы.

К факторам риска ХОБЛ относятся неблагоприятные условия профессиональной деятельности, социально-экономическое положение больных (бедность), погодные условия и климат (туман и повышенная влажность), инфекционные факторы.

Среди основных факторов риска профессиональной природы, значение которых установлено, наиболее вредоносной является пыль, содержащая кадмий и кремний [162, 263].

Факторами риска профессиональной природы также являются органические пыли (хлопковая, мучная, бумажная и др.), неорганические пыли (угольная, кварцевая, цементная и др.), длительное воздействие токсических паров и газов (аммиак, хлор, различные кислоты, сернистый ангидрид, фосген, пары и газы, образуемые при газо- и электросварке, др.). Неблагоприятно воздействуют высокая температура воздуха в горячих цехах, сквозняки, низкие температуры и другие особенности микроклимата на производстве. Профессии с повышенным риском развития ХОБЛ – шахтеры, строители, рабочие металлургической промышленности (горячая обработка металлов), железнодорожники, рабочие, занятые переработкой зерна, хлопка и производством бумаги [32].

Другими факторами риска ХОБЛ являются загрязнение воздушного бассейна отходами производства, продуктами сгорания различных видов топлива, выхлопными газами. Воздушные загрязнители можно разделить на две основные группы: 1) восстановители, представленные в основном углекислыми корпускулярными веществами и двуокисью серы, и 2) окислители, включающие углеводороды, окиси азота и загрязнители, вызывающие фотохимическую реакцию (озон, альдегиды, органические нитраты).

Загрязнение атмосферного воздуха и воздуха внутри помещения также имеет значение. Сырой и холодный климат неблагоприятен для больных ХОБЛ. Наблюдается сезонность обострений ХОБЛ — наибольшая частота их приходится на холодное и сырое время года, а наиболее высокая смертность от ХОБЛ отмечается зимой.

Описано появление респираторных симптомов, связанное с нарушением экологии жилища, повышением уровня диоксида азота и высокой влажностью в жилых помещениях. Использование некоторых видов топлива без адекватной вентиляции нередко ведет к загрязнению воздуха в жилых помещениях и формированию ХОБЛ [32].

Полагают, что в этиологии ХОБЛ может иметь значение инфекция, чаще смешанного генеза: вирусная (аденовирусы, респираторные вирусы), вирусно-микоплазменная, вирусно-

бактериальная. Большое значение в развитии ХОБЛ имеют хронические ЛОР-инфекции, частые ОРВИ и острые бронхиты (аденовирус, РС-вирусы, вирус гриппа, микоплазмы). Определенную роль играет и генетическая предрасположенность. Хорошо изучена генетическая патология, ведущая к развитию ХОБЛ, - дефицит α_1 -антитрипсина, вызывающий развитие эмфиземы, ХОБ и формирование бронхоэктазов [201, 266].

Легкие уникальны по своему строению и функциональным возможностям. Для обеспечения респираторной функции через легкие за сутки проходит 8000-20000 литров воздуха, содержащего различные поллютанты: механические частицы, химические соединения в виде газов, микроорганизмы. Респираторные повреждающие факторы контактируют с огромной поверхностью проводящих дыхательных путей – 60000 терминальных бронхиол, 500000 респираторных бронхиол и 80000000 альвеол, площадью 50-70 квадратных метров, что создает условия для повреждения бронхов и легких [104].

Как известно, для лиц, страдающих бронхиальной астмой (БА), характерны гипериммуноглобулинемия Е и бронхиальная гиперреактивность. Однако сочетание курения с бронхиальной гиперреактивностью и гипериммуноглобулинемией Е ускоряет формирование ХОБЛ [269].

Хроническому воспалению принадлежит главная роль в развитии ХОБЛ [148, 248, 286]. Сочетанное влияние факторов риска окружающей среды и генетической предрасположенности ведут к развитию хронического воспалительного процесса в проксимальных и дистальных отделах дыхательных путей. При преимущественном поражении мелких бронхов некоторые авторы выделяют самостоятельную нозологическую форму – “болезнь мелких бронхов” [134].

Одними из основных факторов в развитии ХОБЛ являются бактериальные и вирусные агенты. В течении ХОБЛ значение инфекционного фактора подтверждают многочисленные исследования. Продemonстрирована связь летальных исходов по причине ХОБЛ с его осложнениями. Острые респираторные инфекции и нозокомиальные пневмонии являются наиболее частой причиной смертности у пациентов с ХОБЛ. Госпитальная летальность среди больных, переносящих обострения ХОБЛ, достигает 10%, при этом прогноз у

госпитализированных по поводу тяжелого обострения является крайне неблагоприятным: в течение ближайших годов летальность может достигнуть 40%. Имеются сообщения о том, что бактериальные инфекции являются ведущими примерно в 70% случаев обострений ХОБЛ, вирусные инфекции провоцируют ХОБЛ в 30% случаев [120, 138].

Эпидемиологические исследования демонстрируют определенную связь развития ХОБЛ с социально-экономическим положением человека, его образованностью, что в значительной мере определяет возможность личности осознать известные факторы риска и иметь материальную и психологическую готовность избежать их патогенного действия [8].

Для эффективного и, что важно, длительного функционирования респираторная система обладает высокoeffективной системой защиты, при этом мукоцилиарный транспорт является самым важным звеном. В защите легких задействованы неиммунологические:

- кашель, чихание, легочная архитектура,
 - мукоцилиарный транспорт,
 - лизоцим, лактоферин, α_1 -антитрипсин, сурфактант,
- и иммунологические механизмы:
- неспецифические (гранулоциты, макрофаги),
 - специфические (Т- и В-клетки, иммуноглобулины).

Трахеобронхиальный секрет состоит из продукции слизистых и серозных клеток подслизистых желез, бокаловидных клеток и клеток Клара. Сурфактант альвеолоцитов, компоненты плазмы, местные секреторные белки, продукты деградации и распада собственных клеток и микроорганизмов также являются составляющими слизи. В дыхательных путях взрослого человека продуцируется от 10-15 до 100-150 мл бронхиального секрета. Мукоцилиарный клиренс обеспечивает санацию дыхательных путей. Он осуществляется с помощью цилиарных клеток, каждая из которых содержит около 200 ресничек, совершающих 230-260 колебательных движений в минуту. Скорость мукоцилиарного транспорта у здорового человека колеблется от 4 до 20 мм/мин, создавая минимальные временные условия (0,1с) для контакта эпителиальной клетки с

повреждающим фактором. Эвакуация слизи по спирали столь равномерна, что не раздражает кашлевые рецепторы, и слизь подсознательно заглатывается [104].

Нормальное функционирование мукоцилиарного транспорта зависит от скоординированности действия реснитчатого аппарата мерцательного эпителия, а также качественных и количественных характеристик бронхиального секрета.

Под влиянием факторов риска на первом этапе развития заболевания нарушается движение ресничек мерцательного эпителия, вплоть до полной их остановки. Развивается метаплазия эпителия с утратой клеток реснитчатого эпителия и увеличением числа бокаловидных клеток. Изменяется состав бронхиального секрета (увеличивается его вязкость и адгезия), что нарушает движение значительно поредевших ресничек. Происходит нарушение мукоцилиарного транспорта в бронхах, что способствует возникновению мукостаза, вызывающего блокаду мелких воздухоносных путей, и в дальнейшем создает оптимальные условия для колонизации микроорганизмов [278].

Главным следствием воздействия этиологических факторов (факторов риска) является развитие особого хронического воспаления, биомаркером которого являются нейтрофилы. Наряду с нейтрофилами в формировании и реализации воспаления принимают участие макрофаги и Т-лимфоциты [299].

Оно приводит не только к нарушению мукоцилиарного транспорта в бронхах, но параллельно с этим формируют оксидативный стресс, проявляющийся образованием большого количества свободных радикалов в воздухоносных путях [210, 267].

Главным источником свободных радикалов, биологически активных веществ и ферментов являются нейтрофилы циркулирующей крови, в большом количестве концентрирующиеся в легких под влиянием пусковых факторов. Нейтрофилы выделяют большое количество миелопероксидазы, нейтрофильной эластазы, металлопротеаз, которые, наряду с интерлейкинами (ИЛ) и фактором некроза опухоли, являются основными медиаторами воспаления при ХОБЛ. В условиях высокой концентрации нейтрофилов нарушается баланс в системе протеаз-антипротеаз [267].

Продукция ими протеаз и активных форм кислорода превышает потенциал факторов защиты макроорганизма. Данные факторы агрессии вызывают повреждение эпителия и стимулируют слизеобразование. В результате нарушается мукоцилиарный клиренс, инфицирование продолжается, воспалительный процесс становится хроническим [104].

Нейтрофильная эластаза индуцирует продукцию эпителиальными клетками ИЛ–8, способствуя увеличению количества нейтрофилов в слизистой оболочке. Кроме того, разрушение антител, компонентов и рецепторов комплемента нарушает процесс фагоцитоза. Острая фаза сопровождается образованием секреторных IgA–антител в бронхиальном содержимом, что ведет к снижению концентрации бактериальных агентов. Длительное воздействие факторов патогенности бактериальных агентов и лизосомальных гидролаз полиморфноядерных лейкоцитов вызывает разрушение соединительнотканной стромы легких, а в этих условиях скопление в слизистой и подслизистой оболочках бронхов макрофагов и Т–лимфоцитов способствует фиброгенезу [125].

У больных с хронической бактериальной колонизацией бронхов и рецидивирующими инфекциями отмечается постоянная секреция бактериальных экзопродуктов, на которую макроорганизм отвечает воспалительной реакцией с прогрессирующим ухудшением функции бронхиального эпителия и снижением продукции IgA и уровня фагоцитоза [69, 125].

Вследствие “оксидативного стресса” происходит истощение местных ингибиторов протеаз, что наряду с выделением большого количества протеаз нейтрофилами приводит к нарушению эластической стромы альвеол, вовлечению в патологический процесс легочной паренхимы и развитию эмфиземы. Выделяющийся из клеток, инфильтрирующих слизистую оболочку, большой комплекс противовоспалительных медиаторов скапливается в легочных капиллярах и перибронхиальной ткани и в значительной мере определяет все многообразие патологических изменений. Основными медиаторами воспаления при ХОБЛ являются ИЛ, фактор некроза опухолей (ФНО), миелопероксидазы, нейтрофильные эластазы, металлопротеазы, а в последнее время описывается роль дефензинов [273].

Изменение вязкоэластических свойств бронхиального секрета сопровождается существенными качественными изменениями его состава: снижается содержание неспецифических компонентов местного иммунитета, обладающих противовирусной и противомикробной активностью: интерферона, лактоферрина и лизоцима. Наряду с этим уменьшается содержание секреторного IgA. Нарушение мукоцилиарного клиренса и явления местного иммунодефицита создают оптимальные условия для колонизации микроорганизмов. Густая и вязкая бронхиальная слизь со сниженным бактериоцидным потенциалом – хорошая питательная среда для различных микроорганизмов (вирусов, грибов, бактерий). Это может быть следствием реактивации аутофлоры или суперинфекции пневмотропными микроорганизмами. Весь этот комплекс механизмов воспаления ведет к формированию двух основных процессов – нарушению бронхиальной проходимости и развитию центролобулярной эмфиземы [272].

Развитие эмфиземы приводит к редукции сосудистой сети в участках легочной ткани, не способных к газообмену, в результате чего возникают выраженные вентиляционно-перфузионные нарушения.

Нарушение бронхиальной проходимости у больных ХОБЛ формируется за счет обратимых процессов:

- спазма гладкой мускулатуры,
- отека слизистой оболочки,
- гиперсекреции слизи,

которые возникают под влиянием повышения тонуса блуждающего нерва и выделения большого спектра провоспалительных медиаторов – ИЛ-8, ФНО, нейтрофильных протеаз и свободных радикалов, а также за счет необратимых процессов:

- формирования коллапса мелких бронхов и бронхиол [249], который является важнейшей причиной необратимой бронхиальной обструкции,
- эмфиземы с изменением механики дыхания,

- перибронхиального фиброза, который является следствием хронического воспаления и влияет на формирование необратимого компонента меньше, чем эмфизема [1, 155].

Существенным звеном в патогенезе нарушения бронхиальной проходимости является активация холинергических механизмов вегетативной нервной системы, приводящая к усилению бронхоспастических реакций: тонус блуждающего нерва у больных ХОБЛ усиливается на ранних стадиях заболевания вследствие возбуждения ирритивных рецепторов эпителия бронхов. Раздражающий эффект на рецепторы оказывают воздействие табачного дыма, токсических газов. Поражение эпителия является инициальным звеном воспаления [132, 149].

Развитие эмфиземы приводит к редукции сосудистой сети в участках легочной ткани, не способных к газообмену. В результате этого кровоток перераспределяется в сохранившихся участках легочной ткани, возникают выраженные вентилиционно-перфузионные нарушения. Неравномерность вентилиционно-перфузионных отношений является одним из важных элементов патогенеза ХОБЛ. Перфузия плохо вентилируемых зон ведет к снижению артериальной оксигенации, избыточная вентиляция недостаточно перфузируемых зон приводит к росту вентиляции мертвого пространства и задержке выделения CO_2 [261]. Все это создает условия для повышения давления в бассейне легочной артерии. На этой стадии формируется легочная гипертензия с дальнейшим развитием легочного сердца [229, 292].

Патологические изменения, характерные для ХОБЛ, обнаруживаются в хрящевых (более 2 мм в диаметре) и дистальных бронхах (менее 2 мм) 9-17-й генерации и ацинусах, включающих респираторные бронхиолы, альвеолярные ходы, мешочки, альвеолярную стенку, а также в легочных артериолах, венулах и капиллярах. Определенное значение при развитии ХОБЛ имеет утомление дыхательной мускулатуры, что в свою очередь снижает работу дыхания и усугубляет вентилиационные нарушения [148].

Таким образом, ХОБЛ характеризуется развитием хронического воспалительного процесса дыхательных путей, легочной паренхимы и сосудов, при котором в различных

анатомических образованиях органов дыхания выявляется повышенное количество нейтрофилов, макрофагов и Т-лимфоцитов.

1.3 Влияние вирусной инфекции на развитие хронической обструктивной болезни легких

Вирусная инфекция усугубляет бронхиальную обструкцию и ведет к нарастанию всех признаков обострения инфекционного процесса в респираторной системе. В условиях мукостаза, местного, а иногда и системного иммунодефицита, колонизация микроорганизмов может принять неконтролируемый характер и перейти в качественно другую форму взаимоотношений [187].

Любая вирусная инфекция может осложниться обострением бактериального процесса. Персистенция вируса и/или внутриклеточного возбудителя на фоне повышенной чувствительности бронхиального дерева к инфекции вызывает хроническое воспаление, а реинфицирование вирусной и/или бактериальной этиологии способствует развитию острого воспаления на фоне хронического.

Для ХОБЛ характерно хроническое бактериальное и неспецифическое воспаление, которое сопровождается гиперплазией бокаловидных клеток, гипертрофией и гиперплазией желез подслизистого слоя с гиперсекрецией слизи [105].

Механическое и химическое раздражение слизистой оболочки дыхательных путей вызывает увеличение образования бронхиального секрета и ведет к изменению его вязкостных свойств. Токсическое воздействие на клетки и дискриния приводят к нарушению функции мерцательного эпителия, увеличивая недостаточность мукоцилиарного эскалатора. В этих условиях длительное воздействие токсических веществ ведет к дистрофии и разрушению реснитчатых клеток и образованию так называемых «пропешин» - участков слизистой, свободных от мерцательного эпителия. Точно такие же изменения в рельефе слизистой оболочки дыхательных путей вызывает действие респираторных вирусов.

Механизм защиты верхних дыхательных путей является несостоятельным, приводя к тому, что инфекционные агенты беспрепятственно преодолевают этот барьер и за счет своих адгезивных свойств фиксируются на слизистой оболочке, где начинается колонизация и развивается воспаление [125]. На этом этапе срабатывают местные иммунные факторы. Даже умеренная гипоксия приводит к незначительному повреждению легких, активации макрофагов и нейтрофилов [189]. Однако у больных с ХОБЛ уже присутствуют респираторные инфекции не только в стадии обострения, но и в стадии ремиссии.

Имеются сведения, что у большинства пациентов с данной патологией встречаются вирусные и микоплазменные ассоциации. Приблизительно в 50% случаев вирусные агенты обнаруживаются в дистальных отделах респираторного тракта. Вирусы вызывают деструкцию клеток и ресничек, нарушение активности мерцательного эпителия, снижение реологических свойств слизи, резкое снижение мукоцилиарного клиренса, что способствует проникновению вирусов в более глубокие слои слизистой оболочки респираторного тракта. Основным механизмом в развитии гиперреактивности бронхов при вирусной инфекции заключается в резком дисбалансе с преобладанием липооксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты. Иммуносупрессия, вызванная вирусами, способствует активации бактериальной флоры [125].

Длительное воздействие факторов патогенности бактериальных агентов и лизосомальных гидролаз полиморфноядерных лейкоцитов вызывает разрушение соединительнотканной стромы легких, а в этих условиях скопление в слизистой и подслизистой оболочках бронхов макрофагов и Т-лимфоцитов способствует фибриногенезу [125].

У больных с хронической бактериальной колонизацией бронхов и рецидивирующими инфекциями отмечается постоянная секреция бактериальных экзопродуктов, на которую макроорганизм отвечает воспалительной реакцией с прогрессирующим ухудшением функции бронхиального эпителия [69, 125].

Следует учитывать, что каждое обострение ХОБЛ способствует дальнейшему прогрессированию болезни.

1.4 Общая характеристика герпесвирусной инфекции

В последние годы вирусологи и клиницисты особое внимание проявляют к герпесвирусным инфекциям, точкой приложения которых, в частности, являются иммунокомпетентные клетки. Это связано с их значительной эпидемиологической ролью и социальной значимостью в современном мире ввиду широкого распространения, многообразия клинических проявлений, различных путей передачи [83, 119].

По данным ВОЗ, среди инфекционных патологий в будущем одно из первых мест будет занимать герпетическая инфекция [45]. По тем же данным, заболевания, вызываемые герпесвирусами, занимают 2-ое место (15,8%) после гриппа (35,8%) среди причин смерти от вирусных инфекций [76, 113, 131, 135].

Важно отметить, что в странах Европейского Союза заболеваемость герпесвирусными инфекциями рассматривают как показатель здоровья нации, учитывая, что на его величину влияют не только медицинские, но и географические, демографические, этнические и социально-экономические факторы.

Герпесвирусы имеют следующие особенности:

- тропность герпесвирусов к лимфоцитам [109],
- наличие у герпесвирусов рецепторов к экто- и эндодермальным тканям (кожа и слизистые оболочки) [12],
- длительная персистенция герпесвирусов в организме, увеличивающая риск развития атопии [38],
- характерная для герпесвирусов способность к митогенному действию, активация В-лимфоцитов, синтезирующих иммуноглобулины [274],
- цитотоксическое действие вирусов на клетки слизистой оболочки с нарушением ее целостности и увеличением проницаемости для различных аллергенов,
- блокада бета-рецепторов, приводящая к развитию бронхоспазма [18].

В настоящее время известно более 100 герпесвирусов, однако только 8 из них выделены от человека. К семейству герпесвирусов, выделяемых от человека, относятся:

1. вирус простого герпеса I типа (ВПГ1),
2. вирус простого герпеса II типа (ВПГ 2),
3. вирус варицелла зостер III типа (или вирус ветряной оспы – опоясывающего лишая),
4. вирус Эпштейна-Барр, официальное название которого “герпесвирус человека IV типа”,
5. цитомегаловирус человека или герпесвирус человека V типа,
6. вирус герпеса человека VI типа (ВГЧ 6),
7. вирус герпеса человека VII типа (ВГЧ 7),
8. вирус герпеса человека VIII типа (ВГЧ 8) [60].

На основании биологических особенностей представители семейства герпесвирусов разделены на 3 подсемейства: альфа, бета и гамма. К альфа-герпесвирусам относят вирус простого герпеса I типа, вирус простого герпеса II типа, вирус варицелла зостер III типа. К бета-герпесвирусам относят цитомегаловирус человека или герпесвирус человека V типа, вирус герпеса человека VI типа, вирус герпеса человека VII типа. Вирус Эпштейна-Барр и вирус герпеса человека VIII типа относят к гамме герпесвирусов [76].

Имеющиеся литературные данные [24, 33, 34, 39, 131] свидетельствуют о том, что при целом ряде патологических состояний в организме имеет место активация герпесвирусных инфекций. Попадая в кровоток, активные компоненты герпесвирусной инфекции вносят свой “вклад” в утяжеление болезни. При этом клинические проявления герпесвирусной инфекции обычно расцениваются как проявления основного заболевания (лимфаденопатия, гепатоспленомегалия и др.). Между тем активация герпесвирусной инфекции на фоне других инфекционных болезней не является простой суммацией двух инфекций, а, несомненно, имеет другой смысл. Стало аксиомой утверждение о том, что герпесвирусная инфекция активируется на фоне развития иммунодефицита, более того, является его маркером [25, 44, 113, 141]. Но такое утверждение справедливо только наполовину. Ведь активация герпесвирусной инфекции происходит не всегда, даже при развитии одной и той же патологии [39, 44].

Персистенция вируса и/или внутриклеточного возбудителя на фоне повышенной чувствительности бронхиального дерева к инфекции вызывает хроническое воспаление, а реинфицирование вирусной и/или бактериальной этиологии способствует развитию острого воспаления на фоне хронического. Действительно, при остром воспалении вирус, проникая в клетку, вызывает значительное угнетение метаболизма, приводящее к клеточной дистрофии и апоптозу [117].

Особую опасность представляет способность вирусов блокировать первичный неспецифический иммунный ответ фагоцитов и подавлять синтез интерферона, что приводит к углублению иммунодефицита: угнетению функции макрофагов и нейтрофилов, блокаде рецепторов фактора некроза опухоли, возникновению лимфоцитопении, нарушению механизмов клеточной дифференцировки в системе Т- и В-лимфоцитов [53, 61, 62]. Это во многом определяет возможность развития бактериальных осложнений, обострения хронических сопутствующих заболеваний органов дыхания, затяжного течения инфекции и персистенции респираторных вирусов [62, 63].

В последние годы наблюдается рост числа больных, страдающих хроническими рецидивирующими герпесвирусными инфекциями, которые во многих случаях сопровождаются выраженным нарушением общего самочувствия и целым рядом терапевтических жалоб. Наиболее широко распространены в клинической практике лабиальный герпес (чаще вызывается Herpes Simplex I), генитальный герпес (чаще вызывается Herpes simplex II) и опоясывающий лишай (Herpes zoster); в трансплантологии и гинекологии часто встречаются заболевания и синдромы, вызванные цитомегаловирусом (Cytomegalovirus). Однако о хронической инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр, и ее формах врачи общей практики осведомлены явно недостаточно.

1.5 Характеристика вируса Эпштейн-Барр

Одной из актуальных проблем современной медицины является высокая инфицированность населения одним из представителей оппортунистических возбудителей

— ВЭБ. По данным многочисленных исследований, ВЭБ является одним из самых распространенных из группы герпесвирусов [55, 82, 86, 115, 117, 253, 275].

До 90% человеческой популяции инфицировано ВЭБ, причем большинство инфицируется в раннем детстве, а к трем годам до 20-70% становятся его носителями [51, 91]. Выявлено, что возраст инфицирования зависит от социально-экономических условий, урбанизации, скученности населения и т.д. В развитых странах инфицированность детей наблюдается в более ранние сроки, распространенность инфекции выше, чем в развивающихся [83].

Значимость герпетических инфекций, по сравнению с другими инфекционными заболеваниями, в последние годы возрастает, что объясняется их широким распространением, эпидемиологической ролью и сложностью диагностики. Особенно это проявляется в связи с увеличением числа лиц с вторичным иммунодефицитом, при котором герпетические инфекции являются оппортунистическими [67].

В своей повседневной практике врачи чаще сталкиваются с клинически манифестными формами первичной ВЭБ-инфекции в виде острой, как правило, не верифицированной респираторной инфекцией (более 40% случаев) или инфекционным мононуклеозом (около 18% всех заболеваний) [207, 234].

В большинстве случаев эти заболевания протекают доброкачественно и заканчиваются выздоровлением, но с пожизненной персистенцией ВЭБ в организме переболевшего [198, 234, 252].

Актуальность проблемы обусловлена высокой степенью поражения населения во всем мире, легкостью заражения, часто латентным течением болезни и пожизненной персистенцией вируса [51, 91].

В большинстве случаев распространение вируса происходит при прямом контакте или через предметы обихода, гигиены, а также воздушно-капельным путем. Доказаны также оральный, генитальный трансфузионный, трансплантационный и трансплацентарный пути передачи инфекции [41, 119, 228].

Открытие вируса связано именно с исследованиями в области онкологии. В 1961 г. английский хирург Дэнис Прасон Беркитт, работавший в Уганде, Малави, Кении и Нигерии представил научный доклад, который свидетельствовал о том, что в некоторых странах Африки с жарким и влажным климатом у детей с частотой 8 случаев на 100 тыс. населения встречается особое онкологическое заболевание, получившее впоследствии название «лимфома Беркитта». Этот научный доклад заинтересовал вирусолога Майкла Эпштейна, который предложил Дэнису Беркитту сотрудничество. В 1964 г., благодаря научному гранту Национального института рака США на 45 тыс. долларов, появилась возможность произвести исследование образцов опухоли. К научной работе Эпштейн подключил свою аспирантку Ивонну Барр и специалиста по электронной микроскопии Джеффри Ачонга. ВЭБ был впервые выделен из клеток лимфомы Беркетта [70] в 1964 г. М.Эпштейном и И.Барр. В 1968 г. стало известно, что вирус может вызывать у человека острый моноклеоз и назофаренгиальную карциному. Первой была описана форма ВЭБ-инфекции под названием “идиопатическое воспаление лимфатических желез”. Это в 1884 г. сделал известный российский педиатр Н.Ф.Филатов. Немецкий педиатр Е.Пфейффер в 1889 г. описал вспышку инфекции, назвав ее лихорадкой Пфейффера. В 1920 г. заболевание получило название “инфекционный моноклеоз”, и только в 1971 г. на Международном съезде инфекционистов такое его название было окончательно утверждено.

HHV-4, или вирус Эпштейн – Барр, принадлежит к семейству герпес-вирусов, гамма-герпес-вирусов и роду лимфокриптовирuсов, содержит двухцепочечную молекулу ДНК и обладает способностью, как и другие вирусы этой группы, пожизненно персистировать в организме человека. Этот вирус является лимфотропным агентом, вызывающим болезни иммунной системы с развитием синдромов лимфопролиферации и иммунной недостаточности. Возбудитель обладает оппортунистическими и онкогенными свойствами. Наибольший тропизм вирус 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.

Различают два серотипа вируса – EBV-1 и EBV-2, которые также обозначаются как типы А и В. Хотя эти серотипы отличаются по характеру экспрессии генов во время латентной инфекции, клинические проявления реактивированных инфекций, вызванных этими разновидностями HHV-4, идентичны. Оба типа вируса одинаково широко распространены среди населения планеты, причем один человек может быть одновременно заражен двумя серотипами.

Геном вируса представлен двойной спиралью ДНК, в которой закодировано 30 полипептидов. Молекулярная масса равна 101×10^6 Да, капсид имеет форму икосаэдра [102]. Его средний размер составляет 200-250 нм. ДНК герпесвируса представлена двухнитевой линейной молекулой. Вирин построен таким образом, что икосэдральный капсид белковой природы окружает вирусную нуклеиновую кислоту, образуя вместе с ней структуру, получившую название нуклеокапсида. Капсид имеет 25 граней и состоит из 162 субединиц (так называемых капсомеров). Снаружи вирусная частица покрыта двуслойной мембраноподобной оболочкой, именуемой суперкапсидом или пеплосом (плащом) и состоящей из полиаминов, липидов и гликопротеиновых шипов. Последние выполняют роль рецепторного аппарата вируса. При этом между внешней мембраноподобной структурой и нуклеокапсидом располагается так называемая гелевая оболочка, имеющая белковую природу и получившая название тегумент [66].

По своим свойствам вирус мало отличается от других представителей семейства вирусов герпеса, однако его особенность заключается в том, что он способен вызывать не цитолиз, а размножение пораженных клеток В-лимфоцитов [128]. При этом вирус Эпштейна-Барр вызывает латентную инфекцию, при которой в некоторых клетках макроорганизма пожизненно персистирует геном вируса, тогда как инфекционный вирус образуется в редкие периоды реактивации [59].

Основными клетками-мишенями для ВЭБ являются В-лимфоциты, однако он может поражать эпителий ротоглотки, протоков слюнных желез, шейки матки, желудочно-кишечного тракта, эндотелий сосудов и иммунокомпетентные клетки – Т-лимфоциты (CD3), естественные киллерные клетки (NK-клетки, CD16), нейтрофилы, макрофаги [119].

Специфическое связывание вируса с мембраной клетки происходит посредством рецептора CD21, поэтому поражаются преимущественно В-клетки. Эти же рецепторы имеются на дендритных клетках лимфоидных фолликулов, цервикальном эпителии. Данный гликопротеин является еще и рецептором к С3с1-компоненту комплемента [223].

Присоединение к рецептору вируса Эпштейн-Барр вызывает экспрессию на мембране В-лимфоцитов особый антиген, распознаваемого CD8+ лимфоцитами как чужеродного. В результате В-клетки становятся мишенью для собственных Т-клеток. В крови определяется атипичный Т-лимфоцитоз, бласттрансформация В-клеток, выработка гетерофильных антител. Формируется сложный иммунодефицит с элементами аутоагрессии. Репликация вируса происходит следующим образом. Вначале вирус адсорбируется на поверхности клетки-мишени. На следующем этапе происходит освобождение вириона от оболочки капсида, после чего – ассоциация вирусной ДНК в ядро клетки хозяина. Далее активируется процесс формирования и созревания дочерних вирионов. Их оболочки, капсиды и ДНК формируются из аминокислот, белков, липопротеинов, нуклеотидов, находящихся в клетке.

ДНК вируса представлена в клетках преимущественно в кольцевидной форме и редко – в интегрированной. Репродукция вируса в клетках начинается с амплификации кольцевых молекул ДНК при помощи ВЭБ-специфической ДНК-полимеразы. В клетках, не продуцирующих вирус, ДНК вируса находится в структуре, подобной клеточному хроматину [102].

По отношению к В-лимфоцитам ВЭБ может вести себя двояко. В одном случае после заражения клетки трансформируются в бласты. В другом случае ВЭБ инфицирует В-лимфоциты без нарушения пролиферации с включением вирусной ДНК в виде плазмиды, передаваемой через ряд генераций этих клеток [102].

Инфицированные вирусом В-клетки приобретают способность к неограниченной пролиферации (иммортализация, “клеточное бессмертие”) и синтезируют большое количество гетерофильных антител (поликлональная активация). Инфицированные В-лимфоциты могут значительное время находиться в тонзиллярных криптах, что позволяет вирусу выделяться во внешнюю среду со слюной. С инфицированными клетками ВЭБ

распространяется по другим лимфоидным тканям и периферической крови. Созревание В-лимфоцитов в плазматические клетки (что происходит в норме при их встрече с соответствующим агентом, инфектом) стимулирует размножение вируса, а последующая гибель (апоптоз) этих клеток приводит к выделению вирусных частиц [199] в крипты и слюну. ВЭБ может длительно находиться в В-лимфоцитах и эпителиоцитах назофарингеальной области и слюнных желез. Геном ВЭБ обнаруживается и в Т-лимфоцитах, эти клетки способны к экспрессии ранних мембранных антигенов [102].

Как было сказано выше, ВЭБ способен инфицировать и другие клетки: Т-лимфоциты, НК-клетки, макрофаги, нейтрофилы, эпителиоциты сосудов. В ядре клетки-хозяина ДНК вирус формирует кольцевую структуру – эписому, либо встраивается в геном, вызывая хромосомные нарушения.

Установлено, что ВЭБ трансформирует как зрелые, так и незрелые В-клетки. В зараженных клетках вирус имеет четыре функции:

- индукция бласттрансформации,
- продолжительная пролиферация клеток,
- поддержание фонда вирусной ДНК в инфицированных клетках,
- регуляция экспрессии вирусных генов.

В процессе репликации вируса экспрессируется более 70 различных специфических белков, однако к настоящему времени выделены лишь 4 группы иммуногенных протеинов, определение антител к которым дает возможность дифференцировать стадию инфекции:

1. *Ранний антиген* (англ. – early antigen, EA), включающий белки p54 и p138 (первичная или острая фаза реактивированной инфекции).
2. *Вирусный капсидный антиген* (англ. – viral capsid antigen, VCA), в состав которого входят протеины p150, p18, p23 (первичная или реактивированная инфекция, причем определяется как в острой, так и в хронической фазе реактивации).
3. *Эпштейна-Барр ядерный антиген* (англ. – Epstein-Barr nuclear antigen, EBNA), включающий белок p72 (любая форма хронической инфекции или иммунная память после выздоровления).

4. *Латентный мембранный белок* (англ. – latent membrane protein, LMP), содержащий гликопротеин gp125 (скрытая или персистирующая инфекция).

Различают 3 типа латентности HHV-4, которые имеют различное клиническое значение:

- I тип латентности встречается у пациентов с лимфомой Беркитта и характеризуется экспрессией вирусных мРНК и микро РНК, так называемых Epstein-Barr early regions (EBERs) и Epstein-Barr nuclear antigen 1 (EBNA-1).
- II тип латентности, ассоциированный с назофарингеальной карциномой, связан с экспрессией 3 латентных мембранных белков: LMP-1, LMP-2A, LMP-2B, а также EBERs и EBNA-1, BARTs.
- III тип латентности, который встречается у здоровых людей: наряду с молекулами EBERs и EBNA-1 экспрессируются антигены EBNA-2, EBNA-3A, EBNA-3B, EBNA-3C и LMP.

Антигены вируса, синтезирующиеся в процессе его репродукции, формируются в разное время и имеют различное биологическое значение. Это мембранные и ядерные антигены. Указанные антигены практически всегда определяются в клетках, инфицированных ВЭБ. Ядерные антигены обладают высоким сродством к ДНК и, вероятно, выполняют различные регуляторные функции. В процессе митотического деления они не отделяются от хромосом. В настоящее время известно 6 ядерных антигенов. Причем Эпштейна-Барр ядерный антиген-2 существует в двух видах – Эпштейна-Барр ядерный антиген 2А (EBNA-2A) и Эпштейна-Барр ядерный антиген 2В (EBNA-2B). Возможно комплекс антигенов EBNA-1, EBNA-2A и EBNA-2B играет ведущую роль в immortalization В-лимфоцитов. Группа пептидов создают комплекс EBNA-3A, EBNA-3B, EBNA-3C – 28-62 кДа, EBNA-LP. Функция последних двух антигенов неизвестна. ДНК ВЭБ имеет специфические участки связывания с ядерными антигенами. Предполагают, что ядерные антигены (EBNA), связываясь с геном вируса, защищают большие episomal копии генома вируса от деградации в клетке [214, 232].

Репликативная форма ВЭБ содержит в линейном геноме 100 генов. Реплицируясь, вирус разрушает эпителий и затем инфицирует новые клетки. Второй и, пожалуй, главный

путь развития инфекции состоит во взаимодействии белка ВЭБ gp350 со специфическим рецептором CD21 (рецептор для C3b-компонента комплемента) на поверхности В-лимфоцитов. Роль корецептора выполняют молекулы HLA класса II. В латентный период инфекции в В-лимфоцитах линейный геном вируса превращается в кольцевой, содержащий 10 генов. Экспрессируется всего 6 ядерных и 2 мембранных белков. Всего в крови содержится 1-50 таких клеток на 10^6 CD21+-лимфоцитов. Решающую роль в этом случае играет иммунная система, осуществляющая лизис инфицированных клеток цитотоксическими лимфоцитами и естественными клетками-киллерами (NK-клетки). В части В-лимфоцитов экспрессия одного из генов, контролирующих синтез мембранного белка, подавляется ядерным белком (EBNA-1), такие клетки становятся недоступными для лизиса CD8+-лимфоцитами и NK-клетками. В случае снятия супрессирующего влияния EBNA-1 происходит реактивация В-лимфоцитов с последующей экспрессией обоих мембранных белков, что снова делает их доступными для лизиса цитотоксическими лимфоцитами.

Описаны три возможных модели экспрессии белков ВЭБ при латентной инфекции. При первом типе, характерном для лимфомы Беркитта, экспрессируется только РНК, ранний фрагмент и ядерный антиген-1 вируса. При втором типе, характерном для назофарингиальной карциномы, кроме выработки раннего фрагмента и ядерного антигена-1, экспрессируются три мембранных белка – LMP1, LMP2A, LMP2B. Третий тип характерен для здорового носительства ВЭБ – в дополнение к раннему фрагменту и ядерному антигену 1 выявляются другие ядерные антигены: EBNA 2, EBNA 3A, EBNA 3B, EBNA 3C и LMP.

В начале продуктивного цикла инфекции выявляется комплекс ранних антигенов (EA: D или R), локализующихся в ядре и цитоплазме инфицированных клеток. Различают диффузный компонент, определяемый в ядре, и гранулярный компонент, который выявляется в цитоплазме клетки. Комплекс ранних антигенов выявляется еще до репликации ДНК. Функции комплекса не установлены, но показано, что появление комплекса означает переход к продуктивной фазе инфекции. Также известно, что у больных с лимфомой

Беркитта преобладают антитела к гранулярному компоненту, а у больных раком носоглотки – к диффузному компоненту.

Мембранные антигены определяются на поверхности вируспродуцирующих клеток и вирусных частиц. Известны ранние мембранные антигены, которые выявляются до синтеза ДНК. Поздние мембранные антигены обнаруживаются после начала синтеза ДНК вируса на более поздних этапах синтеза вирусной частицы. Полагают, что ранние антигены входят в состав суперкапсидной оболочки вирионов, которая образуется за счет клеточных мембран [233].

Вирусный капсидный антиген синтезируется после репликации вирусной ДНК и является продуктом поздней функции вирусного генома. Вирусный капсидный антиген является структурным компонентом вирусного капсида, локализуется и в ядре, и в цитоплазме продуцирующих клеток. В норме он не выявляется, его наличие свидетельствует о развитии патологического процесса [102].

Попадая в организм, ВЭБ паразитирует в клетках иммунной системы (В-лимфоцитах), лишая их возможности выполнять предназначенные функции, а выраженное цитопатическое действие к ним демонстрирует не часто [55]. Это, впрочем, только усиливает настороженность по отношению к нему, поскольку подобное свойство вируса при определенных обстоятельствах может вызвать в контаминированном организме неуправляемые дегенеративные изменения, обуславливая прогрессирование недостаточности его функций.

Первичная ВЭБ-инфекция протекает, как правило, бессимптомно и только в ряде случаев проявляется как инфекционный мононуклеоз с развитием лихорадки, гепатоспленомегалии, лимфаденопатии и увеличением числа CD8⁺ Т-лимфоцитов в периферической крови [178].

Клинические проявления обусловлены иммунным ответом Т-цитотоксических лимфоцитов [227] на поликлональную активацию В-лимфоцитов, характерную для ВЭБ. В ответ на фиксацию ВЭБ на поверхности В-лимфоцитов происходит активация Т-лимфоцитов-регуляторов, НК-клеток, включаются механизмы антителозависимого В-

клеточного цитолиза. При первичной ВЭБ-инфекции численность Т-лимфоцитов повышает количество В-лимфоцитов в 40-50 раз. Эти механизмы, с одной стороны, тормозят пролиферацию и дифференциацию В-лимфоцитов, с другой – вызывают лизис инфицированных В-лимфоцитов, чем способствуют выходу вируса в свободную циркуляцию с последующей его элиминацией гуморальными специфическими антителами. Эти защитные механизмы являются препятствием к малигнизации. Поэтому инфекционный мононуклеоз – первичная форма ВЭБ-инфекции, рассматривается как доброкачественный лимфоретикулез.

После первичной инфекции ВЭБ в незначительном количестве сохраняется в организме хозяина в течение всей жизни. Цитотоксические Т-лимфоциты и НК-клетки ограничивают первичную инфекцию и держат пул “бессмертных” ВЭБ-инфицированных В-лимфоцитов (клеток памяти) под контролем [84].

Было обнаружено, что ВЭБ обладает большим набором генов, дающим ему возможность в определенной мере ускользать от иммунной системы человека. В частности, ВЭБ вырабатывает белки – аналоги ряда человеческих интерлейкинов и их рецепторов, изменяющих иммунный ответ [175].

В период активного размножения вирус продуцирует ИЛ-10-подобный белок, который подавляет Т-клеточный иммунитет, функцию цитотоксических лимфоцитов, макрофагов, нарушает все этапы функционирования естественных киллеров (т.е. важнейших систем противовирусной защиты). Другой вирусный белок (ВІ3) также может подавлять Т-клеточный иммунитет и блокировать активность клеток-киллеров (через подавление ИЛ-12). Еще одно свойство ВЭБ, как и других герпес-вирусов, – высокая мутабельность, позволяет ему на определенное время избегать действия специфических иммуноглобулинов (которые были наработаны к вирусу до его мутации) и клеток иммунной системы хозяина. Таким образом, размножение ВЭБ в организме человека может явиться причиной усугубления (возникновения) вторичного иммунодефицита.

Независимо от проявлений острого периода, всегда наблюдается персистенция вируса в В-клетках памяти на протяжении всей жизни [147]. Причем количество В-лимфоцитов,

несущих вирусную ДНК, у здоровых людей составляет приблизительно 1 на 10^5 - 10^6 клеток [23].

Как указывалось, выше, ДНК вируса имеет линейную либо кольцевую (эписому) структуру и размножается в ядре клетки хозяина. Активная репликация вируса происходит при продуктивной (литической) стадии инфекционного процесса (ДНК ВЭБ линейной формы). При острой ВЭБ инфекции и активации хронической ВЭБ инфекции происходит цитолитический цикл развития вируса, при котором он запускает экспрессию собственных ранних антигенов и активирует некоторые гены клеток макроорганизма, продукты которых участвуют в репликации ВЭБ. При латентной ВЭБ инфекции ДНК вируса имеет вид эписомы (круговой суперспиральный геном), находящейся в ядре. Циркулярный геном ВЭБ характерен для CD21+ лимфоцитов, в которых даже при первичном инфицировании вирусом практически не наблюдается литической стадии инфекционного процесса, а ДНК воспроизводится в виде эписомы синхронно с клеточным делением инфицированных клеток. Гибель пораженных ВЭБ В-лимфоцитов связана не с опосредованным вирусом цитолизом, а с действием цитотоксических лимфоцитов [198].

Не совсем ясен механизм инфицирования ВЭБ эпителиальных клеток, поскольку у них нет рецептора CD21. Выдвигаются следующие предположения насчет того, как может это произойти. Во-первых, возможно, вирус первично инфицирует расположенные в слизистой полости рта, носоглотки и протоков слюнных желез CD21+ клетки (в первую очередь В-лимфоциты). Затем при прямом межклеточном контакте идет переход вируса с ВЭБ-положительных В-лимфоцитов на эпителиальные клетки. Во-вторых, не исключен механизм инфицирования эпителиальных клеток, опосредованный IgA к вирусным мембранным антигенам. Комплекс IgA-ВЭБ способен связываться с Fc-рецепторами на мембране эпителиальных (и не только) клеток, вследствие чего вирус проникает внутрь клеток. Такой механизм является одним из хорошо известных способов элиминации чужеродных антигенов: антитела связывают антигены, а затем образовавшиеся комплексы поглощаются и разрушаются, в первую очередь фагоцитами, но не только ими. Процесс может осуществляться многими клетками, имеющими на своей мембране рецептор к Fc-

концу иммуноглобулинов. Однако, как известно, далеко не всегда такое поглощение заканчивается разрушением чужеродного антигена, даже в специализированных фагоцитах.

1.6 Вирус Эпштейн-Барр-ассоциированные заболевания

В 10–25% случаев первичное инфицирование ВЭБ, протекающее бессимптомно, и острая ВЭБ-инфекция могут иметь неблагоприятные последствия [119, 178, 179, 199] с формированием лимфопролиферативных и онкологических заболеваний, синдрома хронической усталости, ВЭБ-ассоциированного гемофагоцитарного синдрома и др. [118, 178, 259]. Кроме того, ВЭБ может вызывать хронические манифестные и стертые формы заболевания, протекающие по типу хронического мононуклеоза.

У части больных на фоне иммунной дисфункции и наследственной предрасположенности к той или иной патологии ВЭБ может вызывать различные заболевания, о которых упоминалось выше. ВЭБ инфицирует человека, проникая через интактные эпителиальные слои путем транскитоza в нижележащую лимфоидную ткань миндалин, в частности В-лимфоциты [201].

Доказана этиологическая роль вируса Эпштейна-Барр для таких заболеваний, как лимфома Беркитта, лимфогранулематоз, назофарингеальная карцинома и некоторые другие злокачественные опухоли. Он может поражать центральную и периферическую нервную систему, вызывая развитие серозного менингита, энцефалита, арахноидита, полирадикулоневриты, выступает оппортунистической инфекцией при СПИДе. Появляется все больше данных о том, что вирус Эпштейна-Барр может быть ассоциирован с возникновением заболеваний печени, почек, соединительной ткани, болезни Альцгеймера, синдрома хронической усталости, аутоиммунных процессов [75, 127].

До настоящего времени нет четких критериев, позволяющих прогнозировать исход первичного инфицирования ВЭБ. Косвенным подтверждением вероятности существования такого пути инфицирования может служить обнаруженный факт повышения в крови уровня

IgA к различным антигенам ВЭБ перед развитием назофарингиальной карциномы и их снижение во время ремиссии [271].

Существует множество клинических форм HHV-4 инфекции, среди которых следует выделить следующие:

- инфекционный мононуклеоз,
- хроническая активная ВЭБ-инфекция (хронический мононуклеоз),
- X-сцепленная лимфопролиферативная болезнь (синдром Дункана),
- летальный инфекционный мононуклеоз,
- приобретенная гипогаммаглобулинемия,
- злокачественные лимфомы,
- назофарингеальная карцинома,
- лимфома Беркитта,
- болезнь Ходжкина,
- лимфопролиферативная болезнь, ассоциированная с HHV-4,
- плазматическая гиперплазия,
- В-клеточная гиперплазия,
- В-клеточная лимфома,
- иммунобластная лимфома.

Таким образом, описано множество клинических форм ВЭБ – опухолевых и неопухолевых, при которых этот вирус играет роль этиологического фактора [170, 182].

Возможны несколько вариантов исхода острого инфекционного процесса:

- выздоровление (ДНК вируса можно выявить только при специальном исследовании в единичных В-лимфоцитах или эпителиальных клетках);
- бессимптомное вирусоносительство или латентная инфекция (вирус определяется в слюне или лимфоцитах при чувствительности метода ПЦР 10 копий в пробе);
- хроническая рецидивирующая инфекция:

- а) хроническая активная ВЭБ-инфекция по типу хронического инфекционного мононуклеоза;
- б) генерализованная форма хронической активной ВЭБ-инфекции с поражением ЦНС, миокарда, почек и др.;
- в) ВЭБ-ассоциированный гемофагоцитарный синдром;
- г) стертые или атипичные формы ВЭБ-инфекции: длительный субфебрилитет неясного генеза, клиника вторичного иммунодефицита - рецидивирующие бактериальные, грибковые, часто микст-инфекции респираторного и желудочно-кишечного тракта, фурункулез и другие проявления;
- развитие онкологического и лимфопролиферативного процесса (множественные поликлональные лимфомы, назофарингеальная карцинома, лейкоплакии языка и слизистых ротовой полости, рак желудка и кишечника и др.);
- развитие аутоиммунного заболевания – системной красной волчанки, ревматоидного артрита, синдрома Шегрена и др. (следует отметить, что две последние группы заболеваний могут развиваться через большой промежуток времени после инфицирования);
- ВЭБ может играть важную роль в возникновении синдрома хронической усталости [90].

Патогенетическое значение ВЭБ-инфекция может иметь при следующих видах патологии:

- Т-/NK-клеточной назальной лимфоме;
- лимфоматозном гранулематозе;
- ангиоиммунобластной лимфаденопатии;
- лимфоме ЦНС у иммунокомпетентных пациентов;
- опухолях гладких мышц при трансплантации;
- раке желудка;
- периферической Т-клеточной лимфоме, сопровождающейся вирус-ассоциированным гемофагоцитарным синдромом [285].

В последнее время было установлено, что с ВЭБ ассоциирован еще ряд заболеваний, в частности:

- вирусный гепатит,
- синдром Стивенса-Джонсона (англ. – Stevens-Johnson syndrome),
- синдром «Алисы в стране чудес» (англ. – Alice in Wonderland syndrome),
- рассеянный склероз,
- «волосатая» лейкоплакия (англ. – Hairy leukoplakia),
- болезнь Кикучи,
- общий переменный иммунодефицит,
- субэпителиальные инфильтраты,
- лейомиосаркомы.

И.К. Малашенкова с соавт. [90] выделяют несколько возможных вариантов клинических проявлений хронического ВЭБ инфекций и ее последствий:

- 1) хроническая рецидивирующая инфекция в виде следующих форм:
 - а) стертая хроническая ВЭБ-инфекция;
 - б) атипичная хроническая ВЭБ-инфекция;
 - в) хроническая активная ВЭБ-инфекция;
 - г) генерализованная форма хроническая ВЭБ-инфекция;
 - д) ВЭБ-ассоциированный гемофагоцитарный синдром (гемофагоцитоз);
- 2) развитие ВЭБ-ассоциированного лимфопролиферативного процесса: лимфомы, назофарингеальная карцинома, лейкоплакии языка и слизистой полости рта, рак желудка и кишечника и др.;
- 3) развитие аутоиммунных заболеваний, часто через большой промежуток времени после инфицирования (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, синдром Шегрена, рассеянный склероз и др.);
- 4) один из вариантов синдрома хронической усталости.

Наряду с различными вариантами опухолей и другими типами пролиферативной патологии, следует упомянуть возможность аутоиммунных заболеваний, развитие которых часто отмечается спустя годы после перенесенной ВЭБ [90, 260].

Во-первых, это может быть связано с поликлональной стимуляцией лимфоцитов. При этом могут быть активированы клоны В-лимфоцитов, вырабатывающие антитела к антигенам собственных клеток и тканей. Во-вторых, суперантигены ВЭБ могут стать пусковым фактором развития аутоиммунных заболеваний [90]. И, в-третьих, иммунологические сдвиги могут сохраняться долго и этот иммунодефицит может лежать в основе развития не только опухолей, но и извращенных реакций на различные антигены, в том числе в основе формирования иммунного ответа на антигены собственных тканей.

Из иммуноопосредованных заболеваний, которые можно связать с ВЭБ, в литературе упоминаются системная красная волчанка [90], ревматоидный артрит, синдром Шегрена [90], агранулоцитоз [279], тромбоцитопения [217], аутоиммунный гепатит [290], гломерулонефрит и интерстициальный нефрит, васкулит, рассеянный склероз [209], болезнь Альцгеймера [75, 127].

Еще одним из вариантов ВЭБ-ассоциированных заболеваний следует назвать синдром хронической усталости [90, 118, 178, 259, 283, 294]. Причем некоторые авторы [294] считают, что возможны два различных типа синдрома хронической усталости, связанных с перенесенной острой ВЭБ-инфекции: ранний (развивается через 2-6 месяцев) и поздний (спустя несколько лет).

В настоящее время доказано, что около 20% всех опухолей человека индуцируются вирусами или развиваются при их активном участии [271].

ВЭБ оказался первым вирусом, для которого это положение было доказано. Но, поскольку уже к 30 годам инфицированными оказываются более 90% людей, понятно, что для развития ВЭБ-ассоциированных опухолей вирусу нужны “помощники” (дополнительные костимулирующие факторы). Для различных опухолей они разные [271].

В зависимости от типа пораженной ткани можно выделить следующие варианты ВЭБ-ассоциированных опухолей [214, 259].

- 1) из лимфоидной ткани — лимфома Беркитта, В-клеточные лимфобластные лимфомы, Т-клеточные лимфомы, болезнь Ходжкина (лимфогранулематоз), НК-лимфома;
- 2) из эпителиальной ткани — назофарингеальная карцинома, карцинома околоушных слюнных желез, карцинома желудка, волосатая лейкоплакия языка;
- 3) из других тканей — лейкомиосаркома.

В опухолевых клетках нарушен транспорт ВЭБ-антигенов на наружную поверхность клеточной мембраны. Эти клетки имеют очень низкий уровень или в них вообще отсутствуют некоторые молекулы адгезии и костимуляции, необходимые для эффективной презентации вирусных антигенов на клеточной мембране [271].

Высока вероятность развития ВЭБ-ассоциированных лимфом при первичных иммунодефицитах: X-сцепленном лимфопролиферативном синдроме (синдроме Дункана), синдроме Вискотта-Олдрича, а также при атаксии-телеангиэктазии и тяжелых комбинированных иммунодефицитах [129].

Имеются данные, свидетельствующие о том, что на фоне инфицирования ВЭБ развивается рецидивирующий бронхит [117].

1.7 Современные представления о липидах при хронической обструктивной болезни легких

Легкие рассматриваются в качестве чрезвычайно сложного органа с высокой интенсивностью обмена. В них содержатся набор ферментов, необходимых для синтеза жирных кислот, триглицеридов, холестерина. В то же время в легких протекают липолитические процессы, благодаря наличию высокоактивных фосфолипаз, липопроотеидлипаз, диацилглицерол и триглицероллипаз [158].

Липиды, главным образом фосфолипиды (ФЛ), синтезированные в ткани легкого и депонируемые из крови, используются для синтеза сурфактанта [56]. Сурфактантом легких принято называть липидо-белково-углеводный комплекс, который в виде биклеточного слоя

располагается в альвеолах на границе с воздухом и регулирует поверхностное натяжение при изменении их объема [20].

Сегодня большинство заболеваний рассматривают 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 счете, к их гибели.

Биологическим мембранам принадлежит ключевая роль в обеспечении и регуляции физиологической активности клетки. Хорошо известно, что липиды клеточных мембран являются не только формой депонирования метаболического топлива и основным компонентом клеточных структур, но и системой биологических эффикторов, регуляторов и медиаторов, участвующих практически во всех физиологических процессах клетки.

Результаты изучения поверхностно-активных веществ легкого позволили установить, что выстилающий комплекс по своему химическому составу является сложным образованием, содержащим около 20 компонентов, причем наибольшей поверхностной активностью обладают ФЛ. Липидная часть сурфактантной системы легких содержит следующие ФЛ: фосфатидилхолины (ФХ), фосфатидилинозиты (ФИ), фосфатидилэтаноламины (ФЭ), фосфатидилсерины (ФС), сфингомиелины (СМ), лизофосфатидилхолины (ЛФХ), дифосфатидилглицерины (ДФГ) и фосфатидные кислоты (ФК) [153, 168].

В регуляции состояния мембран клеток принимают участие процессы перекисного окисления липидов, фосфолипазы, ферменты протеолитической системы. Изучение их активности является важным диагностическим критерием общего состояния организма, характеристикой адаптивных процессов при неблагоприятных воздействиях, компенсаторных возможностей организма [88].

Функциональная активность лимфоцитов также зависит от состояния биологических мембран. Выявленные изменения липидного состава мембран лимфоцитов крови являются одним из основных факторов, снижающих функциональную активность лимфоцитов. Так,

нарушения в метаболизме СМ могут приводить к дисбалансу в липидном обмене мембран лимфоцитов. Это является одним из основных факторов, обуславливающих нарушение функциональной активности лимфоцитов, формирование иммунодефицита и, как следствие, присоединение инфекционных заболеваний [140].

Изменения в составе липидов крови оказывают влияние и на систему свертывания крови, равно как и компоненты гуморального иммунитета в силу своей способности активировать протеинкиназы, следовательно, и комплемент [121].

Биологическим мембранам принадлежит ключевая роль в обеспечении и регуляции физиологической активности клетки [47].

В последние два десятилетия в результате многочисленных исследований было установлено, что липиды клеточных мембран являются не только формой депонирования метаболического топлива и основным компонентом клеточных мембран, но и системой биологических эффекторов, регуляторов и медиаторов, участвующих практически во всех физиологических процессах клетки [52, 54].

Важное значение липидов в жизнедеятельности организма доказано многочисленными исследованиями. ФЛ принадлежит основная роль в построении универсальной структуры клеточных мембран. Они участвуют в проведении импульса, т.к. он связан с активным транспортом ионов через клеточные и субклеточные мембраны. ФЛ, составляя 90% от всех липидов митохондрий, являются обязательными компонентами многих ферментов дыхательной цепи переноса электронов. Установлено, что при удалении их из митохондрий происходит полная потеря ферментативной активности последних, вследствие чего митохондрии утрачивают способность переносить электроны. ФЛ являются активаторами ряда ферментов [28, 77].

Фосфолипидные компоненты плазматических мембран преимущественно представлены диацильными формами, т.е. содержат две гидрофобные цепи на одну полярную головку. Моноацильные формы – ЛФХ, в норме встречаются лишь в незначительных количествах. Взаимопревращение диацильных липидов в моноацильные является одним из регуляторных механизмов, с помощью которого модифицируются

свойства мембран. ЛФХ — чрезвычайно цитотоксичные вещества и в больших количествах способны разрывать структуру биологических мембран [48]. В результате проводимых исследований все полнее вырисовывается разносторонняя функциональная роль этих важнейших соединений в жизнедеятельности организма [68].

В регуляции состояния биологических мембран также принимают участие протеолитические ферменты. Уровень протеолитической активности существенно влияет на состояние клеточного метаболизма. В основе деструктивных процессов, развивающихся после действия патологических факторов, лежит активация аутолиза, обусловленная избыточным содержанием лизосомальных ферментов в цитоплазме клетки.

Предупреждение необратимого разрушения биомембран клеток может успешно реализоваться сочетанным или отдельным использованием факторов — ингибиторов фосфолипаз, липаз, блокаторов кальциевого канала и т.д. [95].

Избыток катехоламинов в крови может приводить к активации перекисного окисления липидов, активации фосфолипаз, детергентному действию высоких концентраций лизофосфолипидов в липидном бислое мембран, лабильности мембран лизосом и освобождению из них протеолитических ферментов с последующим повреждением клетки. Блокада адренорецепторов, через которые реализуется эффект катехоламинов, может ограничить повреждение клеток, вызванное избытком катехоламинов [95].

Известно, что синдром отмены сопровождается увеличением содержания катехоламинов в крови. Соединение катехоламинов с адренорецепторами приводит к увеличенному образованию цАМФ и этот "второй передатчик" активирует протеинкиназы — ферменты, фосфорилирующие белки, и, прежде всего, белки медленного канала транспорта Ca^{2+} . Большие дозы катехоламинов, действуя опосредованно через аденилатциклязную систему, вызывают увеличенное входение в клетки Ca^{2+} , избыток которого в сочетании с избытком свободных жирных кислот приводит к разобщению окисления с фосфорилированием в митохондриях и снижению содержания АТФ в клетках.

В настоящее время в основе возникновения любых патологических процессов в клетках, тканях и органах рассматривают состояния, сопряженные с поражением прежде

всего клеточных мембран, поскольку под воздействием неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды происходит дестабилизация структурно-функциональных свойств биологических мембран. Это приводит к потере функциональной компетентности мембран, изменению жизнедеятельности клеток в целом и, в конечном счете, к их гибели [47]. Трансформация физиологических функций биомембран может быть вызвана изменением состава ФЛ как основного компонента липидной фракции. А это, в свою очередь, может происходить как при некоторых заболеваниях, так и при действии всевозможных ксенобиотиков [99].

Как установлено, ФЛ являются основными структурными компонентами легочного сурфактанта (антиателектатического фактора). Синтез и разпад ФЛ легочной ткани очень чувствителен к воздействию токсических и токсико-инфекционных факторов, которые имеют место при заболеваниях легких [7].

С данных позиций особый интерес представляет изучение метаболизма мембранных ФЛ при патологии легких [77]. К настоящему времени опубликовано большое количество работ, посвященных изучению липидов при заболеваниях органов дыхания. Множество работ посвящено изучению патогенеза хронических неспецифических заболеваний легких с точки зрения патологии биомембран [11, 57].

Некоторые исследователи рассматривают нарушение липидного обмена при неспецифических заболеваниях легких в качестве важного показателя при диагностике и прогнозировании исхода заболевания [79]. Установлено, что развитие бронхолегочного воспалительного процесса сопровождается изменениями липидного состава свободных жирных кислот крови [58, 71].

Роль ФЛ в легких не ограничивается участием в образовании сурфактанта. С ФЛ связаны все ферментативные процессы в легких, протекание которых неотделимо от мембран. При этом трансформация физиологических функций биомембран может быть вызвана изменением состава ФЛ как основного компонента липидной фракции. А это, в свою очередь, может происходить при некоторых заболеваниях дыхательной системы [99].

В регуляции функционального состояния мембран особая роль принадлежит системам, осуществляющим ферментативные и неферментативные превращения мембранных ФЛ. Установлено участие последних в проведении нервного импульса [186], транспорте ионов и различных веществ, в процессе энергообразования [151].

ФЛ необходимы также для осуществления биосинтетических процессов, при формировании биологических мембран. Основные функции мембран – регуляция проницаемости, контактные свойства клеточных поверхностей, образование важнейших биологических комплексов, рецепторная функция и др. – в значительной мере зависят от состава и физиологических свойств липидов мембран. Именно на этом уровне мембран проявляется большая часть регуляторных функций липидов, вследствие чего мембраны становятся одним из основных звеньев адаптации [100].

Липидный состав мембран в значительной мере определяет характер функционирования рецепторного аппарата, в том числе в гладкомышечных и тучных клетках респираторной системы и иммунокомпетентных клетках [49], что в свою очередь оказывает влияние на процессы формирования первичной и вторичной гиперреактивности бронхов [123].

Представляет интерес изучение взаимосвязи липидного состава долей легкого и локализации воспалительного процесса в бронхолегочном аппарате. Показано, что в нижних долях содержится на 15% больше ФЛ за счет ФХ и ФЭ, и они имеют более насыщенный состав. Характер суммарного распределения жирных кислот зависит от содержания С16:0 в ФХ и ФЭ и С20:0 во всех классах ФЛ.

Установлено, что у больных с хроническим бронхитом происходит существенное снижение содержания ФХ и тенденция к увеличению количества ЛФХ, СМ и ФЭ. Наблюдается резкое понижение уровня ФХ в сыворотке крови больных, страдающих бронхиальной астмой с тяжелым течением [108].

Особый интерес представляет изучение обмена сфинголипидов. Это связано с тем, что СМ и продукты их ферментативного гидролиза играют определяющую роль в сигнальной трансдукции, регулирующей ведущие клеточные процессы – иммунный

ответ, пролиферацию, рост, дифференцировку и апоптоз клеток. К настоящему времени установлено, что при патологических состояниях организма изменяется состав и метаболизм сфинголипидов, что приводит к нарушению структуры и функций клеток. Многообразие функций СМ и их производных прямо или косвенно связано с важнейшими клеточными событиями в норме и при патологии.

Имеются данные об изменениях сурфактанта при различных заболеваниях и состояниях организма [17].

Исследование сурфактанта легких расценивается как мультидисциплинарная проблема современной пульмонологии [97]. Сурфактантная система легких является сложно организованной саморегулирующейся системой. Доказано, что все взаимодействия на альвеолярный эпителий со стороны воздушного пространства осуществляются через эту систему. Наличие сурфактантной системы легких позволяет организму эффективно адаптироваться к экстремальным ситуациям, которые требуют максимального напряжения работы аппарата дыхания [124].

Концентрируясь на границе раздела фаз газ-жидкость, молекулы сурфактанта выполняют ряд важных физиологических функций [17]. Одним из важнейших значений сурфактанта на альвеолярной поверхности является то, что они снижают поверхностное натяжение и предохраняют возникновение ателектаз.

Физиологическая роль сурфактанта не ограничивается регуляцией поверхностного натяжения и обеспечением физико-химической и механической стабильности альвеол. Сурфактант легких участвует в адсорбции кислорода и его транспорте. Кроме того, сурфактант обладает защитными свойствами от постоянного вредного воздействия механического, химического и инфекционного характера и способствует удалению инородных частиц. Недостаток или повреждение легочного сурфактанта ведет к увеличению поверхностного натяжения, к коллапсу альвеол, образованию ателектазов, к транссудации жидкости в альвеолярное пространство и к нарушению дыхательной функции легких [19].

При гипоксии легочной ткани уменьшается утилизация свободных жирных кислот, этерификация пальмитиновой кислоты в ФХ и ФЭ. В результате этого происходит

подавление биосинтеза дипальмитоил-ФХ и накопление неэстерифицированных жирных кислот в “гипоксических легких”, с одновременным уменьшением интенсивности их окисления [173].

Изменение состава ФЛ и уменьшение общего количества других классов липидов в легочной ткани приводит к снижению поверхностной активности сурфактанта. Вызванное гипоксией нарушение состава липидов в ткани легкого свидетельствует о снижении процессов трансметилирования и ацилирования. При гипоксии происходит уменьшение перевода ненасыщенных ФХ в насыщенные. Гипоксия способствует накоплению в легочной ткани лизофосфолипидов, главным образом ЛФХ. Включение жирных кислот и лизофосфолипидов в липидный бислой мембраны сопровождается изменением липидного окружения и, как следствие, активности мембраносвязанных ферментов, рецепторов каналов ионной проводимости.

Представляют особый интерес работы, посвященные изучению мембранных аспектов патогенеза воспалительных заболеваний бронхолегочного аппарата. Установлено, что бронхолегочные заболевания, как правило, сопровождаются изменением метаболизма мембранных липидов.

1.8. Система перекисного окисления липидов и ее участие в патологических процессах

Доказано, что перекисное окисление липидов (ПОЛ) – нормальный метаболический процесс, необходимый для обновления, самообновления и самоперестройки мембранных липидов, регуляции ионного транспорта и активности мембраносвязанных ферментов [72].

Как известно, существуют два вида ПОЛ: неферментативный, аскорбатзависимый, активируемый ионами металлов переменной валентности (Fe^{2+}) и неферментативный НАДФН-зависимый. Процессы ПОЛ по первому типу протекают во всех мембранах, по второму – только в эндоплазматическом ретикулуме клеток.

ПОЛ – неспецифический процесс, является ответной реакцией на любой стресс в процессе адаптации клетки при воздействии внешних факторов. Патологические состояния, характеризующиеся повышением образования свободных радикалов и активацией ПОЛ, могут представлять собой самостоятельные заболевания с характерной клинической картиной. Патогенетическая роль ПОЛ доказана для некоторых воспалительных заболеваний легких.

При гипоксии, в результате нарушения обменных процессов, происходит повреждение биомембран и, следовательно, функциональной активности клеток и тканей. Изменение сурфактантной системы имеет место и под действием различных факторов среды. Снижение количества поверхностно-активных веществ обнаружено у курильщиков. Водорастворимая фракция сигаретного дыма вызывает активацию ПОЛ в ткани легкого [154]. Аналогичная картина наблюдается и при Е-гиповитаминозе. Полученные результаты позволяют объяснить механизмы нарушения поверхностно-активных свойств сурфактанта легких [97].

Описано и влияние перекисного окисления на функции рецепторов мембраны. Изменение фосфолипидного состава мембран ведет не только к нарушению чувствительности их к гормонам, но и к иммунным раздражителям. Выявлена зависимость скорости реакции антиген-антитело от состава липидов мембран [116].

Интенсификация ПОЛ имеет особое значение для функционирования системы органов дыхания. Установлено, что в патогенезе бронхолегочных заболеваний не последнюю роль играют перекисные соединения липидов, увеличение которых в тканях легкого или сурфактанте приводит к структурно-функциональным нарушениям биологических мембран. Клинико-экспериментальными исследованиями показана важная роль процессов ПОЛ в развитии бронхолегочных заболеваний [126].

Известно, что продукты ПОЛ способны спровоцировать бронхоспастические реакции, поддерживать воспаление, усугублять функциональную недостаточность иммунокомпетентных клеток [212]. Как известно, продукты ПОЛ являются одним из пусковых механизмов активации гемостаза. Они участвуют в формировании синдрома

гиперреактивности бронхов [207], нарушают соотношение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования.

“Окислительный стресс” и активация ПОЛ является мощным регулятором изменения структуры и проницаемости мембранных компонентов, при этом происходит адаптация клеток к изменяющимся условиям окружающей среды. Развивающийся “окислительный стресс” приводят к изменению нормальной структуры мембран эритроцитов, в результате чего нарушаются реологические свойства крови и микроциркуляция с развитием тканевой гипоксии, что еще больше увеличивает степень метаболических расстройств.

Легкие представляют собой своеобразную биологическую “мембрану”, аэрогематический барьер, который состоит преимущественно из фосфолипидов и липопротеидов [106, 130]. Развитие ХОБЛ сопровождается максимальной активацией ПОЛ и уменьшением активности антиоксидантных ферментов [74]. Легкие представляют собой наиболее крупную биологическую мембрану организма, внешняя поверхность которой контактирует с O_2 и активными инициаторами ПОЛ – озоном и двуокисью азота, аэрогематический барьер этой мембраны обеспечивается важнейшими структурными компонентами биомембран.

Активация ПОЛ выявлена и при возникновении синдрома бронхиальной обструкции. Показаны увеличение содержания легкоокисляемых ФЛ и снижение концентрации холестерина в мембранах лимфоцитов детей, больных бронхиальной астмой [9]. При этом усиление бронхоспазма связано с нарушением метаболизма арахидоновой кислоты, сопровождающегося снижением синтеза PGE_2 и накоплением тромбоксанов и лейкотриенов. Снижение клеточной β -адренореактивности способствует выделению биологически активных веществ из тучных клеток, что является решающим фактором воспалительного повреждения ткани с развитием отека, микроциркуляторных расстройств и клеточной инфильтрации стенки бронхов. Радикалы кислорода, образуемые активированными гранулоцитами и альвеолярными макрофагами, служат фактором вторичного свободнорадикального повреждения, что обуславливает длительность воспалительного процесса. Наконец, показано, что лейкотриены, значительное количество которых

обнаруживаются в мокроте больных с обструктивным синдромом, снижают мукоцилиарный транспорт, что создает условия для застоя бронхиального секрета и возникновения обтурации бронхов [256].

Обструкция бронхов приводит к нарушению всех функций органов дыхания и является причиной неблагоприятного течения бронхолегочного процесса [5].

В настоящее время в генезе развития заболеваний, сопровождающихся бронхиальной обструкцией, важное значение придается мембранопатологическим процессам в бронхолегочной ткани, в том числе на уровне клеточных факторов защиты. Среди важнейших механизмов, приводящих к дестабилизации клеточных мембран, необходимо отметить ПОЛ, недостаточность антиоксидантной системы, избыточную активность эндогенных и экзогенных фосфолипаз и др. [42, 43, 87, 94].

В настоящее время твердо установлено, что активация ПОЛ ведет к глубоким структурно-функциональным нарушениям мембран. Это связано прежде всего с образованием межмолекулярным липид-липидных и липид-белковых “сшивок”, что приводит к изменению физико-химических свойств липидного матрикса: снижается его текучесть и повышается ригидность, нарушается ориентация жирнокислотных остатков ФЛ, в результате чего повышается пассивная ионная проницаемость мембраны, особенно для ионов Ca^{2+} [144].

Между тем двувалентные катионы участвуют в регуляции бронхиального и сосудистого тонуса, сократимости дыхательных мышц, нервномышечной проводимости, а также секреторной активности тучных клеток [188, 196].

Клеточный дисбаланс двувалентных катионов у больных бронхиальной астмой, нарушает метаболизм цАМФ и, повреждая рецепторы клеточных мембран вследствие активации ПОЛ, приводит к формированию синдрома гиперреактивности бронхов. Исследования показали, что причиной интрацеллюлярного избытка кальция является усиление его трансмембранного потока и снижение выхода из клеток [27, 50].

Как известно, АТФазы, осуществляющие транспорт кальция из цитоплазмы, являются магний-зависимыми ферментами, поэтому низкая концентрация последнего может приводить к снижению их активности [21].

Имеющиеся данные показывают, что изменение внутриклеточного гомеостаза двувалентных катионов, возникающее на определенном этапе болезни и, вероятно, обусловленные повреждением продуктами ПОЛ клеточных мембран, являются одним из звеньев патогенеза бронхиальной астмы [122].

Описано влияние ПОЛ на функции рецепторов мембраны и процессы окислительного фосфорилирования. По некоторым данным, незначительная интенсификация ПОЛ стимулирует потребление кислорода и окислительное фосфорилирование, в то время как при более высоких уровнях перекисей функциональная активность митохондрий снижается [114].

Выявлена также зависимость скорости реакции антиген-антитело от состава липидов мембран. Кроме того, показано участие фосфолипидов в Ig-индуцированном выбросе гистамина тучными клетками [30]. Возможно, что продукты ПОЛ, заменяя структуру и фосфолипидный состав мембран, могут влиять на процессы клеточного ответа иммуннокомпетентных клеток.

Активация ПОЛ ведет к искажению передачи информации от внеклеточных регуляторов к внутриклеточным эффекторным системам, что убедительно показано на примере повреждения гормональной чувствительности аденилатциклазы свободными радикалами, приводя к изменению адаптационных способностей клетки.

Нарушение равновесия между процессами ПОЛ и антиоксидантной системой приводит к лавинообразной реакции переокисления, заканчивающейся гибелью клеток [40, 64, 89, 101, 111].

Развитие гипоксии приводит к активации ПОЛ и фосфолипазы A_2 в ткани легкого. Отмечается повышенное содержание арахидоновой, олеиновой и линоленовой кислот. Некоторые авторы допускают возможность непосредственного участия продуктов ПОЛ в процессе освобождения биологически активных веществ из тучных клеток [265].

В результате повышенной секреции биологически активных веществ усугубляется бронхоконстрикция, возникает гипоксия, происходит активное привлечение в воспалительный очаг альвеолярных макрофагов и нейтрофилов. Показано, что альвеолярные макрофаги при активации ПОЛ усиливают секрецию лизосомальных ферментов и факторов, привлекающих нейтрофилы периферической крови в очаг воспаления и усиливающих их адгезивные свойства. Под действием развивающейся местной гипоксии макрофаги выделяют фактор активации тромбоцитов – вещество липидной природы, обладающее многосторонним противовоспалительным действием: усиливается агрегация тромбоцитов, развиваются нарушения микроциркуляции, происходит дальнейшее привлечение нейтрофилов и их деградация, развивается бронхоспазм [231].

Известно, что тяжелые и осложненные формы гриппа и респираторных заболеваний протекают с развитием оксидативного стресса, накоплением продуктов ПОЛ, нарушением равновесия в системе протеолитического контроля. Выявлены транзиторная Т-клеточная иммуносупрессия, снижение функциональной активности натуральных киллеров, фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов периферической крови, дисбаланс в системе интерферонов, сенсibilизация лейкоцитов к бактериальным и вирусным антигенам [61, 62].

Приведенные данные показывают, что активация ПОЛ является важным патогенетическим звеном хронических заболеваний легких. В основе его активации чаще всего лежит врожденная либо приобретенная недостаточность функции антиоксидантной системы, что приводит к увеличению отношения перекисное окисление/антиоксиданты, нарушению регуляции перекисных процессов системой антиоксидантов и, в конечном итоге, к срыву адаптационных реакций. Нарушение отношения перекисное окисление/антиоксиданты продемонстрировано при ряде заболеваний [110].

В свою очередь активация ПОЛ может вызвать лабильность лизосом и способствовать высвобождению большей части популяции фосфолипаз [95]. Длительная активация процессов ПОЛ приводит к истощению антиоксидантных систем организма. Важную роль играет воздействие протеолитических ферментов – трипсина, проназы,

нейраминидазы, на мембраны клеток, которые в присутствии экзогенных фосфолипаз вызывают полное разрушение холинсодержащих ФЛ.

Активация ПОЛ приводит к повышению ригидности мембранных фосфолипидных структур, снижению их текучести и усилению фазового перехода. Наконец, влияния ПОЛ связано с активацией эндогенной фосфолипазы A_2 , при действии которой на ФЛ мембран нарушается передача сигнала с адренорецепторов и наблюдается меньший, чем в норме, прирост внутриклеточного цАМФ в ответ на стимуляцию β -адренорецепторов. При значительном и длительном избытке эндогенных катехоламинов механизмы самоограничения адренергического эффекта могут быть сорваны. Обусловленная избытком катехоламинов активация липаз, фосфолипаз, ПОЛ, достигая чрезмерного уровня, приводит к повреждению липидного бислоя мембран, и, как следствие, к нарушению функционирования липидзависимых ферментов, рецепторов и каналов ионной проницаемости [95].

1.9 Участие фосфолипаз в повреждении клетки

Накопление жирных кислот и лизофосфатидов способствуют накоплению Ca^{2+} и ацетил-КоА в клетке, подавлению процессов окислительного фосфорилирования, транспорта АТФ и АДФ через внутреннюю мембрану митохондрий, ингибированию β -окисления в митохондриях и, наконец, активации фосфолипаз.

В регуляции функционального состояния мембран особая роль принадлежит системам, осуществляющим ферментативные и неферментативные превращения мембранных фосфолипидов. Среди них важную роль играют фосфолипазы, катализирующие гидролиз и трансэтерификацию мембранных липидов. Обнаружено участие фосфолипаз в ряде физиологических и патологических процессов [10].

Арахидоновая кислота выделяется из ФЛ мембран клеток в результате действия фермента фосфолипазы A_2 . Активаторами указанного фермента, кроме C5-фрагмента

комплимента, являются токсины микробов, кинины, тромбин, комплексы антиген-антитело, Ca^{2+} [78].

Продуктом гидролиза ФЛ фосфолипазой A_2 является ЛФХ и ненасыщенные жирные кислоты (чаще всего арахидоновая). Арахидоновая кислота обладает ингибирующим влиянием на фосфолипазу A_2 и оказывает стимулирующее действие на сфингомиелиназу. Повышенная активность фосфолипазы A_2 может быть связана с усилением процессов ПОЛ, приводящим к уменьшению количества длинноцепочечных ненасыщенных жирных кислот, одной из которых является арахидоновая, и происходит увеличение моноеновых жирных кислот. В отсутствии арахидоновой кислоты как основного ингибитора фосфолипазы A_2 , активность её остаётся повышенной. Вторым продуктом действия фосфолипазы A_2 после арахидоновой кислоты является лизофосфолипид. Механизм повреждающих эффектов лизофосфатидов, по-видимому, связан с их способностью, разрывать структуру биологических мембран. Жирные кислоты и лизофосфатиды не только повреждают мембрану сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, создавая, таким образом, предпосылку для накопления в клетке Ca^{2+} , но и могут нарушать функционирование митохондрий и системы гликолиза [93].

При встрече тучных клеток и эозинофилов с фиксированными на их поверхности молекулами иммуноглобулинов происходит высвобождение большого количества медиаторов (гистамина, анафилактического фактора хемотаксиса эозинофилов и нейтрофилов, простагландинов, лейкотриенов, протеаз цитокинов, фактора активации тромбоцитов и т.д.), инициирующих воспалительный процесс в бронхах. Важнейшим звеном этого процесса является стимуляция метаболизма ФЛ мембран клеток, в частности, активация фосфолипазы A_2 , под действием которой образуется арахидоновая кислота и факторы активации тромбоцитов. В свою очередь, под воздействием циклооксигеназы из арахидоновой кислоты образуются простагландины, тромбоксан A , а под действием липооксигеназы – лейкотриены.

Гистамин, простагландины и лейкотриены относятся к мощным медиаторам так называемой ранней фазы аллергической реакции немедленного типа, вызывающий спазм гладкой мускулатуры бронхов, гиперсекрецию слизи и воспалительный отек слизистой [112].

Роль активации фосфолипаз в повреждении липидного бислоя определяется тем, что в соответствии с общим механизмом действия фосфолипаз они разрушают ФЛ бислоя мембран, то есть отрицательный эффект чрезмерной активации фосфолипаз, может реализоваться за счет двух факторов – потери мембранами ФЛ и образования лизофосфатидов, которые в свою очередь повреждают мембраны. Активация фосфолипаз может реализоваться тремя путями. Во-первых, катехоламины, которые активируют систему кинин-каллекреина и вызывают ряд явлений: фактор Хагемана → кининоген → брадикинин → активация фосфолипазы A_2 . Во-вторых, увеличение концентрации Ca^{2+} в саркоплазме, обусловленное АТФ-дефицитным торможением Са-насоса, активизирует вхождение фосфолипаз в липидный бислой, где они приобретают специфическую активность. В-третьих, активация ПОЛ может вызвать лабильзацию лизосом и способствовать высвобождению большей части популяции фосфолипаз [93].

Ведущую роль в фосфолипазном повреждении мембран играет фосфолипаза A_2 . Фосфолипаза A_2 действует на молекулу ФЛ, отщепляя жирные кислоты во втором положении. Причиной увеличения активности фосфолипаз может служить действие фактора некроза опухоли (ФНО- α).

Деятельность фосфолипазы A_2 в легочной ткани рассматривают в двух аспектах: ее физиологическую роль и патогенетическое значение при заболеваниях легких.

Как известно, фосфолипаза A_2 принимает активное участие в синтезе простагландинов, повышает выход из клетки биологически активных веществ (ацетилхолина, гистамина, адреналина), обеспечивает удаление токсичных перекисленных жирнокислотных остатков фосфолипидов из тканей [36], что может иметь существенное значение при патологии.

Как и другие фосфолипазы, фосфолипаза A_2 может влиять на активность ряда мембраносвязанных ферментов. Высвобождая ряд ферментов в очагах воспаления и

повышая мембранную проницаемость, фосфолипазы принимают активное участие в патогенезе ряда заболеваний [31], в том числе и воспалительного бронхолегочного процесса.

Установлено, что фосфолипаза A_2 локализована, в основном, в растворимой фракции в виде неактивной формы. В пластинчатых тельцах эпителия сосудов легких активность фосфолипазы A_2 в 4 раза выше, чем фосфолипазы A_1 . Оба фермента обнаруживаются в растворимой фракции после разрушения пластинчатых телец.

Причиной увеличения активности фосфолипаз может служить действие ФНО- α – основного цитокина, который вырабатывается при воспалении и обладает эффектом активации фосфолипаз. Также активация фосфолипаз может происходить в результате действия катехоламинов, выход которых в кровь возрастает при абстинентном синдроме. Продуктом гидролиза ФЛ фосфолипазой A_2 является ЛФХ и ненасыщенные жирные кислоты, чаще — арахидоновая [26, 73].

Роль активации фосфолипаз в повреждении липидного бислоя определяется тем, что они разрушают ФЛ бислоя мембран, приводя к их утрате мембранами и также за счет образования лизофосфатидов, которые в свою очередь повреждают мембраны [46].

Роль лизофосфатидов в повреждении мембран определяется тем, что они, включаясь в липидный бислой меняют липидное окружение, в результате и активность ферментов, рецепторов и каналов ионной проводимости [46].

СМ и церамиды обладают разнонаправленным влиянием на различные клеточные процессы, а в регуляции митогенной активности, пролиферации, дифференцировки клеток и апоптозе даже являются антагонистами. Церамиды вызывают ингибирование протеинкиназы С и экспрессию bcl-2 (белка, блокирующего апоптоз), выход кальция и активацию нуклеаз, снижают активность фосфолипазы D и модулируют активность других фосфолипаз, а также непосредственно изменяют транскрипционную активность ДНК и др.

Данные эффекты лежат в основе антипролиферативного, противоопухолевого и других влияний церамидов. СМ обладает противоположным эффектом на перечисленные выше внутриклеточные процессы. Накопление СМ связывают с развитием онкологических

заболеваний, в отличие от церамидов, которые обладают антипролиферативным действием за счет индукции апоптоза поврежденных клеток.

Существует 2 механизма повреждения липидов: перекисный и фосфолипазный. Известно, что эти типы повреждения липидов тесно взаимосвязаны. Окисленные ФЛ легче подвергаются гидролизу фосфолипазами, а фосфолипазы, в свою очередь, нарушая целостность липидного бислоя мембран, делают липиды более доступными для свободнорадикального окисления. Ведущую роль в фосфолипазном повреждении мембран играет фосфолипаза A_2 [26].

Разрушая мембраны лизосом, фосфолипаза A_2 способствует выходу лизосомальных ферментов, влияющих на структуру соединительной ткани [238].

Таким образом, исследование активности фосфолипаз – ферментов, участвующих в обмене фосфолипидных компонентов сурфактантной системы, и клеточных мембран, особенно важно с точки зрения их физиологического значения. Имеющиеся данные свидетельствуют об активном участии фосфолипаз в обновлении липидных компонентов выстилающего комплекса и развитии синдрома дыхательного расстройства.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач 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, которая была сопоставима 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 МЗ РА.

При обследовании использовали клинические, инструментальные (рентгеноскопия или рентгенография грудной клетки, электрокардиография, определение вентиляционной функции легких) и лабораторные методы исследования. Эти исследования проводились как в начале, так и в конце курса проводимого лечения.

2.1. Клиническая характеристика больных

Во всех странах значительные материальные затраты системы здравоохранения при борьбе с ХОБЛ связаны с большой распространенностью и высокой социальной значимостью данного заболевания. Тенденция ежегодного роста этих затрат заставляет начать поиски путей оптимизации расходов на терапию ХОБЛ [13].

С целью изучения влияния различных методов терапии на больных ХОБЛ нами было проведено их комплексное обследование.

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 (см. приложение 1, J.44).

При формулировании диагноза хронического бронхита необходимо по-возможности наиболее полно отразить следующие характеристики заболевания:

- форму хронического бронхита (обструктивный, необструктивный),
- клинико-лабораторную и морфологическую характеристику воспалительного процесса в бронхах (катаральный, слизисто-гнойный, гнойный),
- фазу заболевания (обострение, клиническая ремиссия),
- степень тяжести (согласно классификации, ERS),
- наличие осложнений (дыхательная недостаточность, бронхоэктазы, легочная артериальная гипертензия, хроническое легочное сердце, сердечная недостаточность).

Формулирование диагноза ХОБЛ использовалось в тех случаях, когда выделение нозологической принадлежности заболевания вызывает определенные затруднения, но налицо клинические проявления бронхообструктивного синдрома и поражения респираторных структур легких. При этом термин ХОБЛ по-возможности расшифровывается с указанием заболеваний, приведших к ее развитию.

Развитие обострений является характерной чертой течения ХОБЛ. Их частота прогрессивно увеличивается с нарастанием тяжести заболевания. При обострениях у больных ХОБЛ снижаются качество жизни (КЖ) [208], функция легких [213], а также ускоряется темп ее снижения [161], значительно повышаются социально-экономические издержки. Тяжелое обострение заболевания является основной причиной смерти больных ХОБЛ [165, 166, 281].

Обострение ХОБЛ – это острое состояние, характеризующееся таким ухудшением респираторных симптомов у пациента, которое выходит за рамки ежедневных обычных колебаний и приводит к изменению применяемой терапии [164, 254]. В период обострения усиливается степень воспалительного процесса [161, 169].

К ключевым предикторам неблагоприятного прогноза при ХОБЛ относятся возраст пациентов, тяжесть бронхиальной обструкции и легочной гиперинфляции, гипоксемия и гиперкапния, частые обострения, коморбидные состояния и т. п. [2].

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 37 (11%), во второй – 198 (57%), и в третьей – 110 (32%) больных.

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

2.2 Клинические и параклинические данные у больных с хронической обструктивной болезнью легких

Характерной чертой течения ХОБЛ является развитие обострений. Обострение ХОБЛ является одной из самых частых причин обращения больных за неотложной медицинской помощью. Частое развитие обострений у больных ХОБЛ приводит к длительному (до нескольких недель) ухудшению показателей функции дыхания и газообмена, более быстрому прогрессированию заболевания, значимому снижению качества жизни больных и сопряжено с существенными экономическими расходами на лечение [4].

У ряда пациентов наличие частых обострений и сопутствующих заболеваний оказывает существенное влияние на тяжесть заболевания [29].

Большинство больных предъявляли жалобы на общую слабость, кашель и одышку, частые простудные заболевания с повышением температуры тела. Одышка появлялась постепенно и варьировала в широких пределах от ощущения нехватки воздуха до тяжелой дыхательной недостаточности.

При сборе анамнеза нас интересовали перенесенные в прошлом заболевания, факторы, провоцирующие обострения, вредные привычки, а также наличие профессиональной отягощенности.

Для оценки тяжести заболевания, наряду с клиническими признаками, мы также основывались и на показателях вентиляционной функции легких (табл. 1). Наиболее информативным в клинической практике являются определение ОФВ₁ (объем форсированного выдоха за 1-ую секунду), ЖЕЛ (жизненная емкость легких) и их повторные обследования в динамике.

Согласно рекомендациям Европейского респираторного общества (ERS, 1995 г.) и Российского общества пульмонологов, для оценки степени обструкции у больных ХОБЛ и, соответственно, степени тяжести ХОБЛ, в настоящее время в клинической практике используют значения ОФВ₁, поскольку, несмотря на все ограничения, именно этот показатель отличается чрезвычайной простотой измерения и достаточной воспроизводимостью.

Таблица 1

Степень тяжести хронической обструктивной болезни легких в зависимости от величины ОФВ₁ (по рекомендациям Европейского респираторного общества (ERS) 1995 г. и Российского общества пульмонологов)

Степень тяжести	ОФВ ₁
Легкая	≥70% от должного
Средняя	69-50% от должного
Тяжелая	< 50% от должного

Степень снижения абсолютных значений ОФВ₁ хорошо коррелирует с прогнозом заболевания.

Критерии классификации больных ХОБЛ по стадиям заболевания, рекомендованные *Американским торакальным обществом* и широко представленные в современной

отечественной медицинской литературе, также основаны, главным образом, на оценке степени снижения $ОФВ_1$.

Они несколько отличаются от приведенных выше рекомендаций ERS. Согласно предложению Американского торакального общества, следует выделить три стадии течения ХОБЛ:

- 1 стадия – $ОФВ_1$ более 50% от должной величины. Заболевание незначительно снижает качество жизни и требует периодического посещения врача общей практики. Более углубленного обследования больных, включая изучение газового состава артериальной крови и легочных объемов, не требуется.
- 2 стадия – $ОФВ_1$ составляет 35-49% от должной величины. Имеется значительное снижение качества жизни. Необходимы частые посещения лечебных учреждений и определение газового состава артериальной крови, структуры общей емкости легких, диффузионной способности легких и других параметров.
- 3 стадия – $ОФВ_1$ менее 35% от должной величины. Заболевание резко снижает качество жизни. Необходимы частые посещения лечебных учреждений, углубленное обследование больных, в том числе определение газового состава артериальной крови, структуры общей емкости легких, диффузионной способности легких ($P_a O_2$ меньше 55 мм рт. ст.), больные являются кандидатами для проведения оксигенотерапии.

Таким образом, согласно этой классификации, снижение $ОФВ_1$ меньше 50% может быть расценено как признак второй стадии заболевания (и средней тяжести течения ХОБЛ), тогда как по критериям степени бронхиальной обструкции, рекомендованным ERS, такое же снижение данного показателя соответствует тяжелым нарушениям бронхиальной проходимости.

В табл. 2 суммированы клинические и лабораторно-инструментальные признаки ХОБЛ (по Асайнову З.Р., Кокосову А.Н. и др., 2001) в зависимости от степени тяжести заболевания.

Нам представляется, что критерии степени бронхиальной обструкции, рекомендованные *Европейским респираторным обществом (ERS)*, в большей степени

соответствует медицинской практике. Кроме того, было бы более правильным в диагнозе указывать не стадию течения ХОБЛ, которая зависит не только от значений $ОФВ_1$, но и от объективных функциональных и морфологических характеристик болезни: степень бронхиальной обструкции и дыхательной недостаточности, наличие эмфиземы легких, степень и характер нарушений газообмена, наличие признаков легочной артериальной гипертензии. Большое значение также имеет состояние компенсированного и декомпенсированного хронического легочного сердца.

Таблица 2

Клинические и лабораторно-инструментальные признаки хронической обструктивной болезни легких в зависимости от степени тяжести заболевания

Клинические и лабораторные признаки	Легкая степень тяжести	Средняя степень Тяжести	Тяжелая степень тяжести
Кашель	Непостоянный	Постоянный, наиболее выраженный по утрам	Постоянный
Одышка	При интенсивной физической нагрузке	При умеренной физической нагрузке	В покое
Цианоз	Отсутствует	При эмфизематозном типе – после физической нагрузки, при бронхитическом типе – постоянно	Постоянный

Выделение мокроты	Скудная	Скудная, преимущественно по утрам	Постоянное, но не более 60 мл в сутки
Парадоксальный пульс	Отсутствует	Появляется после физической нагрузки	Постоянный
Хрипы в легких	Определяются не всегда	Рассеянные, разнотембровые сухие хрипы, эпизоды дистанционных хрипов	Дистанционные хрипы. Разнотембровые сухие и разнокалиберные влажные хрипы
Эритроциты	Норма	Норма	Более $5 \times 10^{12}/л$
Гемоглобин	Норма	Норма	Более 150 г/л
ЭКГ	Норма	После нагрузки признаки перегрузки правых отделов сердца	Постоянные признаки легочного сердца
ОФВ ₁	80-70% от должного	69-50% от должного	Менее 50% от должного
Рентгенография легких	Не выявляется патологии	Усиленная деформация легочного рисунка, уплотнение стенок бронхов	Низкое стояние купола диафрагмы, ограничение ее подвижности, гипервоздушность легочной ткани, увеличение ретростерального пространства

Удобным для постановки диагноза является и классификация экспертов международной программы “Глобальная инициатива по Хронической Обструктивной Болезни Легких” (GOLD – Global Strategy for Chronic Obstructive Lung Disease), которая выделяет следующие стадии ХОБЛ [203].

Стадия 0. Повышенный риск развития ХОБЛ.

Хронический кашель и продукция мокроты; воздействие факторов риска, функция легких не изменена.

Стадия I. Легкое течение ХОБЛ.

На этой стадии больной может не иметь представления о том, что функция легких у него нарушена.

Обструктивные нарушения – $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$, $ОФВ_1 \geq 80\%$ от должных величин. Обычно, но не всегда, хронический кашель и продукция мокроты.

Стадия II. Среднетяжелое течение ХОБЛ.

Эта стадия, при которой пациенты обращаются за медицинской помощью в связи с одышкой и обострением заболевания.

Характеризуется увеличением обструктивных нарушений ($50\% \leq ОФВ_1 < 80\%$, $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$). Отмечается усиление симптомов с одышкой, появляющейся при физической нагрузке.

Наличие повторных обострений влияет на качество жизни пациентов и требует соответствующей тактики лечения.

Стадия III. Тяжелое течение ХОБЛ.

Характеризуется дальнейшим увеличением ограничения воздушного потока ($30\% \leq ОФВ_1 < 50\%$, $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$), нарастанием одышки, частоты обострения заболевания, что влияет на качество жизни пациентов.

Стадия IV. Крайне тяжелое течение ХОБЛ.

На этой стадии качество жизни заметно страдает, а обострения могут быть угрожающими для жизни. Болезнь приобретает инвалидизирующее течение.

Характеризуется крайне тяжелой бронхиальной обструкцией ($ОФВ_1 \leq 30\%$ от должной или $ОФВ_1 < 50\%$ от должной при наличии дыхательной недостаточности, $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$).

Дыхательная недостаточность: парциальное напряжение кислорода в артериальной крови (P_{aO_2}) менее 8.0 кПа (60 мм рт.ст.) в сочетании (или без) P_{aCO_2} более 6.0 кПа (45 ммрт.ст.) (на уровне моря).

Стадию “0” следует рассматривать в качестве предболезни, далеко не всегда реализующиеся в ХОБЛ.

В зависимости от состояния бронхиальной проходимости ($ОФВ_1$ в % от должной величины), а также клинического состояния нами было рассмотрено три степени тяжести: легкая, средняя и тяжелая. Из обследуемых были исключены больные с крайне тяжелой степенью тяжести. Исходя из этой классификации, легкая степень тяжести была у 38% обследованных больных, у 43% средняя и у 19% тяжелая.

Одышка, которая является основным клиническим признаком при ХОБЛ, встречалась у 62% больных. Кашель наблюдался у всех больных. Выявлялось выделение мокроты различного характера. Чаще всего кашель носил постоянный характер 42% (табл. 3).

На основании проведенных параклинических исследований было зафиксировано, что у 50% обследованных больных наблюдалось развитие перибронхиального пневмосклероза, которое проявлялось в виде усиления легочного рисунка и уплотнением корней легкого при рентген-исследовании грудной клетки (табл. 4). Увеличение же воздушности легких было вызвано нарушением бронхиальной проходимости и у 30% больных определялось как «эмфизема легких». Именно хроническая диффузная обструктивная эмфизема легких и есть истинная вторичная эмфизема легких в узком смысле слова.

Таблица 3

**Клинические данные у больных хронической обструктивной
болезнью легких до лечения**

Объективные данные и жалобы	Количество больных n=346	
	абс	%
Кашель • периодический • постоянный, наиболее выраженный по утрам • постоянный	130 71 145	38 20 42
Мокрота • слизистая • слизисто-гнойная • гнойная	77 219 50	22 63 15
Одышка • нет • при тяжелой физической нагрузке • при умеренной нагрузке • в покое	131 123 70 22	38 36 20 6
Цианоз • отсутствует • после физической нагрузки • постоянный	170 98 78	49 28 23

**Параклинические данные у больных хронической
обструктивной болезнью легких**

Параклинические данные	Количество больных	
	Абс	%
Аускультативно • везикулярное дыхание • рассеянные сухие хрипы • разнотембровые сухие и разнокалиберные влажные хрипы	83 151 112	24 44 32
Перкуторно • ясный легочный звук • коробочный звук	261 85	75 25
Рентгенологические данные • патологии нет • усиление и деформация легочного рисунка • гипервоздушность легочной ткани, гипертензия в малом кругу кровообращения	69 172 105	20 50 30

У всех больных в той или иной степени имело место нарушение вентиляционных функций легких. У 36% больных выявлялся обструктивный тип нарушения ВФЛ, а у 64% - смешанный (табл. 5).

Анализ ЭКГ показал, что у обследованных больных наблюдаются изменения различного характера, у 30% больных – гипертрофия правых отделов сердца.

Таблица 5

Распределение больных по типу нарушений вентиляционной функции легких

Тип нарушений	Количество больных	
	абс	%
Обструктивный	125	36
Рестриктивный	-	-
Смешанный	221	64

Обследованные больные были разделены на три группы в зависимости от получаемой терапии:

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

2.3 Общая характеристика проводимой терапии

Больные I-ой 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, препараты разжижающие мокроту), бронходилататоры, общеукрепляющие лекарственные средства.

Больным II-ой группы на фоне стандартного медикаментозного лечения проводили сеансы мембранного плазмафереза.

Плазмаферез – это процедура по изъятию из периферической крови плазмы с возвращением в кровоток остальных фракций. Мембранный плазмаферез носит универсальный характер, так как удаляются все без исключения токсические вещества, меньшие по размерам, чем клетки крови, а удаленные полезные белки компенсируются плазмазаменителями.

Плазмаферез имеет ряд преимуществ. Прежде всего, это эффективная методика очистки крови, экономичная во времени и простая в применении. Он включается в комплекс лечения при неэффективности общепринятой терапии заболеваний, вызванных нарушениями иммунитета, обмена веществ, интоксикацией.

Вследствие нарушения кровообращения, повышения концентрации токсинов в крови, антител и иммунных комплексов возникает “блокада” естественных систем “очищения” и защиты: печени, почек, легких, системы иммунитета. Токсические вещества попадают в лимфатическую систему, кровеносное русло и в большом количестве циркулируют в крови. Далее они откладываются в тканях, вызывая повреждение органов. ПА позволяет деблокировать этот процесс [35, 37].

Лечебное действие плазмафереза включает иммуностимулирующий, противовоспалительный, детоксикационный эффекты за счет: 1) удаления циркулирующих иммунных комплексов, уменьшения концентрации антигенов и антител; 2) удаления микробов, токсинов, конечных продуктов обмена веществ с плазмой; 3) удаления факторов воспаления; 4) удаления прокоагулянтов, криоглобулинов – веществ, повышающих свертываемость крови; 5) восстановления чувствительности клеточных рецепторов [85].

Одним из механизмов ПА, который обеспечивает лечебный эффект, является деплазмирование клеточных элементов. Вместе с плазмой удаляются адсорбированные на поверхности клеток патологические элементы, изменяется жизнедеятельность клеток,

возникают новые взаимодействия с другими клетками и регулирующими факторами [16]. Механизм детоксикационного эффекта связан не только с удалением компонентов плазмы, но и с общей реакцией организма на эксфузию.

Иммунокорригирующее действие ПА оказывает при хронических неспецифических заболеваниях легких и плевры. Применение ПА при гнойных заболеваниях легких и плевры позволяет удалить токсические факторы плазмы, иммунные комплексы и адекватно заменить часть плазмы [15, 92].

Сеансы лечебного ПА проводили в отделении гравитационной хирургии Гематологического центра МЗ РА с соблюдением правил асептики и антисептики и мониторингом клинического состояния и гемодинамических показателей крови. У всех больных рассчитывался процент КОД до и после проводимого лечения.

Мембранный плазмаферез проводили на аппарате “Гемофеникс”. Аппарат может работать в двух режимах – “Прокачка”, использовался в период заполнения экстракорпорального контура и восполнения удаляемой плазмы плазмазамещающими растворами, когда аппарат выполняет функции простого насоса по крови, и “Работа” – при проведении собственно плазмафереза.

Автоматизация процедуры плазмафереза в таком адаптивном режиме, многоуровневая система обеспечения безопасности, непрерывный мониторинг и управление функциями аппарата позволяет говорить о более высокой безопасности процедуры. В аппарате используются два электромагнитных клапана, каждый из которых пережимает по три трубки магистрали одновременно. Использовался комплект одноразовых стерильных магистралей и плазмафильтров производства НПО “Новопласт”.

После венепункции одной из центральных или локтевых вен и подключения инфузионного узла к венозному катетру пациента аппарат переводили в режим “Работа” и начинался собственно плазмаферез. Нормальный режим работы сопровождался постепенно нарастающим дефицитом возвращаемого объема, который восполнялся периодическим, порционным возмещением плазмазамещающими растворами, после удаления плазмы в объеме 100-300 мл (в зависимости от массы тела больного).

После пропускания 150-200 мл изотонического раствора натрия хлорида поток, выходящий из плазмафилтра, значительно очищается, скорость изгнания нормализуется и можно продолжать перфузию, переходя на забор крови. Таким образом, процесс восполнения удаляемого объема плазмы сопровождается реставрацией и проходимости, и фильтрационной способности плазмафилтра, что позволяет значительно дольше сохранять его качество в процессе плазмафереза.

В данном аппарате используется насос желудочкового типа, производительность его определяется ударным объемом, составляющим 10 мл. Поэтому в течение каждой фазы забора крови требуется добавление к ней раствора натрия цитрата в соотношении 1:18 при использовании гепарина. При суммарном ударном объеме насоса в 10 мл эта доза цитрата составляет от 2 до 0,5 мл. При гиперкоагуляции дозу антикоагулянта увеличивали, а при гипокоагуляции – уменьшали. В случаях с повышенной вязкостью (при гематокрите свыше 45%) не было нужды увеличивать дозу натрия цитрата или гепарина, а просто дополнительно разбавляли забираемую кровь, т.е. создавали “экстракорпоральную гемодиллюцию” добавлением к потоку крови антикоагулянта и изотонического раствора натрия хлорида в соотношении 1:2 с удаленной плазмой.

Завершали процедуру возмещением удаляемой плазмы физ. раствором. Отсоединяли систему от венозного катетра, продолжая в случае необходимости плановую инфузионную терапию.

Мембранный плазмаферез проводили от 1 до 3 сеансов на фоне базисной терапии. При мембранном плазмаферезе за один сеанс удаляли 600-1200 мл плазмы. Процедуры проводились с интервалом от 2 до 5 дней.

Больным III группы в комплексе с традиционной медикаментозной терапией проводили иммуномодулирующую терапию. В комплекс лечебных мероприятий был включен препарат ***инозин пранобекс (гроприносин, изопринозин)***. Этот препарат относится к фармакотерапевтической группе иммуностимулирующих средств.

Он является иммуностимулирующим препаратом с противовирусным действием. 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. Инозин пранобекс подавляет репликацию ДНК и РНК вирусов посредством связывания с рибосомой зараженной вирусом клетки, вызывает изменения их конфигурации и ее стереохимического строения. Клеточная РНК получает преимущества перед вирусной РНК в конкуренции за места связывания на рибосомах. Вирусная РНК транслируется неправильно или образуется нетранслируемая вирусная РНК. В итоге подавляется репликация вируса, повышается скорость транскрипции РНК лимфоцитов. Следовательно, инозин пранобекс обладает двойным механизмом противовирусного действия – подавление репликации ДНК и РНК вирусов и активация противовирусного иммунитета.

Иммуномодулирующий эффект при использовании инозин пранобекса проявляется активацией системы комплемента, синтеза эндогенного IFN и усилением гуморального иммунного ответа (повышается синтез антител). 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. При наличии вторичного клеточного иммунодефицита проявляется тимозиноподобное действие препарата: усиление дифференцировки и пролиферации Т-лимфоцитов, регуляция соотношения субпопуляций хелперных и супрессорных клеток, повышение функциональной активности Т-лимфоцитов и синтеза IL-2, активация естественных киллеров и фагоцитоза.

Препарат усиливает защитные свойства организма, стимулирует функцию макрофагов, пролиферацию лимфоцитов и выработку лимфокинов. Восстанавливается функция лимфоцитов в условиях иммунодепрессии, повышается бластоцентез в популяции моноцитарных клеток, стимулируется экспрессия мембранных рецепторов на поверхности Т-хелперов, предупреждает снижение активности лимфоцитарных клеток под влиянием глюкокортикостероидов, нормализует включение в них тимидина. Препарат также повышает

продукцию IgG, γ -интерферона, ИЛ-1 и ИЛ-2, снижает образование провоспалительных цитокинов – ИЛ-4 и ИЛ-10, потенцирует хемотаксис нейтрофилов, моноцитов и макрофагов.

Препарат применяется как в лекарственных, так и в профилактических целях. Доказана высокая безопасность инозин пранобекса: отсутствие антигенности, передозировки и гиперстимуляции иммунитета (обеспечивается физиологичный иммунный ответ). Препарат не токсичен, хорошо переносится даже при длительных курсах терапии. Совместим с антибактериальными препаратами, IFN, противовирусными средствами. Назначение инозин пранобекса возможно без специальных иммунологических исследований, на основании клинической симптоматики. Применяется у пациентов всех возрастных групп (у детей – с 3 лет). Его назначение обусловлено действием его активных компонентов, и их способность бороться с вирусами. Поэтому препарат назначается для борьбы с заболеваниями, вызванными вирусной атакой. Среди таких заболеваний можно выделить грипп, острые вирусные инфекции, бронхит вирусного происхождения, аденовирусные инфекции. Также препарат проявляет эффективность в борьбе с такими вирусами, как вирус герпеса, поэтому его применяют для лечения и профилактики герпетической инфекции различной этиологии. Он является эффективным лекарственным средством для восстановления сниженного иммунного статуса, обусловленного различными инфекциями.

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.

Способ применения и дозы. Препарат выпускается в таблетках по 500 мг (можно ломать). Назначается перорально после еды через равные промежутки времени (8 или 6 ч) 3–4 раза в сутки. Для лечения гриппа и других ОРВИ взрослым назначается по 2 таблетки 3 раза в день в течение 5–14 дней. Профилактика: по 1 таблетке 2 раза в сутки в течение 4 нед. Детям от 3 до 12 лет лечебная суточная доза – 50 мг/кг массы тела, в среднем 1 таблетка на 10

кг массы тела 3 раза в день в течение 5–10 дней. Возможны другие схемы использования инозин пранобекса.

Показания к применению. Вирусные инфекции у пациентов с нормальной и ослабленной иммунной системой: заболевания, вызванные вирусами кори, паротита; вирусами папилломы человека; герпес-вирусами (ВПГ 1-го и 2-го типов, ветряная оспа – опоясывающий герпес, вирус Эпштейна-Барр, цитомегаловирус); вирусный бронхит, острые и хронические вирусные гепатиты В и С; подострый склерозирующий панэнцефалит; хронические инфекционные заболевания дыхательной и мочевыделительной систем; профилактика инфекций при стрессовых ситуациях; период реконвалесценции у послеоперационных больных и лиц, перенесших тяжелые заболевания; иммунодефицитные состояния (ВИН).

Функциональные исследования включали спирографию, определение артериального давления. Спирография проводилась на аппарате “Спирограф-СМП-21/01-Р-Д” (Россия, Ростов-на-Дону, ООО НПП “Монитор”) до и после проводимого лечения. Определяли следующие показатели: $ОФВ_1$, ЖЕЛ, $ОФВ_1/ЖЕЛ$, $МОС_{25}$, $МОС_{50}$, $МОС_{75}$. Должные величины определяли по вычислительной системе спирографа в соответствии с возрастом, полом и антропометрическим данным, согласно международным стандартам.

Артериальное давление измеряли по методу Короткова.

Статистический анализ клинических данных проводили с использованием SPSS 16 пакета программного обеспечения, и тест χ^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 ($M \pm \sigma$). Достоверность различий количественных показателей определялась с помощью t критерия достоверности Стьюдента. Обработка проводилась с использованием программы Excel 7.0 фирмы Microsoft.

2.4 Метод определения активности перекисного окисления липидов

Определение активности ПОЛ проводили общепринятым методом М. Mihara и других [244] по выходу малонового диальдегида (МДА). В основе метода лежит реакция МДА с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), в ходе которой при 100°C и кислом значении pH (pH 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 мкмоль МДА на 1л крови.

2.5 Метод определения активности фосфолипазы A₂ в тканях и крови

Определение активности фосфолипазы A₂ проводили в лимфоцитах крови. Лимфоциты выделяли по стандартной методике Innes [220] в градиенте свежеприготовленного 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 (10⁵-10⁶ клеток/мл) в минимальной основной среде Игла (pH-7,4).

Активность фосфолипазы A₂ определяли спектрофотометрическим методом [206] в модификации П.А.Казаряна.

Суть модификации заключалась в использовании в качестве субстрата постоянного количества ФЛ, а именно ФХ, вместо предложенного в методе [206] раствора яичного желтка. Для приготовления раствора ФХ 1 г ФХ растворяли в 10 мл метанола, добавляли 3 мг твина-20 и доводили бидистиллятом до 20 мл. При необходимости раствор фильтровали.

В состав инкубационной смеси (рН 9,5) входили: 0,1 М раствор глицил-глицина, 1 М раствор $MgCl_2$, 1 % раствор $CaCl_2$, индикатор – крезол-красный. К 2,7 мл инкубационной смеси добавляли 0,1 мл раствора ФХ, 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 x 100).

2.6 Метод определения качественного и количественного состава фосфолипидов

Общие липиды экстрагировали из ацетоновых порошков лимфоцитарных мембран в течение 2-5 часов. После экстракции смесью хлороформ: метанол (2:1 по объему) содержимое сосуда фильтровали в грушевидную посуду. Затем экстракт высушивали с помощью ротационно-вакуумного испарителя. Осадок липидов растворяли в хлороформе и использовали для нанесения на пластинку размером 20x20x0,3 см.

Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществляли методом тонкослойной хроматографии в модификации Казаряна П.А. [65] на закрепленном слое силикагеля марки ЛС 5/40 мк. Вышеупомянутый адсорбент ЛС содержит гипс (13%) для получения пластинок с закрепленным слоем.

Для разделения ФЛ методом одномерной хроматографии использовали систему растворителей хлороформ: метанол: вода (65:25:4 по объему). Для разделения в одномерной системе на одну стандартную пластинку с помощью микродозатора наносили 8 проб вещества. 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.

После идентификации соответствующие зоны силикагеля переносили в пробирки, добавляли по 0,15 мл 60%-ной хлорной кислоты и сжигали в песчаной бане при 180°C до полного обесцвечивания.

Контролем служила свободная от ФЛ зона силикагеля, равная обугленной. Затем определяли содержание липидного фосфора по Светашеву. Для этого в охлажденные пробирки добавляли по 0,86 мл реагента следующего состава: 6,6 мл H_2O ; 1,0 мл 2,5%-ного раствора молибдата натрия; 1,0 мл 10%-ной аскорбиновой кислоты.

После инкубации пробирки для осаждения силикагеля центрифугировали при 6000 об./мин в течение 5 минут и фотометрировали при 815 нм. Содержание ФЛ выражали в процентах от суммы.

2.7 Метод определения активности АТФаз

Активность Na^+ , K^+ -АТФазы определяли по разнице между общей и Mg^{2+} -АТФазной активностями. Общую АТФазную активность определяли в среде, содержащей 3 мМ АТФ, 50 мМ трисHCl, 20 мМ KCl, 100 мМ NaCl и 5 мМ MgCl_2 . В среду для определения Mg^{2+} -АТФазной активности, помимо названных веществ, добавляли 0,1 мМ убаин.

Реакцию начинали добавлением субстрата (АТФ), инкубировали 15 мин при 37°C и останавливали добавлением 5% раствора трихлоруксусной кислоты. Об АТФазной активности судили по накоплению неорганического фосфора в инкубационной среде [247]. Оптическую плотность измеряли при длине 700 нм.

Активность выражали в мкг неорганического фосфора на 1 мг белка. Содержание белка в пробах определяли по методу Lowry et al. [237].

2.8 Метод определения активности экто-5'-нуклеотидазы

Определение активности экто-5'-нуклеотидазы проводили по методу [193] в инкубационной среде, содержащей 5 мМ АМФ, 25 мМ трисHCl, 100 мМ CaCl_2 , 50 мМ MgCl_2 . 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.

Активность выражали в мкг неорганического фосфора на 1 мг белка. Содержание белка в пробах определяли по методу Lowry et al. [237].

2.9 Методы исследования гуморального звена иммунитета

Исследование гуморального звена иммунитета включало определение в сыворотке содержания иммуноглобулинов классов А, М и G, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

Определение содержания иммуноглобулинов классов А, М и G проводили методом радиальной иммунодиффузии в агарозном геле по Mancini с использованием моноспецифических сывороток против IgA, IgM, IgG [240].

Принцип метода заключается в оценке диаметра колец преципитации, возникающих при взаимодействии в геле антигена (иммуноглобулина исследуемой сыворотки) и антитела (антител к иммуноглобулинам человека, содержащимся в стандартных антисыворотках).

Стандартные антисыворотки с антителами к IgG, IgM, IgA смешивали с растопленным агаром, полученную смесь заливали на специальные пластины. После ее застывания на каждой пластине специальным пробойником делали 35 лунок диаметром 2 мм. В лунки микропипеткой вносили по 2 мкл последовательных разведений (1:1, 1:2,1:8) стандартной сыворотки с известной концентрацией иммуноглобулинов и такое же количество разведений исследуемой сыворотки.

Пластины инкубировали при 4°C в течение 24 ч. Антиген (иммуноглобулин исследуемой сыворотки) диффундировал в слое агара, содержащего антитела к человеческим иммуноглобулинам, в результате чего вокруг лунок образовывались кольца преципитации. Вначале оценивали размеры колец преципитации вокруг лунок, в которые были внесены стандартные сыворотки различного разведения с известной концентрацией иммуноглобулинов.

По этим результатам для каждой пластины строили кривую, отражающую зависимость между диаметром кольца преципитации и концентрацией иммуноглобулина. Затем измеряли диаметр колец преципитации в испытуемом препарате и по стандартной калибровочной кривой определяли искомую концентрацию иммуноглобулинов.

Для определения ЦИК использовали метод осаждения (преципитации) ЦИК 3,5% 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.

2.10 Определение иммунофенотипа Т-лимфоцитов методом проточной цитофлюориметрии

Иммунофенотипирование больных проводили классическим методом проточной цитофлюориметрии. Венозную кровь у обследуемых пациентов забирали рано утром натощак в объеме 3–5 мл в пробирку, содержащую этилендиаминтетраацет калия в качестве антикоагулянта. 100 мкл крови помещали в пробирки, добавляли по 10 мкл моноклональных антител. Образцы тщательно перемешивали и инкубировали в темноте при температуре 2–8°C 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.

2.11 Выявление иммуноглобулинов классов М и G к капсидному антигену VCA вируса Эпштейна-Барр

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 М во время I инкубации происходит связывание специфических IgM к вирусу Эпштейна-Барр, содержащихся в образцах сыворотки крови, с иммобилизованными на поверхности лунок капсидным антигеном VCA вируса Эпштейна-Барр.

Во время II инкубации связавшиеся IgM вируса взаимодействуют 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.

ГЛАВА 3

СОБСТВЕННЫЙ МАТЕРИАЛ

3.1 Определение уровня IgG вируса Эпштейн-Барр при хронической обструктивной болезни легких

Обострения ХОБЛ в большинстве случаев провоцируются вирусной и бактериальной инфекцией верхних дыхательных путей и трахеобронхиального дерева [139, 264, 277]. При этом наблюдаются выраженные воспалительные явления, развивается гиперинфляция со снижением экспираторного потока, усиливается одышка [14].

Исследование больных с ХОБЛ проводилось с учетом активности патологического процесса, а также степени тяжести заболевания.

Актуальной проблемой современной медицины является высокая инфицированность населения одним из представителей герпесвирусов – вирусом Эпштейн-Барр, что дало основание для обследования больных с ХОБЛ и установления распространенности и роли данного вируса при этой патологии.

Результаты исследования выявили, что почти у всех обследованных больных с ХОБЛ выявилось повышение концентрации IgG-VCA вируса Эпштейна-Барр. Лишь у одного больного IgG был в пределах нормы, а у другого было обнаружено не только повышение концентрации IgG-VCA, но и концентрации IgM-VCA ВЭБ.

После проведенных лабораторных и инструментальных исследований данному больному был поставлен диагноз мононуклеоз. Он был исключен из списка обследуемых нами больных и был переведен в специализированную больницу для получения соответствующего лечения.

Как показали результаты исследования, у больных ХОБЛ наблюдалось явно выраженное, резкое увеличение концентрации IgG-VCA ($3,362 \pm 0,72$ против нормы $0,173 \pm 0,11$, $P < 0,01$) (рис. 1).

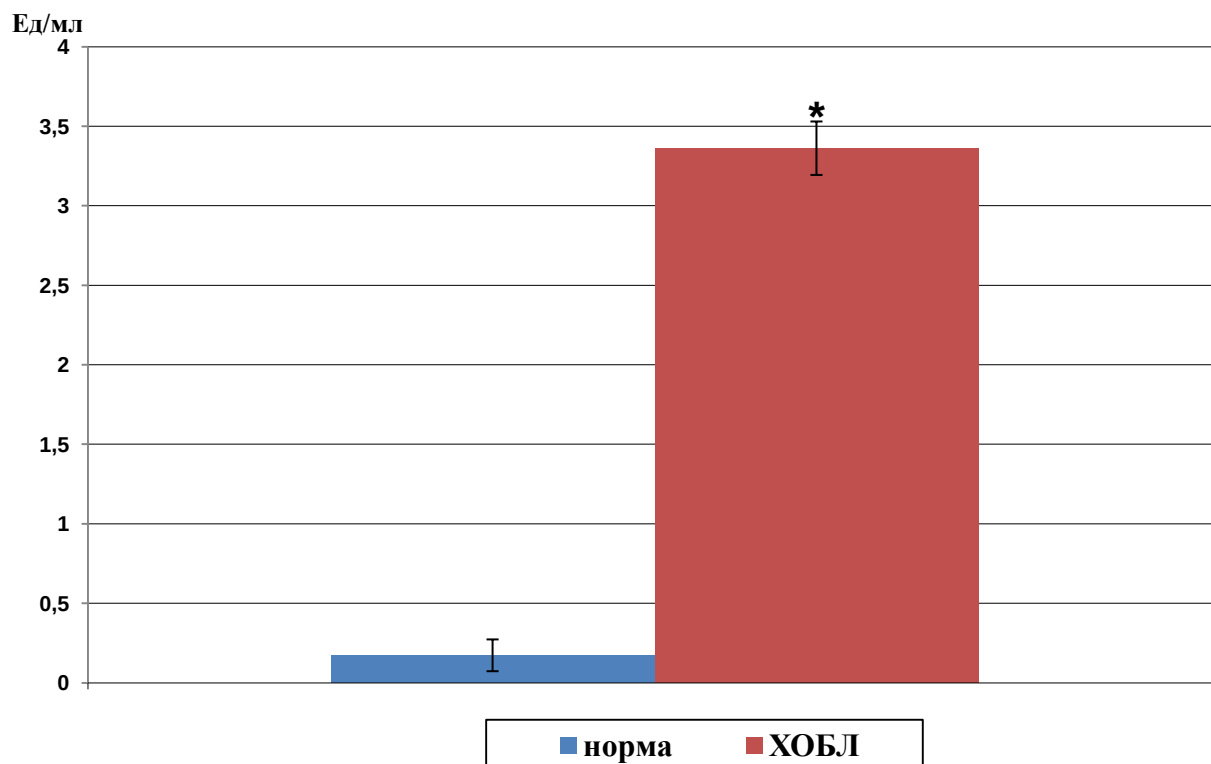


Рис. 1. Изменение концентрации IgG-VCA вируса Эпштейн-Барр при ХОБЛ (Ед/мл).

* - $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны; P – сравнение данных с нормой.

Далее мы проанализировали концентрацию IgG-VCA в зависимости от различных патологических состояний. Было выявлено, что у больных с эмфиземой легких наблюдалось резкое повышение концентрации IgG $3,566 \pm 1,23$, при обструктивной астме – $3,362 \pm 1,08$, тогда как при ХОБ обнаружилось наименьшее отклонение от нормы – $3,168 \pm 0,87$. Все полученные данные были статистически достоверны (рис. 2).

Обследование больных в зависимости от степени тяжести ХОБЛ выявило следующую закономерность. Концентрация IgG-VCA ВЭБ повышалась пропорционально степени тяжести заболевания. У больных с тяжелой степенью заболевания наблюдалось наибольшее повышение концентрации IgG вируса Эпштейна-Барр – $4,159 \pm 1,23$ по сравнению с нормой $0,173 \pm 0,11$.

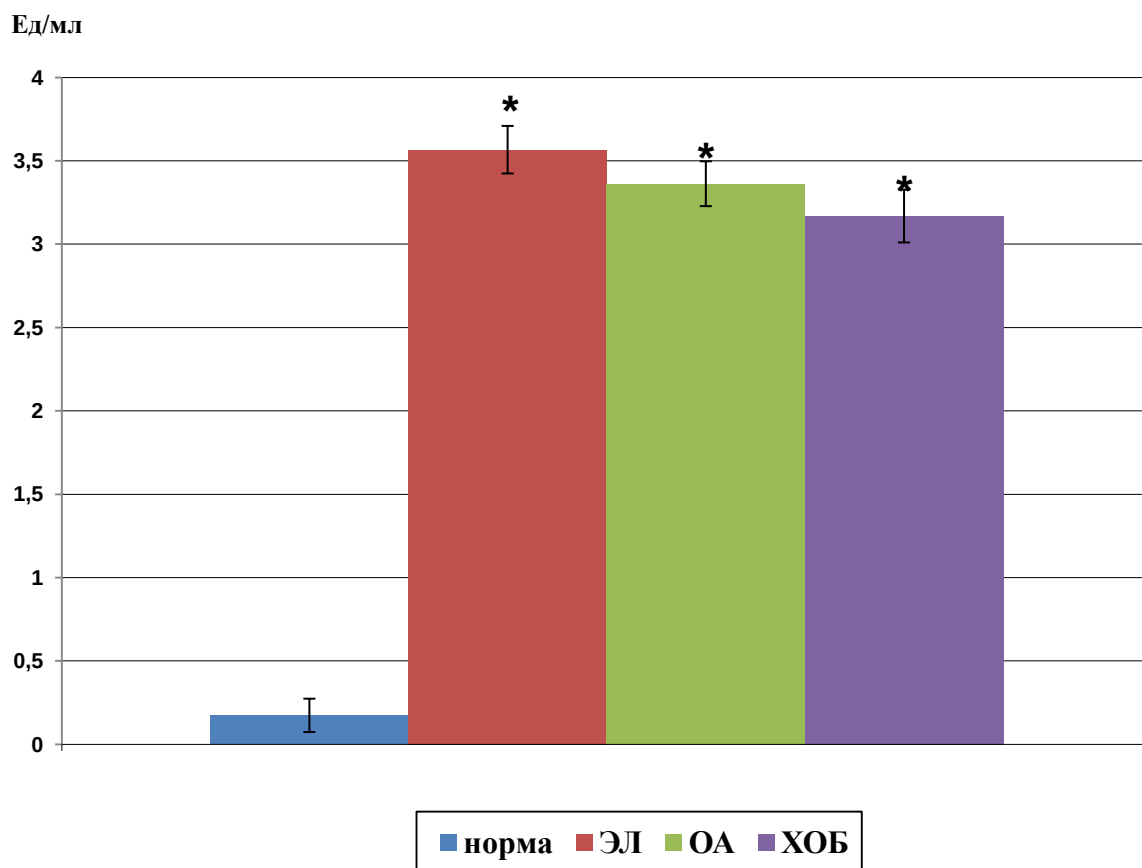


Рис. 2. Изменение концентрации IgG-VCA ВЭБ в зависимости от патологического состояния (Ед/мл). * - $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны; P – сравнение данных с нормой.

Средняя степень тяжести сопровождалась увеличением IgG-VCA до $3,486 \pm 1,12$, а при легкой степени – умеренное повышение данного показателя до $2,441 \pm 0,87$. Полученные данные были статистически достоверны (рис. 3).

Проанализировав данные, полученные в результате исследований можно заключить, что ХОБЛ сопровождается резким повышением концентрации IgG-VCA ВЭБ. При этом у больных с эмфиземой легких данный показатель подвергается более резким изменениям, чем при обструктивной астме или хроническом обструктивном бронхите. Наши исследования

также показали, что концентрация IgG-VCA повышается пропорционально степени тяжести ХОБЛ.

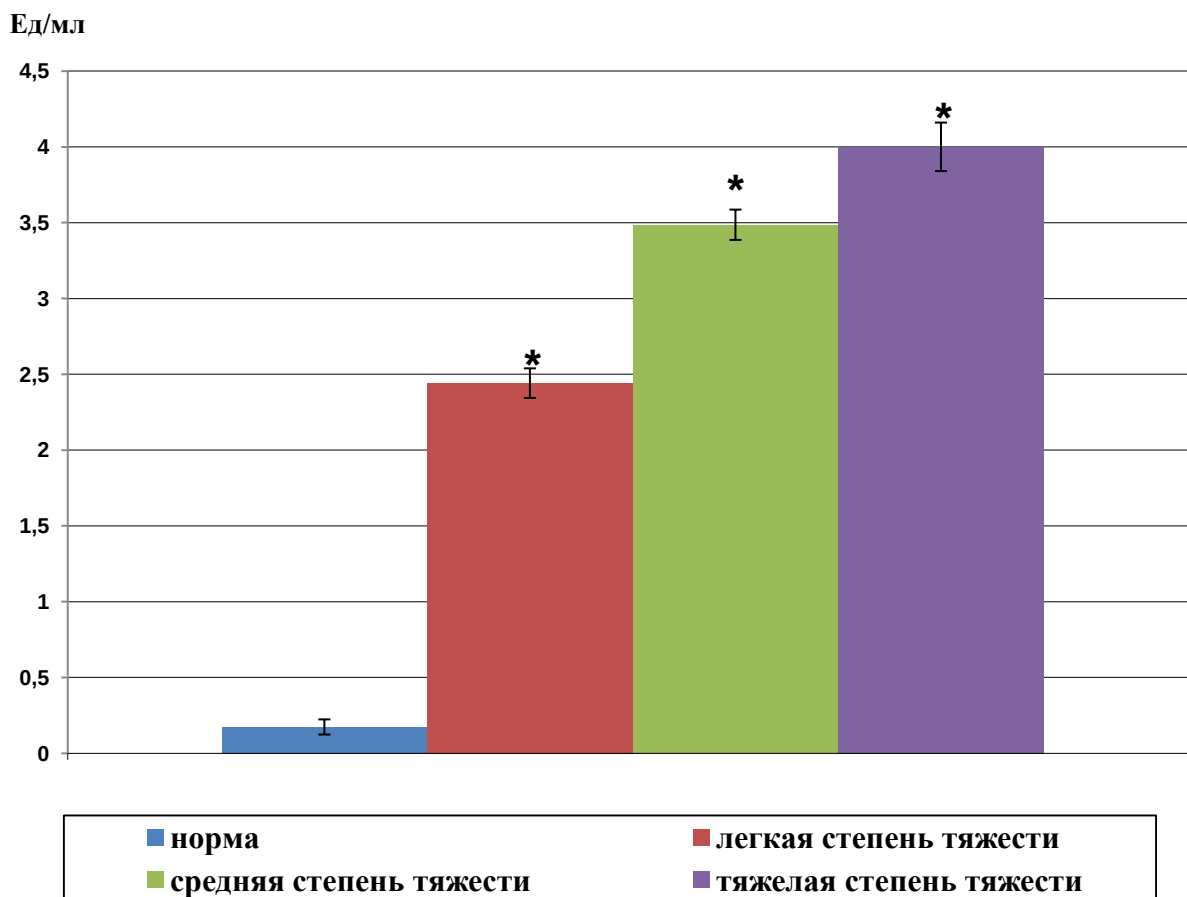


Рис. 3. Изменение концентрации IgG-VCA ВЭБ в зависимости от степени тяжести ХОБЛ (Ед/мл). * - $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны; P – сравнение данных с нормой.

Изменение концентрации IgG-VCA вируса Эпштейна-Барр, происходящее пропорционально степени тяжести заболевания и состоянию патологического процесса, возможно, является следствием того, что ВЭБ паразитирует в клетках иммунной системы (В-лимфоцитах), лишая их возможности выполнять предназначенные функции [55]. Подобное свойство вируса при определенных обстоятельствах вызывает в организме неуправляемые дегенеративные изменения.

3.2. Влияние различных методов терапии на уровень IgG-VCA вируса Эпштейн-Барр при ХОБЛ

В современной литературе важное значение придается респираторно-вирусным инфекциям. Известно, что продуктивный тип взаимодействия вируса с клеткой может приводить к длительной персистенции вируса, в то время как интегративный тип обуславливает латентное течение заболевания и вирусоносительство. Под воздействием ряда физических и химических факторов репродукция вируса может повторяться, и этот процесс может иметь длительное, иногда пожизненное течение.

Важным компонентом патогенного воздействия респираторно-вирусной инфекции является ухудшение мукоцилиарного клиренса и облегчение продвижения в нижние отделы дыхательных путей бактерий, а также альвеолярных макрофагов с блокадой внутриклеточных бактерицидных процессов. В результате создаются условия для присоединения бактериальной инфекции [187].

Микст-инфекция приводит к более тяжелому течению обострений и изменению клинической картины заболевания [167].

В связи с вышесказанным интересно было проследить за изменением концентрации IgG-VCA вируса Эпштейна-Барр после проводимых методов терапий у больных с ХОБЛ.

Как показали результаты исследования, после применения различных методов лечения концентрация IgG-VCA вируса Эпштейна-Барр имеет тенденцию к нормализации. Интересно, что наблюдаемая коррекция данного показателя при применении различных методов терапий происходит в различной степени.

Так, после лечения с применением иммуномодулирующего препарата у больных регистрируется выраженная нормализация концентрации данного показателя ($2,034 \pm 0,31$) в плазме крови. Больные, которые на фоне проводимого медикаментозного лечения получали плазмаферез, также показали существенное понижение исследуемого показателя

($2,094 \pm 0,31$). После медикаментозной терапии с применением стандартных схем лечения результат менее выражен ($3,012 \pm 0,53$) и статистически недостоверен (рис. 4).

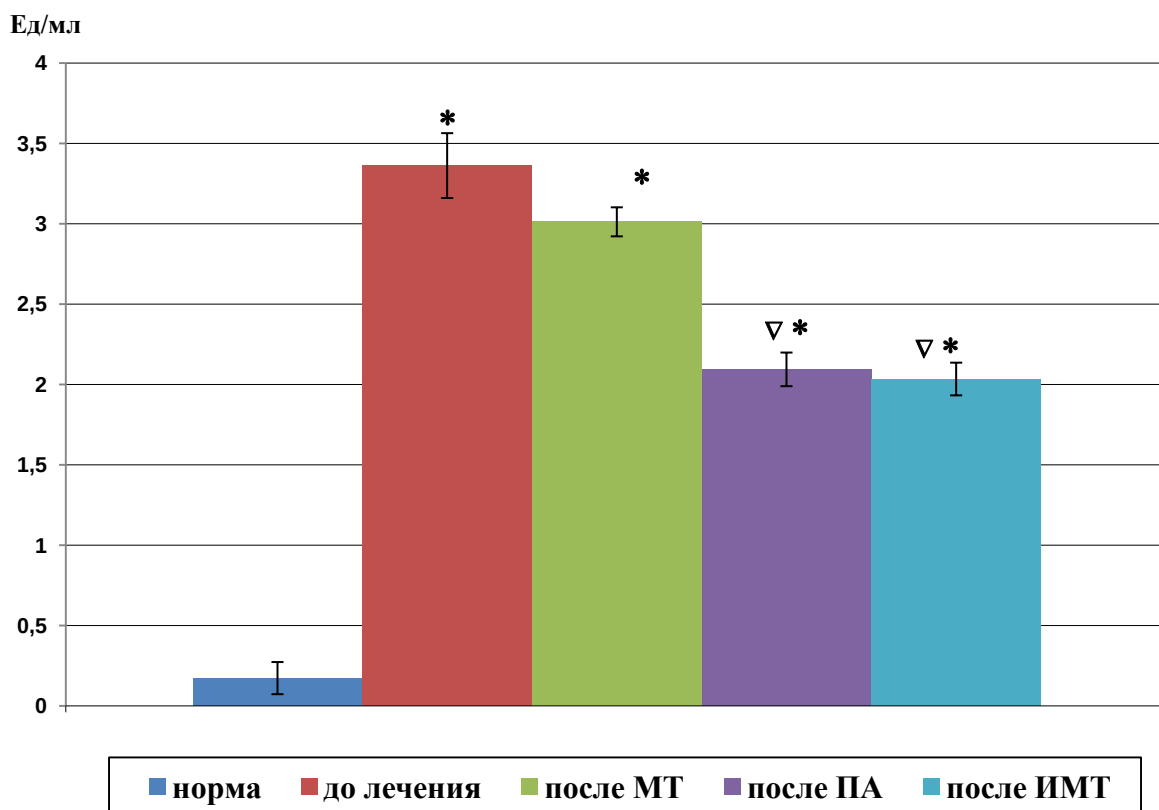


Рис. 4. Влияние различных методов терапии на концентрацию IgG-VCA вируса Эпштейн-Барр при хронической обструктивной болезни легких (Ед/мл). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с нормой.

При оценке эффективности проводимых методов терапии в зависимости от патологического процесса было выявлена интересная закономерность: при ОА тенденция к нормализации концентрации IgG-VCA ВЭБ была существенно (более чем в 2 раза) выше при использовании ПА (табл. 6).

Возможно, данный эффект связан с механическим удалением из циркуляторного русла антигенов и антител, повышая функциональную активность клеток. Взамен удаленным

клеткам из костного мозга поступают несенсибилизированные к тканям организма иммунные клетки. Более того, иммуностимулирующий, противовоспалительный, детоксикационный эффекты ПА реализуются за счет как удаления факторов воспаления, микробов и токсинов, так и восстановления чувствительности клеточных рецепторов.

Таблица 6

Изменение концентрации IgG-VCA при обструктивной астме после применения различных методов терапии (в Ед/мл)

Показатель	норма	до лечения n=346	после МТ n=115	после ПА n=115	после ИМТ n=116
IgG-VCA	0,173±0,11	3,362±0,72	2,932±0,56	1,624±0,12	1,876±0,27
вируса		P ₂ <0.05	P ₁ >0.5	P ₁ <0.01	P ₁ <0.01
Эпштейна- Барр			P ₂ <0.05	P ₂ <0.05	P ₂ <0.05

P₁ – сравнение данных после лечения с данными до лечения; P₂ – сравнение данных с нормой.

Применение иммуномодулирующего препарата инозина пранобекса в комплексе лечебных мероприятий также имело тенденцию к нормализации отклоненных показателей. Концентрация IgG-VCA ВЭБ при ОА снижалась до 1,876±0,27. Наименьшей эффективностью сопровождалось лечение с применением стандартных медикаментозных схем: уровень IgG-VCA ВЭБ достигал лишь 2,932±0,56.

Полученные нами данные свидетельствуют о высокой эффективности использования ПА у больных с ОА. Стоит также отметить об эффективности применения иммуномодулирующего препарата в комплексе лечебных мероприятий.

При рассмотрении данных, полученных при применении различных методов терапии у больных ХОБ, наибольший эффект был зарегистрирован при использовании инозина пранобекса: концентрация IgG-VCA ВЭБ уменьшилась в 2 раза.

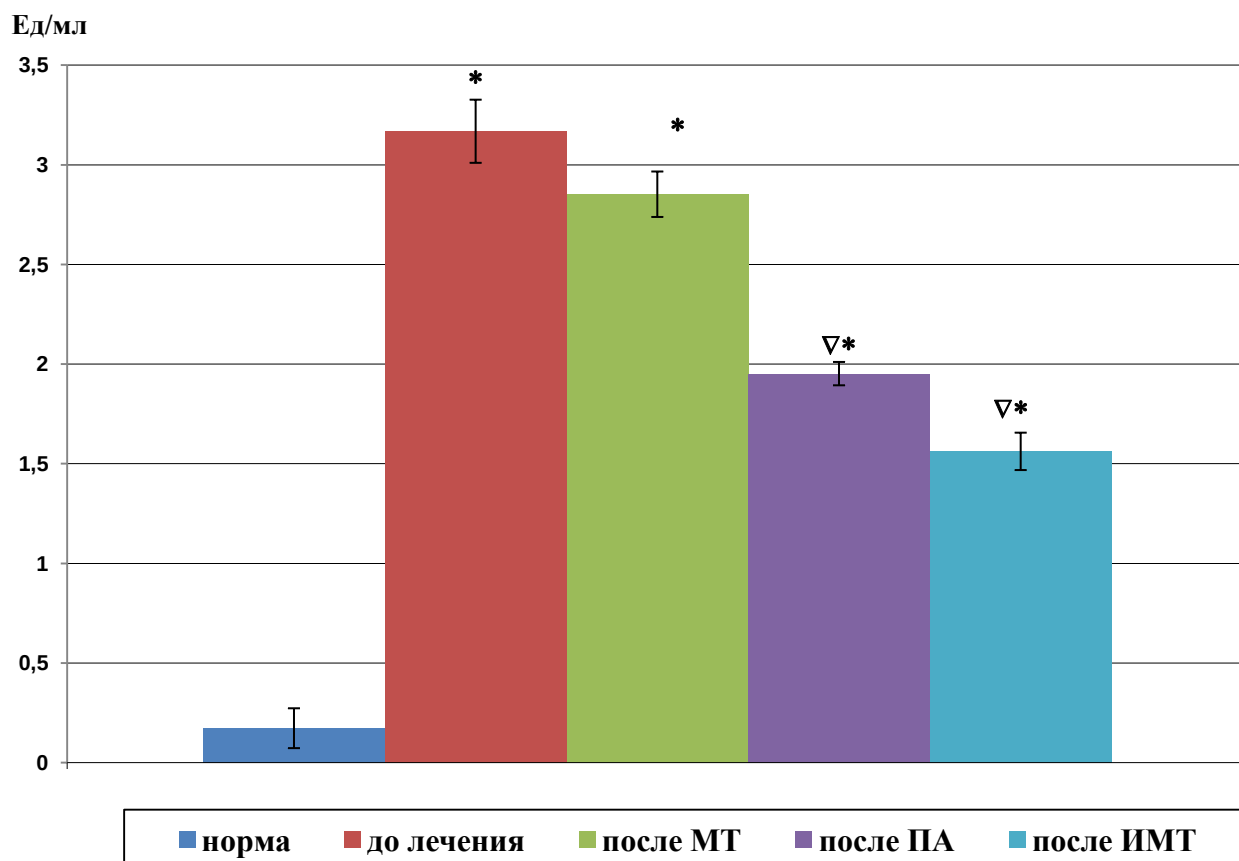


Рис. 5. Изменение концентрации IgG-VCA при хроническом обструктивном бронхите после применения различных методов терапии (в Ед/мл). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с нормой.

После сеансов ПА уровень IgG-VCA ВЭБ снижался в 1,6 раз и составлял $1,952 \pm 0,22$ Ед/мл. Как и в предыдущем случае, при ХОБ наименьший эффект от лечения также был отмечен после применения лишь стандартных схем терапии. Концентрация исследуемого параметра уменьшалась лишь в 1,1 раз – $2,852 \pm 0,62$ Ед/мл (рис. 5).

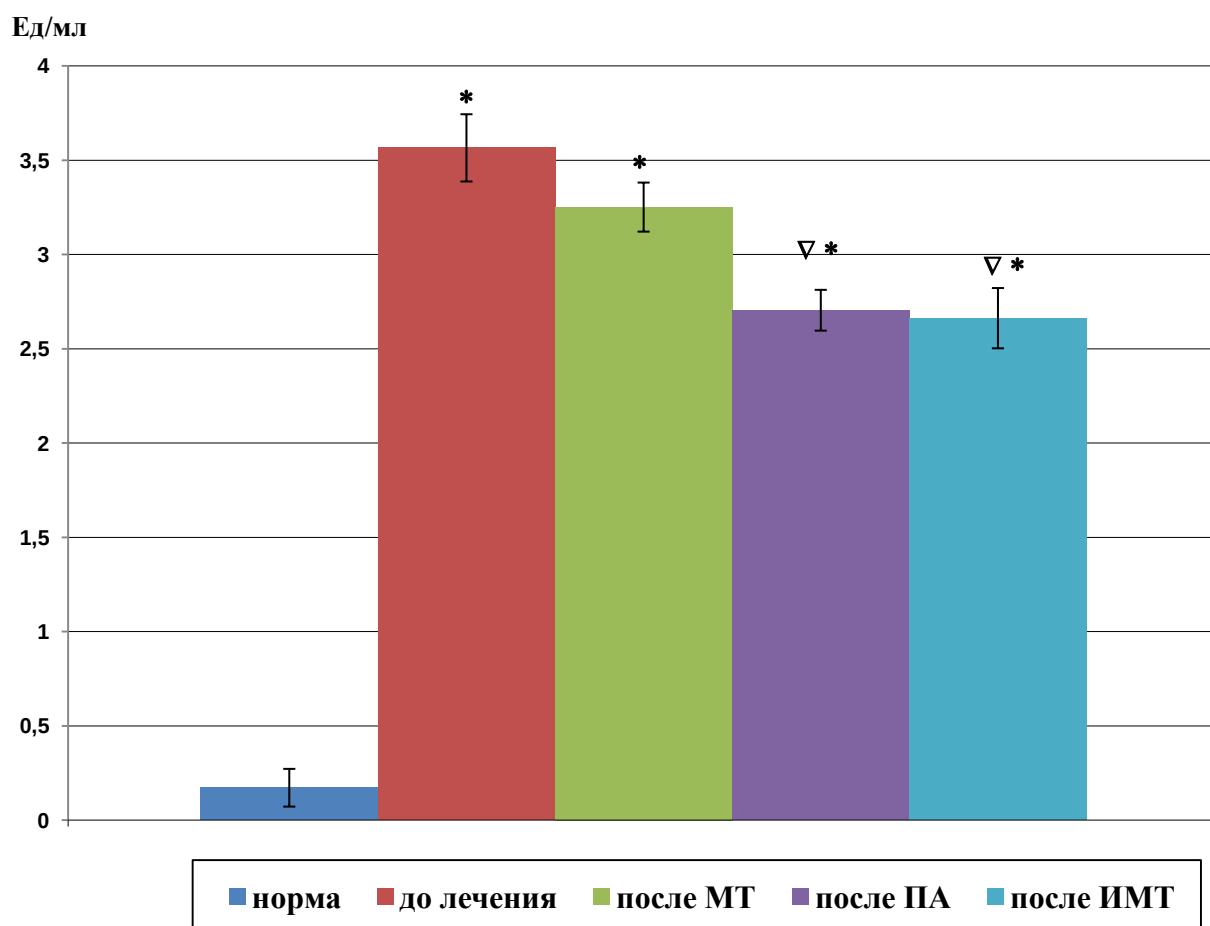


Рис. 6. Изменение концентрации IgG-VCA при эмфиземе легких после применения различных методов терапии (в Ед/мл). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ▽ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * – сравнение данных с нормой.

У больных с ЭЛ наблюдалось лишь незначительное снижение уровня исследуемого параметра при всех методах лечения. Коррекция отклонений после применения иммуномодулирующего препарата, равно как и ПА была более значимой, чем при использовании традиционной МТ – $2,663 \pm 0,32$, $2,705 \pm 0,65$ против $3,252 \pm 1,03$ Ед/мл соответственно (рис. 6).

Обобщая полученные результаты, можно констатировать, что как плазмаферез, так и препарат инозин пранобекс являются эффективными дополнениями к лечению по сравнению

со стандартной медикаментозной терапией при всех исследованных патологических состояниях. Проводимые сеансы плазмафереза более эффективны при ОА, а применение инозина пранобекса дает хороший эффект при ХОБ, при ЭЛ результаты этих двух методов терапии почти соизмеримы. Можно утверждать, что использование данных методов лечения нормализуют резкие отклонения концентрации IgG-VCA вируса Эпштейна-Барр.

3.3 Изменение уровня IgG-VCA вируса Эпштейн-Барр при хроническом обструктивном болезни легких в зависимости от степени тяжести заболевания и после применения различных методов терапий

По данным Европейского респираторного общества, только 25% случаев заболевания выявляется на ранних стадиях. Известно, что больные ХОБЛ обращаются за медицинской помощью уже на поздних стадиях заболевания, когда у них диагностируется дыхательное сердце и легочное сердце [133]. К первичным причинам обострения ХОБЛ относятся трахеобронхиальные инфекции, чаще вирусной этиологии [133].

Мы исследовали влияние различных методов терапии на концентрацию IgG-VCA вируса Эпштейна-Барр в зависимости от степени тяжести заболевания. Необходимо отметить, что при обработке этих данных была выявлена интересная закономерность, в связи с чем мы решили представить полученные данные по-отдельности.

При легкой степени заболевания изменения были значимы как при применении иммуномодулирующего препарата с противовирусным действием, так и процедур плазмафереза. Концентрация IgG-VCA вируса Эпштейна-Барр после применения комплексной терапии с назначением иммуномодулирующего препарата уменьшилась в 2,0 раза, при использовании ПА – в 2,2 раза. Надо отметить, что при проведении медикаментозной терапии по стандартным схемам также имело место коррекция отклоненного показателя – $2,362 \pm 0,33$ (рис. 7).

Изучение того же показателя у больных со средней степенью тяжести заболевания выявило схожую закономерность. Уровень IgG-VCA после применения как ПА, так и ИМТ препарата снизился почти в 2 раза, а после МТ – лишь в 1,1 раз (рис. 8).

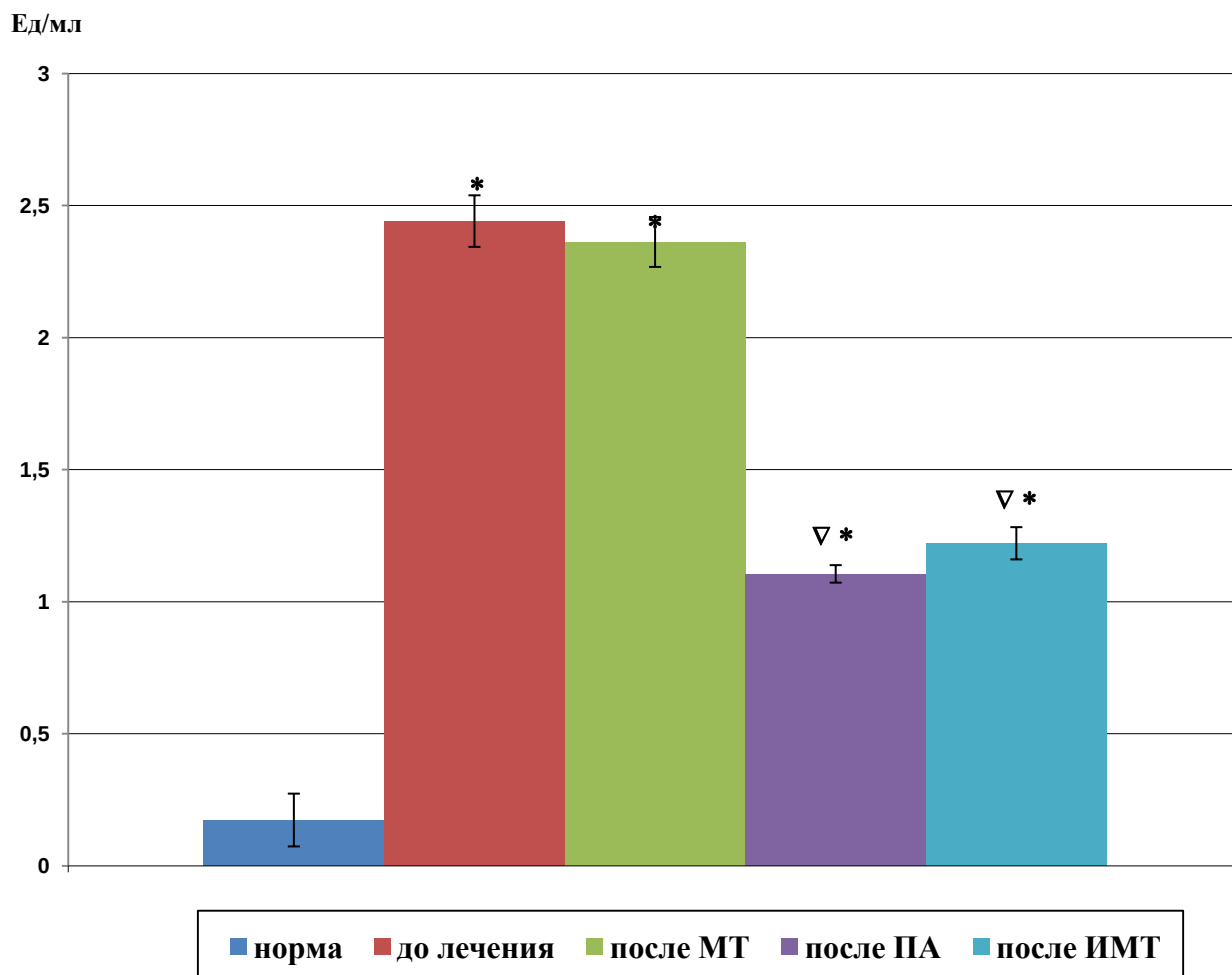


Рис. 7. Изменения концентрации IgG-VCA вируса Эпштейн-Барр при легкой степени ХОБЛ при применении различных методов терапий (Ед/мл). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с нормой.

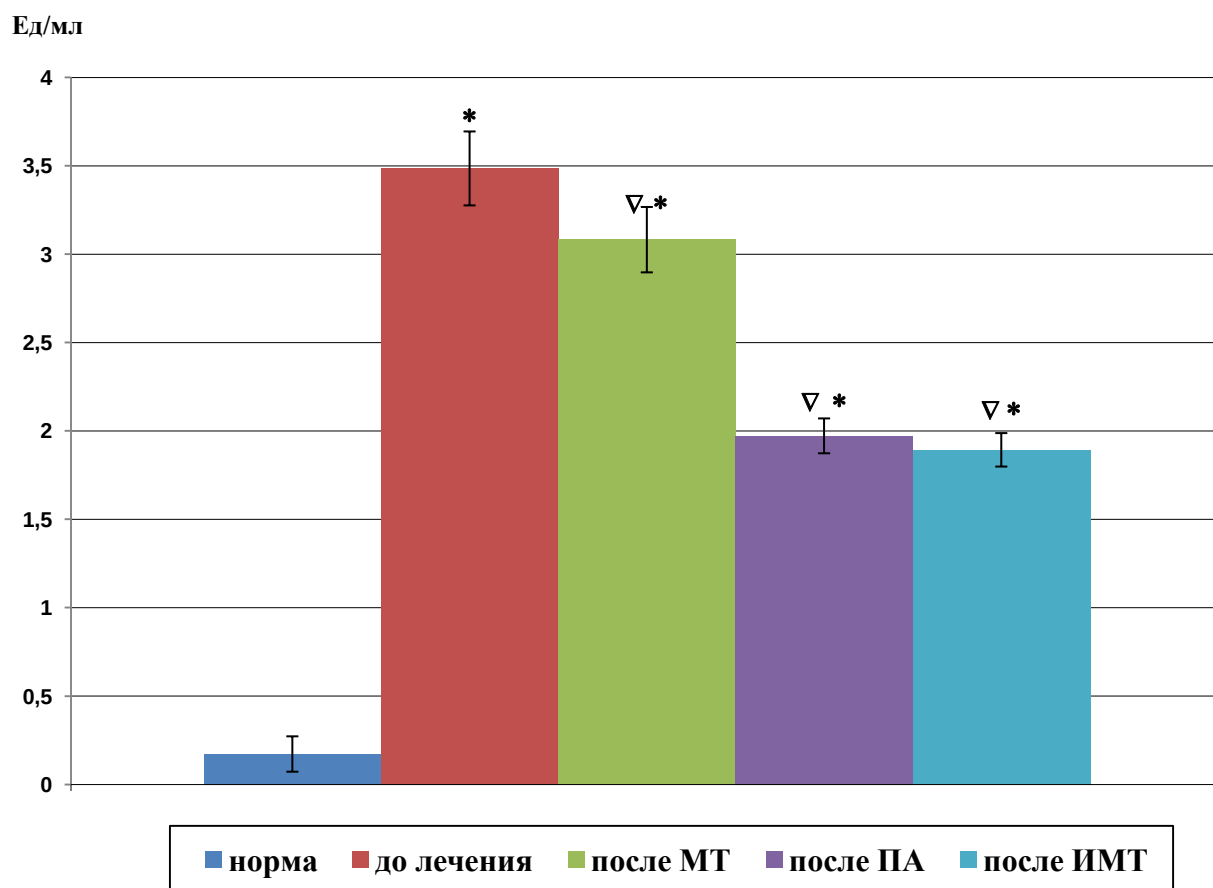


Рис. 8. Изменения концентрации IgG-VCA вируса Эпштейн-Барр при средней степени ХОБЛ при применении различных методов терапий (Ед/мл). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с нормой.

Из анализа данных, представленных на рисунках 7 и 8, становится очевидным, что как при легкой, так и при средней степени тяжести ХОБЛ более существенны изменения, наблюдаемые после ПА и ИМТ, а использование лишь МТ приводит к минимальным сдвигам в сторону нормализации данного показателя.

При рассмотрении данных, полученных при тяжелой степени ХОБЛ, было выявлено, что после лечения с применением инозин пранобекса концентрация IgG-VCA уменьшилась незначительно – в 1,2 раза, а после ПА в 1,3 раза. Между тем после использования

медикаментозной терапии концентрация IgG почти не менялась, оставаясь в пределах высоких величин – $3,591 \pm 0,37$ (рис. 9).

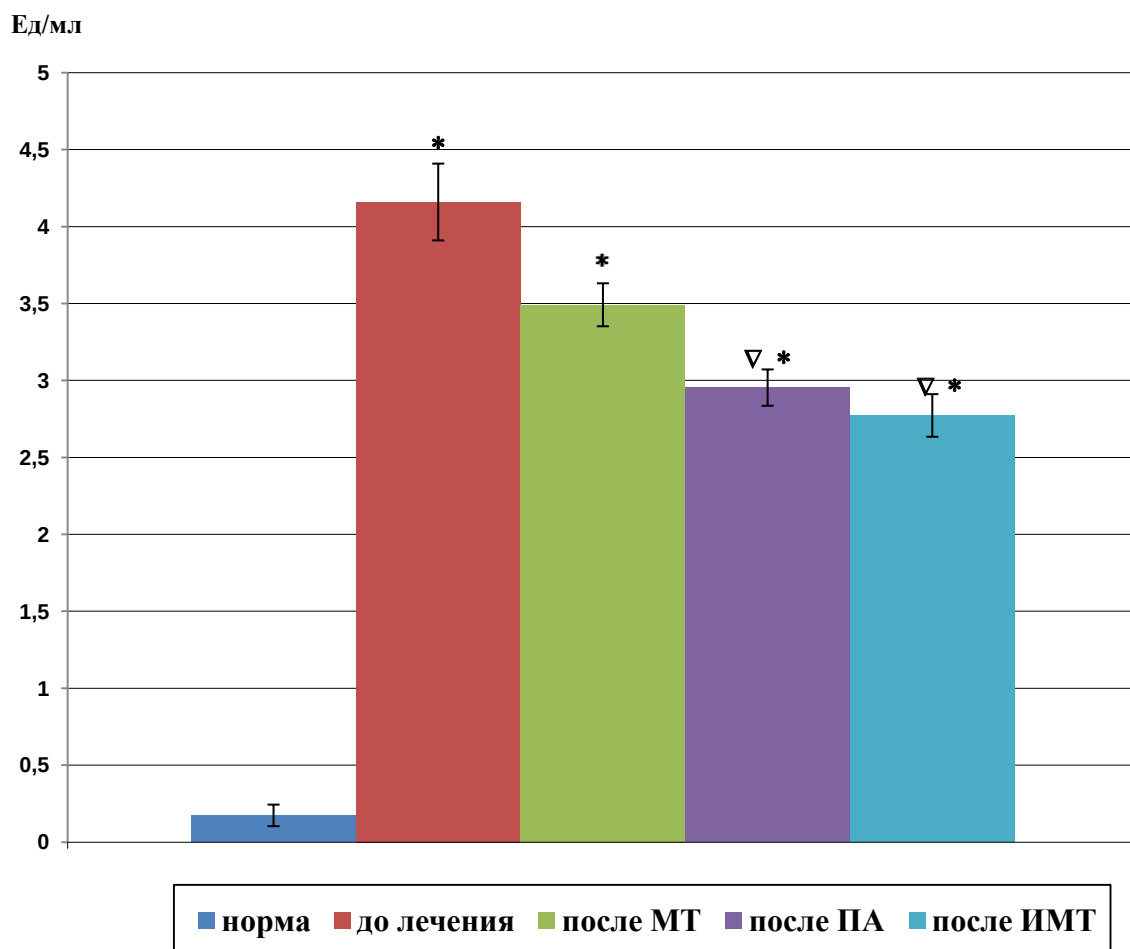


Рис. 9. Изменение концентрации IgG-VCA вируса Эпштейн-Барр при тяжелой степени ХОБЛ при применении различных методов терапий (Ед/мл). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с нормой.

Обнаруженные данные свидетельствуют о том, что как при легкой, так и при средней степени тяжести концентрация IgG подвергалась наибольшему изменению после применения иммуномодулирующей терапии и использования плазмафереза. Однако положительная динамика не наблюдалась при медикаментозной терапии с использованием стандартных схем лечения. При тяжелой степени заболевания концентрация IgG-VCA

вируса Эпштейна-Барр подвергалась положительной динамике при применении ПА и ИМТ, хотя и оставалась высокой.

При использовании МТ статистически достоверных изменений не наблюдалось.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что при легкой и средней степени тяжести ХОБЛ эффективными оказались комбинированные методы лечения с применением мембранного плазмафереза и препарата инозин пранобекса. При тяжелой степени заболевания все методы лечения оказались малоэффективными.

3.4 Изменение клинических данных больных хронической обструктивной болезнью легких после применения различных методов терапий

Современные препараты для терапии ХОБЛ, в первую очередь, длительно действующие бронходилататоры, позволяют уменьшить у пациентов выраженность симптомов. Однако у данной категории больных клинически значимая одышка сохраняется в 50–70 % случаев, несмотря на проводимую терапию.

Выявление пациентов на ранних стадиях ХОБЛ – достаточно сложная клиническая проблема. Между тем уже на ранних стадиях заболевания необходимо назначать активную терапию, поскольку у таких больных уже отмечается снижение физической выносливости и физической активности, а также наблюдается наиболее быстрая потеря легочной функции [3].

В последние десятилетия выполнены исследования, результаты которых существенно углубили понимание патогенеза ХОБЛ и расширили терапевтические возможности. Накоплен также большой объем публикаций по предотвращению обострений ХОБЛ [109].

Клинические наблюдения за больными ХОБЛ показали, что проводимая терапия оказывает различное влияние на больных в зависимости от активности патологического состояния и степени тяжести заболевания. Исходя из этого, все клинические изменения в

процессе лечения рассматривались в зависимости от степени тяжести заболевания, клинико-патологической картины заболевания, наличия осложнений, сопутствующих заболеваний и других факторов.

Терапия с включением препарата инозин пранобекса оказывает выраженное действие на интенсивность кашля и характер мокроты больных ХОБЛ. На фоне проводимого лечения наблюдалось уменьшение кашля и количества мокроты у больных с ХОБ. Больные с ОА также отмечали облегчение отхождения мокроты, что явилось признаком улучшения клинического состояния.

Основной симптом данной патологии – одышка, также подвергался изменению. Уменьшение одышки наблюдалось при всех патологических состояниях. У 58 больных (18%) к концу курса лечения одышка полностью исчезала (табл. 7).

Таблица 7

Изменение клинических параметров больных хронической обструктивной болезнью легких после различных методов лечения

Клинические признаки	после ПА n=115		после ИМТ n=116		после МТ n=115		Всего n=346	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Кашель								
• нет	60	52	67	58	30	26	157	45
• непостоянный	21	18	24	21	27	23	72	21
• преимущественно по утрам	11	10	15	13	20	17	46	13
• постоянный	23	20	10	8	38	33	71	21

Мокрота								
• нет	50	43	57	49	16	14	123	36
• слизистая	30	26	37	32	42	37	109	31
• слизисто-гнойная	31	27	21	18	37	32	89	26
• гнойная	4	4	1	1	20	17	25	7
Одышка								
• нет	73	63	90	77	26	23	189	55
• при интенсивной физ. нагрузке	26	23	24	21	57	49	107	31
• при умеренной нагрузке	11	10	2	2	22	19	35	10
• в покое	5	4	-	-	10	9	15	4
Цианоз								
• нет	105	91	105	90	87	76	297	86
• при физ. нагрузке	7	6	7	6	16	14	30	9
• постоянный	3	3	4	4	12	10	19	5
Аускультативно								
• везикулярное дыхание								
• рассеянные сухие хрипы	98	85	98	84	76	66	272	79
• разнотемб. сухие и разнокалиберные влажные хрипы	10	9	13	11	24	21	47	13
	7	6	5	4	15	13	27	8

Перкуторно								
• ясный легочный звук	112	97	115	99	100	87	314	94
• коробочный звук	3	3	1	1	15	13	19	6
Рентген-данные								
• патологии нет	91	79	90	77	51	44	232	67
• усиление и деформация легочного рисунка	15	13	18	16	36	31	69	20
• гипервоздушность	9	8	8	7	28	24	45	13

Чаще положительная динамика наблюдалась у больных с легкой и средней степенью тяжести заболевания. У больных с тяжелым течением интенсивность одышки хоть и подверглась некоторым изменениям, но они были не очень существенны.

Цианоз также является одним из основных клинических симптомов ХОБЛ. Цианоз наблюдался у 51% больных. После комплексной терапии с применением препарата инозин пранобекса цианоз исчез у 90% леченных больных, также как и при использовании ПА. При МТ цианоз отсутствовал лишь у 76% больных.

По мере улучшения бронхиального дренажа, с дальнейшим уменьшением количества мокроты количество хрипов в легких уменьшалось, вследствие чего значительно улучшалось состояние больных.

При проведении параклинических исследований оказалось, 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 (13%) больных. Причем необходимо отметить, что основная их часть – 24 (51%) больных приходится на группу, где использовалась лишь МТ. У большинства обследованных (272

больных, 79%) после лечения выслушивалось везикулярное дыхание, и у 27 (8%) отмечались влажные хрипы. Здесь также необходимо указать на неэффективность МТ, т.к. 15 больных из 27 входили в группу, в которой лечение проводили с использованием стандартных схем.

При применении в комплексе терапии сеансов плазмафереза наблюдалось значимое улучшение клинического состояния у больных ОА. Они отмечали уменьшение интенсивности и частоты приступов удушья. У всех больных имело место уменьшение кашля, мокрота становилась более легкоотделяемой, т.е. наблюдалось 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 ПА, отмечалось ухудшение состояния, в связи с чем сеансы плазмафереза у них были отменены. Надо также отметить, что у всех этих больных диагностировалась тяжелая степень тяжести заболевания.

На фоне проводимого лечения с использованием ПА раньше других признаков улучшению подверглись цианоз и одышка. Одышка уменьшилась почти у всех больных, получавших данную терапию. Эта тенденция скорее наблюдалась у больных ОА и ХОБ, чем при ЭЛ. У 32 больных ОА и 28 больных ХОБ к концу курса проводимой терапии одышка полностью исчезла.

После ПА цианоз остался лишь у 9% больных. Значительным изменениям подверглись и аускультативные данные на фоне проводимого лечения с применением ПА. Сухие хрипы исчезли у 85% леченных больных. У 17 больных выслушивались хрипы того или иного характера. Однако надо отметить, что все они были с ЭЛ и тяжелым течением болезни.

При исследовании группы больных, получавших только медикаментозную терапию по стандартным схемам, было зафиксировано, что все клинические данные подвергались улучшению, но не столь выраженным, как в предыдущих случаях. Рассмотрим основные признаки ХОБЛ. Кашель не наблюдался лишь у 26% больных, тогда как оставался постоянным у 33%. К концу лечения мокрота не наблюдалась у 16 больных (14%), у

остальных 86% отмечалось выделение мокроты того или иного характера. Хотя необходимо отметить, что всего у 17% она была гнойной, а у остальных характер изменился на слизистый, либо слизисто-гнойный. Симптом “одышка” также подвергался изменению. Она исчезла у 26 больных и осталась в той или иной степени выраженности у остальных.

Сравнивая динамику улучшения клинических симптомов у пациентов данной группы с двумя другими группами больных, получавших нестандартную терапию можно сказать, что применение лишь традиционных схем лечения менее эффективно. Использование на фоне медикаментозной терапии как ПА, так и препарата инозина пранобекса приводило к выраженному изменению клинических симптомов в более ранние сроки лечения.

3.5 Оценка проводимых методов терапий при хронической обструктивной болезни легких по результатам клинических данных

Результат проводимой терапии оценивался как “улучшение” (положительная динамика) в случаях, когда наблюдалось уменьшение основных клинических симптомов, таких как кашель, одышка, цианоз, отхождение мокроты, а также улучшение аускультативных данных. При увеличении основных клинических и аускультативных данных результат оценивался как “ухудшение” (отрицательная динамика). В том случае, если наблюдаемые симптомы и данные, полученные при аускультации легких, не подвергались изменениям, результат проводимой терапии оценивался как “без изменений”.

После проводимой терапии с использованием ИМТ у 15 больных (13%) изменения как субъективного, так и в объективного состояния отсутствовали (табл. 8).

**Оценка проводимой терапии у больных хронической обструктивной болезнью
легких по клиническим показателям после лечения с применением
иммуномодулирующей терапии**

Показатели	Улучшение		Без изменений		Ухудшение	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
ХОБ	46	96	2	14	-	-
ОА	36	90	4	10	-	-
ЭЛ	19	68	9	32	-	-
Всего	101	87	15	13	-	-

Ухудшения состояния не отмечалось ни у одного больного. В подавляющем большинстве случаев (101 больных), что составило 87%, наблюдалось улучшение состояния.

При рассмотрении улучшения патологического состояния в зависимости от степени тяжести ХОБЛ было выявлено, что наибольший процент улучшения приходится на больных с легкой и средней степенью тяжести – 43 (100%) и 45 больных (90%) соответственно (табл. 9).

У 13% больных было зафиксировано состояние “без изменений”. Однако справедливо отметить, что большая часть (10 больных из 15) приходится на группу с тяжелым течением заболевания.

Оценка терапии с применением иммуномодулирующей терапии с учетом степени тяжести хронической обструктивной болезни легких

Степень тяжести	Улучшение		Без изменений		Ухудшение	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
Легкая	43	100	-	-	-	-
Средняя	45	90	5	10	-	-
Тяжелая	13	57	10	43	-	-
Всего	101	87	15	13	-	-

Определяя вероятность улучшения состояния, необходимо делать акцент на тяжести исходного состояния. Чем тяжелее исходное состояние, тем меньше вероятность улучшения состояния больного. Улучшение чаще происходит при легкой и средней степени тяжести заболевания.

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что максимальный эффект при применении иммуномодулирующей терапии у больных ХОБЛ наблюдался при легкой или средней степени тяжести заболевания.

Результат проводимой терапии с использованием сеансов ПА оценивался как “улучшение”, “без изменения” и “ухудшение” состояния больного по тем же критериям.

После данного вида лечения у 103 больных (89%) наблюдалось улучшение состояния (табл. 10). У 3 больных (11%) отмечали ухудшение состояния, причем все больные приходились на группу с ЭЛ. Важно также отметить, что у всех 41 больных с ОА отмечалось улучшение клинического состояния. Изменений не было зарегистрировано у 9 больных (8%).

Таблица 10

Оценка проводимой терапии у больных хронической обструктивной болезнью легких по клиническим показателям после лечения с применением плазмафереза

Показатели	Улучшение		Без изменений		Ухудшение	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
ХОБ	43	93	3	7	-	-
ОА	41	100	-	-	-	-
ЭЛ	19	68	6	21	3	11
Всего	103	89	9	8	3	3

Таблица 11

Оценка терапии с применением плазмафереза с учетом степени тяжести хронической обструктивной болезни легких

Степень тяжести	Улучшение		Без изменений		Ухудшение	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
Легкая	44	100	-	-	-	-
Средняя	47	96	2	4	-	-
Тяжелая	12	54	7	32	3	14
Всего	103	89	9	8	3	3

При оценке состояния больных в зависимости от тяжести заболевания было выявлено, что у всех больных с легким течением заболевания наблюдалось улучшение состояния (табл. 11), а у 3 больных с тяжелым течением – ухудшение клинического состояния.

Мы считаем, что для определения ожидаемой эффективности лечения с применением сеансов плазмафереза необходимо изначально оценить тяжесть течения и патологическое состояние ХОБЛ. Исследования дают возможность утверждать, что абсолютный эффект терапии наблюдался при ОА и легком течении заболевания. При ХОБ и средней степени течения также отмечался довольно значимый эффект. Наименьшие изменения были отмечены при ЭЛ и тяжелой степени заболевания. При этом также возможно ухудшение состояния больных.

Эффективность терапии группы больных, которым проводили терапию с использованием МТ по стандартным схемам, также была оценена. Полученные результаты представлены в табл. 12. Ухудшение состояния не отмечалось ни разу. Улучшение было зарегистрировано у 91 больных, что составило 79% от их общего числа в группе.

Таблица 12

Оценка проводимой терапии у больных хронической обструктивной болезнью легких по клиническим показателям после медикаментозной терапии

Показатели	Улучшение		Без изменений		Ухудшение	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
ХОБ	42	91	4	9	-	-
ОА	33	80	8	20	-	-
ЭЛ	16	57	12	43	-	-
Всего	91	79	25	21	-	-

При рассмотрении улучшения патологического состояния в зависимости от степени тяжести ХОБЛ было выявлено, что наибольший процент улучшения, как и при двух предыдущих группах, приходится на больных с легкой и средней степенью тяжести.

Однако результат не сильно выражен, как в предыдущих исследованных группах – 44 (100%) и 40 больных (82%) с легкой и средней тяжестью заболевания соответственно (табл. 13).

Таблица 13

Оценка терапии с применением стандартной медикаментозной терапии с учетом степени тяжести хронической обструктивной болезни легких

Степень тяжести	Улучшение		Без изменений		Ухудшение	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
Легкая	44	100	-	-	-	-
Средняя	40	82	9	18	-	-
Тяжелая	6	27	16	43	-	-
Всего	90	78	25	22	-	-

Было отмечено, что почти у половины больных с ЭЛ результат оценивался как “без изменений”. Терапия была малоэффективна и у больных с тяжелой степенью заболевания. У 16 из 22 больных с тяжелой степенью изменений не было зарегистрировано.

3.6 Особенности изменения вентиляционной функции легких при хронической обструктивной болезни легких при различных терапиях

Как известно, ведущее значение в диагностике ХОБЛ и объективной оценке степени тяжести заболевания имеет исследование вентиляционной функции легких. С целью оценки эффективности использованных методов терапии на показатели ВФЛ при ХОБЛ нами было проведено сравнение спирографических данных до и после проводимых курсов лечения. При этом обязательно определяли следующие объемные и скоростные показатели: жизненная емкость легких (ЖЕЛ), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 сек. (ОФВ₁), максимальные скорости выдоха на различных уровнях ФЖЕЛ (МСВ₇₅₋₂₅).

Изучение этих показателей формирует функциональный диагноз ХОБЛ.

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 [137].

Благодаря хорошей воспроизводимости и простоте измерения ОФВ₁, в настоящее время этот параметр является общепринятым показателем для оценки степени обструкции при ХОБЛ. На основе данного показателя определяется и степень тяжести ХОБЛ: легкая степень тяжести – ОФВ₁ > 70% от должной величины, средняя – 50-69%, тяжелая – < 50%.

Эта градация рекомендована Европейским Респираторным обществом и принята за рабочую и в России. Американское торакальное общество при оценке тяжести также используют ОФВ₁.

Основываясь на вышеизложенное, мы провели исследование этих показателей после использования различных методов терапии (табл. 14-16).

**Изменение показателей вентиляционной функции легких (%) у больных
хронической обструктивной болезнью легких до и после лечения
с применением препарата инозин пранобекса**

Спирографические показатели	до лечения n=116	после лечения n=116
ЖЕЛ	86,5±5,15	100,1±4,54 P<0.01
ОФВ ₁	72, 8±5,03	91,6±3,93 P<0.05
МОС ₂₅	50,1±6,13	74,2±5,57 P<0.05
МОС ₅₀	50,7±4,72	67,9±5,78 P>0.5
МОС ₇₅	58,0±4,61	75,0±5,15 P>0.5

P – сравнение результатов после лечения с данными до лечения.

Наименьшим изменениям подверглись изменения показателей у тех больных ХОБЛ, которым проводилось медикаментозное лечение по стандартным общепринятым схемам (табл. 16). Полученные данные в подавляющем большинстве статистически не достоверны.

**Изменение показателей вентиляционной функции легких (%) у больных
хронической обструктивной болезнью легких до и после терапии с использованием
плазмафереза**

Спирографические показатели	до лечения n=115	после лечения n=115
ЖЕЛ	89,3±3,60	110,8±3,97 P<0.05
ОФВ ₁	75,0±4,05	86,8±4,13 P<0.05
МОС ₂₅	47,9±5,28	66,2±4,47 P>0.5
МОС ₅₀	45,7±4,02	57,9±3,22 P>0.5
МОС ₇₅	54,6±3,44	94,4±2,21 P<0.05

P – сравнение результатов после лечения с данными до лечения.

**Изменение показателей вентиляционной функции легких (%) при
хронической обструктивной болезни легких до и после
традиционной медикаментозной терапии**

Спирографические показатели	до лечения n=115	после лечения n=115
ЖЕЛ	87,7±2,45	92,4±3,28 P>0.5
ОФВ ₁	77,6±4,35	80,1±4,24 P>0.5
МОС ₂₅	48,8±4,39	52,5±2,65 P>0.5
МОС ₅₀	46,6±2,12	48,8±3,47 P>0.5
МОС ₇₅	55,5±1,87	60,1±2,59 P<0.05

P – сравнение результатов после лечения с данными до лечения.

Дальнейшие исследования были направлены на изучение изменений вентиляционных показателей после применения различных методов лечения в зависимости от тяжести течения заболевания.

Как и ожидалось, наиболее ощутимые изменения изученных показателей наблюдались у больных с легкой и средней степенью тяжести заболевания. Следует отметить, что у группы больных, получавших курс плазмафереза, эти показатели подверглись более значимым изменениям (табл. 17, 18).

Изменения показателей вентиляционной функции легких (%)
у больных хронической обструктивной болезнью легких
с легкой степенью тяжести

Спирографические показатели	до лечения n=131	после МТ n=44	после ПА n=44	после ИМТ n=43
ЖЕЛ	94,9±2,28	100,7±2,37 P>0.5	107,8±2,56 P<0.05	106,6±2,27 P<0.05
ОФВ ₁	78,8±2,14	80,8±2,35 P>0.5	84,4±2,17 P<0.05	83,8±2,67 P<0.05
МОС ₂₅	44,3±2,51	51,2±1,98 P<0.05	54,4±2,78 P<0.05	55,1±2,43 P<0.05
МОС ₅₀	43,5±2,16	47,3±2,01 P>0.5	50,8±2,11 P<0.05	50,1±1,89 P<0.05
МОС ₇₅	55,8±1,18	59,1±2,89 P>0.5	65,7±3,89 P<0.05	64,4±3,26 P<0.05

P – сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Существенное улучшение бронхиальной проходимости регистрировалось и после включения в комплекс проводимых лечебных мероприятий препарата инозин пранобекса (табл. 17, 18).

Изменение показателей вентиляционной функции легких (%)
у больных хронической обструктивной болезнью легких
со средней степенью тяжести

Спирографические показатели	до лечения n=148	после МТ n=49	после ПА n=49	после ИМТ n=50
ЖЕЛ	74,2±3,97	87,3±4,89 P<0.05	95,8±4,43 P<0.01	94,5±3,86 P<0.01
ОФВ ₁	61,1±2,12	76,9±8,94 P<0.05	84,4±5,12 P<0.05	80,7±4,78 P<0.05
МОС ₂₅	40,6±4,43	56,6±5,04 P<0.05	69,5±6,01 P<0.01	70,7±4,77 P<0.01
МОС ₅₀	38,1±3,28	47,2±5,37 P<0.05	68,3±5,89 P<0.01	66,3±4,09 P<0.01
МОС ₇₅	44,9±4,57	51,3±5,76 P>0.5	59,4±4,09 P<0.05	60,1±3,76 P<0.05

P – сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Наименьшим изменениям подверглись исследованные показатели у тех больных, которым проводилось медикаментозное лечение.

При нарушении ВФЛ тяжелой степени тяжести изменения спирографических показателей в целом были не столь значимы (табл. 19), однако за этими данными стояли достаточно выраженные сдвиги показателей у отдельных лиц, особенно после ПА и применения препарата инозин пранобекса. На наш взгляд, невыраженные изменения у

данных больных могут быть связаны с развитием у них необратимых процессов, таких как пневмосклероз и эмфизема легких.

Таблица 19

Изменение показателей вентиляционной функции легких (%)
у больных хронической обструктивной болезнью легких
с тяжелой степенью тяжести

Спирографические показатели	до лечения n=67	после МТ n=22	после ПА n=22	после ИМТ n=23
ЖЕЛ	62,2±9,08	72,2±3,08 P>0.5	84,0±8,67 P>0.5	85,2±7,56 P>0.5
ОФВ ₁	36,7±4,41	48,8±2,21 P<0.05	58,7±2,67 P<0.05	57,9±2,41 P<0.05
МОС ₂₅	15,7±1,36	28,7±2,61 P<0.05	35,4±3,01 P<0.01	36,9±3,26 P<0.01
МОС ₅₀	13,5±2,25	22,7±2,63 P<0.05	30,8±3,08 P<0.01	29,8±3,33 P<0.01
МОС ₇₅	21,2±3,39	29,1±8,87 P>0.5	34,9±9,15 P>0.5	33,4±4,07 P<0.05

P – сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Обобщая проведенные исследования, можно заключить, что у больных с ХОБЛ после применения различных методов терапии более ощутимые изменения показателей ВФЛ наблюдались у больных, в комплексе лечебных мероприятий, получавших иммуномодулирующий препарат инозин пранобекс.

Значимы были также изменения при лечении с использованием сеансов плазмафереза.

Изменения изученных показателей у больных ХОБЛ, получавших лишь медикаментозную терапию по стандартным схемам, были незначительны и, в основном, статистически не достоверны.

Замечено также, что выраженные положительные функциональные сдвиги наблюдаются у больных с нарушением ВФЛ легкой и средней степенью тяжести. При тяжелой степени заболевания отмечались нестойкие положительные сдвиги функциональных показателей, либо отсутствие таковых.

ГЛАВА 4

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО- ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МЕМБРАН ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ ДО И ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ТЕРАПИЙ

Как известно, клинический профиль многих хронических заболеваний, в основе которых лежит персистентная вирусная инфекция, определяется длительным пребыванием возбудителя в организме, способностью вирусов колонизировать клетки, избегая действия защитных иммунных реакций организма. Феномен персистенции вирусов затрагивает различные звенья иммунной системы. При этом важную роль в обеспечении иммунологической реактивности организма играет структурно-функциональное состояние иммунокомпетентных клеток.

В последние годы внимание исследователей занимает вопрос о роли лимфоцитов в механизмах возникновения и развития инфекционного процесса, обусловленного длительной персистенцией вирусов в организме [80, 98].

Показано, что при инфицировании вирусными агентами лимфоцит не столько подвергается гибели, сколько утрачивает свою функциональную активность [180, 257].

В ряде работ отмечается о нарушении поверхности клеток лимфоидного ряда при некоторых вирус-ассоциированных заболеваниях [225, 258]. Как известно, лимфоциты несут на своей мембране множество разных рецепторов, взаимодействие с которыми является

сигналом к активации. Очевидно, что судьба инфицированных лимфоцитов во многом определяется структурным и функциональным состоянием их плазматической мембраны.

В связи с вышеизложенным, в данной главе мы попытались выявить общие закономерности и особенности изменения основных составляющих плазматической мембраны лимфоцитов при ХОБЛ, отягощенных персистенцией вируса Эпштейна-Барр. Это, несомненно, расширит имеющиеся представления о патогенезе ХОБЛ, связанных с персистенцией вируса, возможно, послужит основой для разработки эффективных методов диагностики и коррекции системных нарушений при данной патологии и может явиться существенным подспорьем в выдвижении новых прогностических рекомендаций для их профилактики и лечения. С другой стороны, было изучено действие различных методов лечения на нарушенные характеристики мембран лимфоцитов при ХОБЛ.

4.1 Изменение фосфолипидного спектра мембран лимфоцитов при хронической обструктивной болезни легких до и после применения различных методов терапий

Как известно, для нормального функционирования мембранного аппарата клеток, в частности лимфоцитов, и реализации им метаболических эффектов необходимо наличие целостного липидного матрикса [190].

Являясь важным структурным компонентом биомембран лимфоцитов, фосфолипиды (ФЛ) регулируют активный и пассивный трансмембранный транспорт веществ, определяют их чувствительность к действию различных лигандов, детерминируют активность мембраносвязанных ферментативных систем [174, 219].

Принимая во внимание многообразие функциональных назначений ФЛ, учитывая роль ФЛ как предшественников ряда эндогенных соединений, оказывающих как мембранотоксическое, так и модулирующее действие на мембранные структуры мы

проследили за изменением фосфолипидного спектра лимфоцитов при различных вариантах ХОБЛ, а также после применения различных схем терапии.

Согласно нашим данным, при всех патологических состояниях выявлено заметное статистически достоверное изменение процентного содержания основных, функционально различных классов ФЛ (рис. 10).

Так, при ХОБЛ выявлено статистически достоверное повышение уровней ЛФХ (в 1,8 раз), СМ (в 1,3 раза), ФС (в 1,2 раза) и ФК (в 1,7 раз) с одновременным заметным уменьшением доли ФХ (в 1,5 раз) и ФЭ (в 1,2 раза). Мы считаем, что одной из причин снижения содержания фракций ФЭ и ФХ может являться усиление их распада в мембране лимфоцитов под действием фосфолипазы A_2 с отщеплением жирных кислот, в частности арахидоновой кислоты.

Эмфизема легких характеризуется существенно повышенным уровнем ФК (почти в 2 раза) и ЛФХ – цитотоксичных продуктов липолиза (в 2,2 раза). Увеличению содержания последних способствует отмечаемое при данной нозологии резкое понижение количества ФХ (почти в 2 раза), вероятно, вследствие активации фосфолипазы A_2 . Повышенное же содержание ЛФХ, на наш взгляд, может привести к активации макрофагов и Т-лимфоцитов, и, в конечном счете, к модуляции иммунного ответа [145].

При ОА наиболее заметные изменения регистрируются во фракциях ФИ (повышение в 1,2 раза), СМ (повышение в 1,5 раз), ФЭ (снижение в 1,8 раз) иДФГ (в 1,8 раз). Высокий уровень ФИ (представленных главным образом монофосфоинозидами) при данной нозологии, по-нашему мнению, можно объяснить, как ослаблением их превращения в полифосфоинозитиды, так и активированием ферментных систем, ответственных за их синтез.

Кроме того, одним из важных аспектов физиологической роли ФИ является их участие в трансформации энергии в клетке. Поэтому накопление МФИ в лимфоцитах может быть косвенным свидетельством нарушения энергетического обмена в лимфоцитах при ОА, возможно, вследствие длительной персистенции ВЭБ. С другой стороны, заметное статистически достоверное увеличение долиДФГ при ОА на фоне уменьшения основных

классов ФЛ, на наш взгляд, может отражать компенсаторные сдвиги, направленные на поддержание стабильности мембран за счет взаимодействия ДФГ с белковыми компонентами.

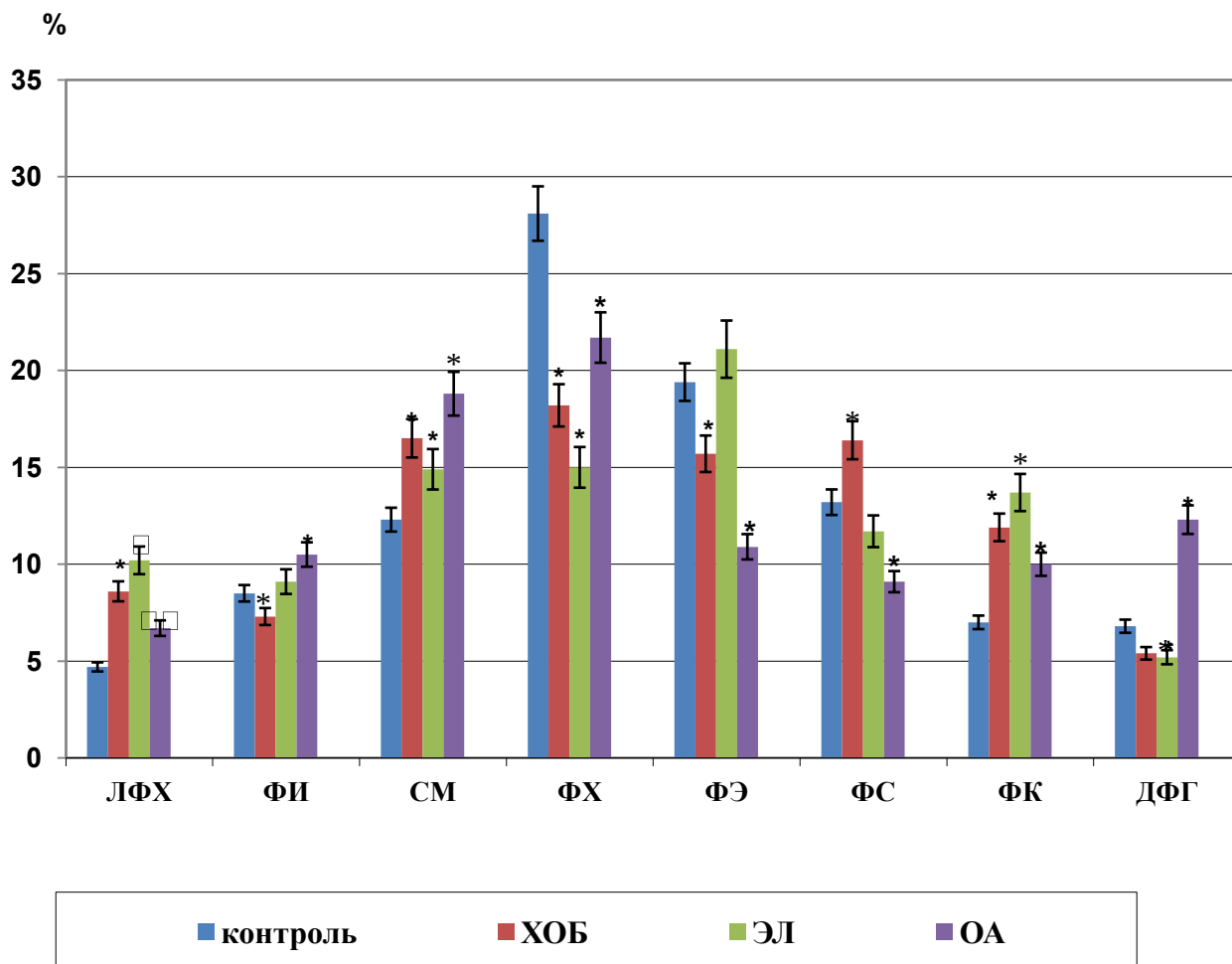


Рис. 10. Фосфолипидный профиль мембран лимфоцитов при различных патологических состояниях (в % от суммы). * - $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны; сравнение данных с контролем.

Статистически достоверное повышение концентрации одного из ключевых метаболитов фосфатидогенеза – ФК, отмечаемое при всех видах ХОБЛ, свидетельствует о заметном изменении структуры мембраны, обусловленном действием эндогенной

фосфолипазы Д. Известно, что ФК являются Ca^{2+} -ионофорами и вместе с ФИ играют существенную роль в регуляции концентрации кальция. Следовательно, можно предположить, что аккумуляция кальция за счет повышения уровней ФИ и ФК может явиться своего рода пусковым механизмом активации Са-зависимых фосфолипаз, ПОЛ, а также модулировать проницаемость мембран, приводя к внутриклеточным потерям физиологически важных ионов калия при ХОБЛ. Увеличение внутриклеточного кальция, в свою очередь, снижает деформируемость мембран лимфоцитов, приводя к снижению их функциональной активности.

Среди индивидуальных ФЛ особое место занимают СМ, характеризующиеся относительно меньшей обмениваемостью, чем фосфатиды-глицериды. СМ, как правило, принимают участие в процессах рецепции и межклеточного взаимодействия. С другой стороны, они, как носители насыщенных ЖК, играют немаловажную роль в обеспечении гомеостаза холестерина, выступая в качестве его акцептора [246]. Повышение их процентного содержания, 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, модуляции функциональной активности лимфоцитов.

Согласно общепризнанной концепции, для нормального функционирования различных органов и систем организма важное значение имеет физиологически установившееся постоянство соотношений между отдельными представителями ФЛ [191].

В связи с этим определенный интерес представляют не только изменения в содержании отдельных ФЛ, но и колебания в величине коэффициента отношения суммы нейтральных ФЛ (НФЛ) (ФХ+ЛФХ+СМ+ФЭ) к сумме кислых (КФЛ) (ФИ+ФС+ФК+ДФГ), отличающихся как структурными, так и функциональными особенностями.

Согласно полученным данным (табл. 20), все патологические состояния ХОБЛ сопровождаются статистически достоверным понижением величины НФЛ/КФЛ, что связано как с убылью ФХ и ФЭ – основных мембранных ФЛ, так и с нарастанием количества метаболически более активных ДФГ, ФК и ФИ. При ОА выявлено существенное повышение

(в 1,7 раз) отношения холинсодержащих ФЛ (ЛФХ+ФХ+СМ), дислоцирующихся в поверхностном слое мембраны, к аминсодержащим (ФЭ+ФС), локализованным во внутреннем слое, что свидетельствует о повышении ригидности мембраны и, следовательно, о выраженном снижении функциональной активности лимфоцитов при данной патологии.

Таблица 20

**Изменение фосфолипид-фосфолипидных соотношений
в мембранах лимфоцитов при хронической обструктивной болезни легких**

ФЛ	контроль n=25	ХОБ n=75	ЭЛ n=75	ОА n=75
НФЛ/КФЛ	1,82±0,4	1,44±0,02 P<0.05	1,54±0,08 P<0.05	1,39±0,07 P<0.05
холинсод./аминсод.	1,38±0,08	1,35±0,05 P>0.5	1,22±0,11 P<0.05	2,36±0,12 P<0.01
ЛФХ/ФХ	0,17±0,02	0,47±0,22 P<0.05	0,68±0,06 P<0.01	0,31±0,03 P<0.05
ФК/ФХ	0,25±0,03	0,65±0,10 P<0.01	0,9±0,05 P<0.01	0,46±0,05 P<0.05
ФЭ/ФХ	0,69±0,05	0,86±0,07 P<0.05	1,41±0,04 P<0.01	0,50±0,07 P<0.05
СМ/ФХ	0,44±0,04	0,91±0,08 P<0.01	1,0±0,14 P<0.01	0,87±0,09 P<0.05

P – сравнение данных с контролем.

Примечательно, при ХОБ и ЭЛ отношение холинсодержащих ФЛ к аминсодержащим не подвергается значительным изменениям и колеблется в пределах контрольных величин.

Обнаруженное при ХОБЛ повышение соотношений ЛФХ/ФХ и ФК/ФХ можно трактовать как активацию процессов деградации липидов в первом случае, и угнетение их биосинтеза – во втором. При этом изменения, происходящие у больных с эмфиземой легких, более выражены.

Как известно, определенную роль в разворачивании патологического процесса в клетке играет изменение микровязкости ее мембраны. О состоянии последней можно предположить по величине отношений ФЭ/ФХ и ФС/ФХ (равно как и холестерин/ФЛ). Благодаря ассиметричному расположению ФХ и ФЭ, а также ФС 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 ФС в наружный липидный бислой, в свою очередь, может инициировать активацию Ca^{2+} -зависимой внутриклеточной сигнальной системы [156].

Так, если при ОА коэффициент отношения ФЭ/ФХ имеет тенденцию к снижению, то при ХОБ и, особенно при ЭЛ наблюдается его повышение, свидетельствующее о повышении текучести лимфоцитарных мембран при ХОБЛ.

Об увеличении вязкости наружного слоя мембраны указывает более чем двукратное повышение отношения СМ/ФХ при всех нозологиях. Увеличение уровня СМ в мембране способствует уменьшению подвижности ацильных цепей жирных кислот ФЛ, что в конечном итоге может привести к повышению упорядоченности липидных молекул и снижению текучести мембраны, приводя к изменению активности рецепторных и ферментных систем лимфоцитов.

Таким образом, при ХОБЛ в мембранах лимфоцитов наблюдаются нарушения количественных соотношений между различными классами ФЛ, что, несомненно, может

стать одной из причин изменения функциональной активности лимфоцитов при данной патологии, способствуя развитию иммунных нарушений.

При этом наиболее значительным изменениям подвергаются кислые фракции ФЛ, которым, по современным представлениям, отводится регуляторная роль в реакциях тканевого и организменного иммунитета.

Как указывалось, выше, лечение больных с ХОБЛ проводилось по 3 схемам. Одна группа больных получала лишь МТ по стандартным схемам, у второй в комплекс лечебных мероприятий был включен ПА, а в третьей группе больных ХОБЛ в дополнение к стандартной МТ был применен противовирусный препарат инозин пранобекс (рис. 11).

Было показано, что использованные схемы лечения неоднозначно влияют на качественный и количественный состав ФЛ лимфоцитарных мембран.

Изменения, происходящие у групп, которые вместе со стандартной МТ получали плазмаферез или инозин пранобекс, имеют тенденцию к нормализации уровней почти всех основных классов ФЛ.

В обеих группах установлено существенное увеличение фракции ФХ после лечения. При этом резко снижается концентрация ЛФХ, что свидетельствует о подавлении активности фосфолипазы A_2 и активировании ацилтрансфераз, участвующих в реакцировании последних до ФХ.

Отмечается почти полная нормализация уровней легкоокисляемых ФЭ, ФС и ФК. При этом изменения наиболее выражены у больных, получавших плазмаферез.

Регистрирующийся несколько повышенный уровень ФИ у пациентов, получавших иммуномодулирующую терапию инозин пранобексом, на наш взгляд, говорит об активировании ФИ-сигнальной системы, являющейся генератором вторичных мессенджеров, участвующих в трансдукции внеклеточных сигналов внутрь клетки.

Необходимо отметить, что, несмотря на выраженный корректирующий эффект противовирусного лечения и, особенно плазмафереза, на большинство фракций ФЛ, уровеньДФГ после лечения остается на несколько повышенном уровне.

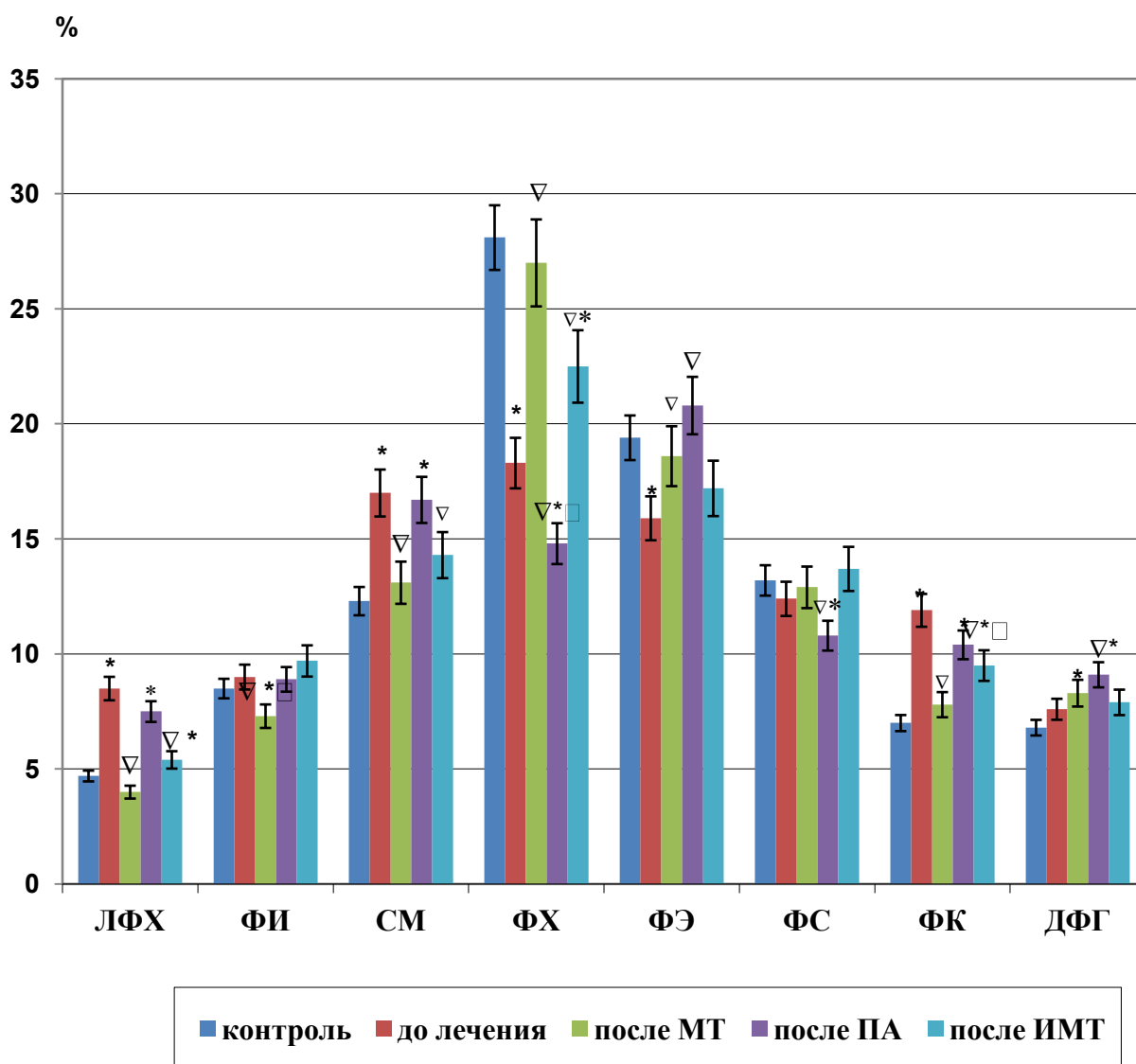


Рис 11. Фосфолипидный профиль мембран лимфоцитов при хронической обструктивной болезни легких после различных методов терапий (в % от суммы).

$P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Другая картина наблюдается после использования лишь традиционных схем МТ. Так, количество основных ФЛ – ФХ, ниже контрольных величин почти в 2 раза. Одновременно регистрируется повышенный уровень цитотоксичных ЛФХ (превышают норму в 1,6 раз).

Надо отметить, что ЛФХ 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 ДФГ и ФК, которые способствуют увеличению концентрации внутриклеточного кальция, влияя на физические характеристики клеток иммунной системы.

Ослабление последних неизбежно приведет к снижению функциональной активности лимфоцитов, в результате чего создастся возможность инфицирования различными агентами.

После предпринятой терапии обнаружена почти полная нормализация коэффициентов, изученных ФЛ-ФЛ отношений в группе больных, получавших сеансы плазмафереза, указывая на восстановление физических и структурно-метаболических характеристик лимфоцитарных мембран (табл. 21).

Тенденция к нормализации наблюдается и в группе больных, дополнительно получавших препарат инозин пранобекс. Необходимо констатировать, что применение только стандартной МТ при ХОБЛ приводит к еще большему расстройству ФЛ-ФЛ отношений в мембранах лимфоцитов.

При этом в наибольшей степени изменению подвергаются коэффициенты отношений ФЭ/ФХ и СМ/ФХ, которые повышают контрольные величины в 2 и 2,6 раз соответственно. Мы считаем, это происходит за счет резкой потери доли ФХ, возможно, вследствие все еще активной фосфолипазы A_2 .

**Изменение фосфолипид-фосфолипидных соотношений в мембранах лимфоцитов
при хронической обструктивной болезни легких после различных методов терапий**

ФЛ	контроль n=25	до лечения n=225	после лечения		
			МТ 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

P₁ – сравнение данных с контролем. P₂ – сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Таким образом, при ХОБЛ в мембранах лимфоцитов наблюдаются серьезные сдвиги в фосфолипидном профиле. Объяснение реальных механизмов описанных отклонений пока встречает определенные трудности. Здесь могут иметь значение как взаимопревращения отдельных ФЛ, так и расстройства механизмов их биосинтеза и деградации. Ввиду того, что основные события связаны с заметной убылью основных классов ФЛ, в следующей главе приводятся данные о состоянии систем окислительной деструкции мембранных ФЛ, несомненно, играющих роль в развертывании ХОБЛ.

4.2 Изменение активности перекисного окисления липидов и фосфолипазы A_2 в мембранах лимфоцитов при хронической обструктивной болезни легких до и после применения различных методов лечения

Накопление продуктов перекисного окисления липидов в значительной степени является отражением функционального состояния клеточных структур, в частности одним из интегральных проявлений изменения функциональной активности лимфоцитов.

Как известно, в нормально функционирующем организме лимитированный уровень реакций ПОЛ рассматривается в качестве одно из путей обновления тканевых липидов, следовательно, одним из механизмов регуляции клеточной активности [268, 298].

Показано, что мембранные структуры имеют полный набор субстратов и кофакторов для протекания ПОЛ и только строго определенная молекулярная упаковка полиеновых ацилов жирных кислот в бислое и в области контакта ФЛ с белками препятствует развитию этих реакций.

Вместе с тем установлено, что интенсификация ПОЛ является основным звеном в механизме развития патологического процесса и сопряжена с глубокими нарушениями в липидном бислое мембран, в последующем ведущими к повышению их проницаемости, накоплению ионов натрия и кальция в клетке, разобщению окислительного фосфорилирования, повышению активности лизосомальных ферментов [146, 195].

Вышеизложенное послужило основанием для исследования интенсивности процессов ПОЛ при различных типах ХОБЛ.

Результаты исследований (рис. 12) свидетельствуют о значительном повышении скорости ПОЛ при ХОБЛ, причем наиболее выраженные изменения наблюдаются при эмфиземе легких (рост активности почти в 2 раза). При ХОБ и ОА концентрация МДА – конечного продукта ПОЛ, увеличивается в 1,4 и 1,2 раза соответственно.

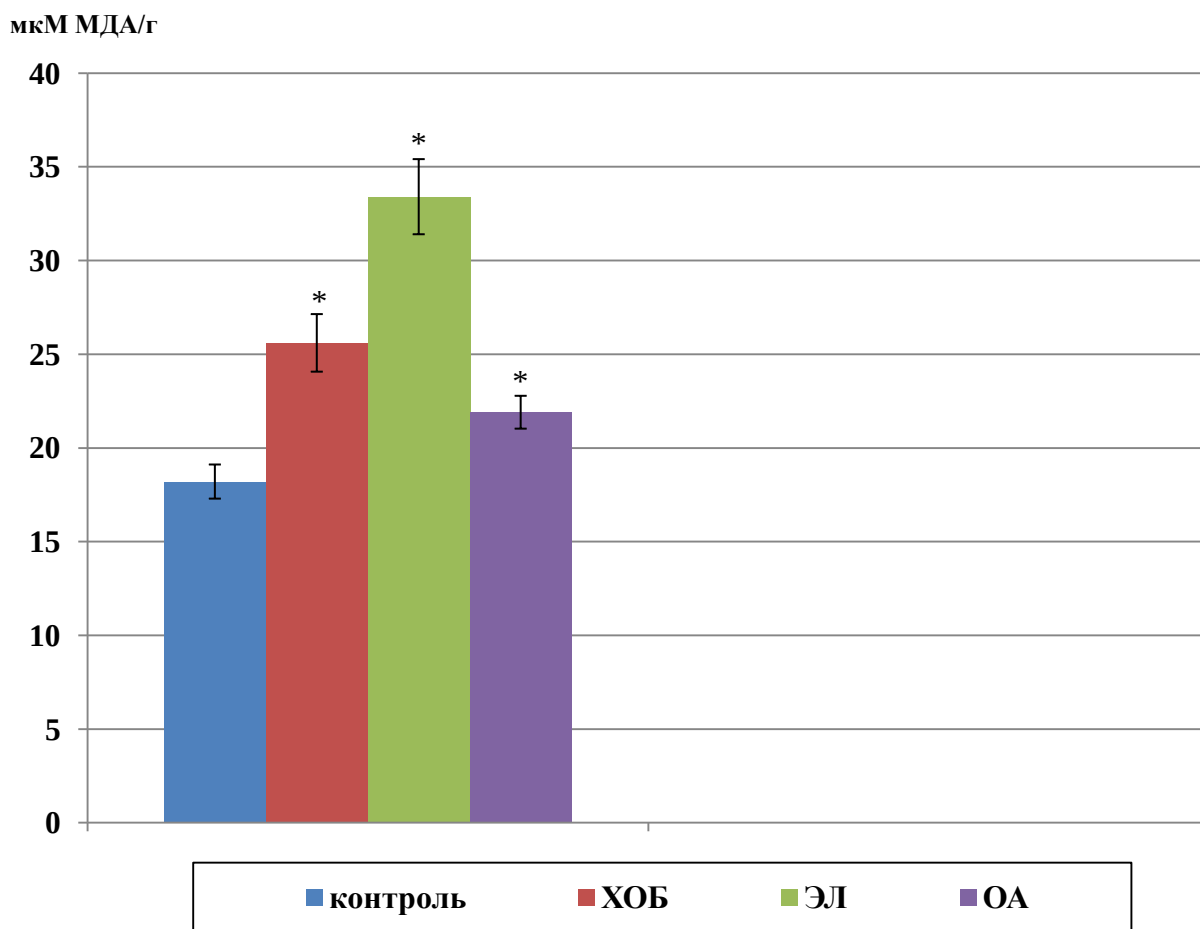


Рис. 12. Интенсивность ПОЛ в лимфоцитах при различных патологических состояниях (в мкММДА/г ткани). * - $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем.

Резкое усиление реакций ПОЛ при эмфиземе легких, возможно, является следствием уменьшения уровня эндогенных антиоксидантов в лимфоцитах, в частности α -токоферола,

обеспечивающего примерно 60% антиокислительной активности липидов [243, 291]. Полиеновые ацилы с гидрофильными кислородсодержащими перекисными группами «выталкиваются» из гидрофобного окружения, приводят к изменению конформационных свойств мембран лимфоцитов, и, вследствие этого, к нарушению деятельности мембранно-ассоциированных белковых структур, в частности транспортных АТФаз, аденилатциклазного комплекса, ацетилхолинэстеразы [238].

Важную роль в превращении ФЛ, наряду с процессами ПОЛ играют фосфолипазы, катализирующие гидролиз и трансэтерификацию мембранных липидов. Они принимают участие в синтезе простагландинов и повышают выход из клетки биологически активных веществ, что может иметь существенное значение в развитии патологии [262, 295].

Показано, что усиление ПОЛ влечет за собой изменение мембранной проницаемости для ионов кальция, тем самым способствует активации фосфолипазы A_2 , приводя к удалению токсичных перекисленных жирнокислотных остатков ФЛ.

Как известно, фосфолипаза A_2 с наибольшей скоростью гидролизуют именно фосфатиды-глицериды (ФХ, ФЭ, ФС), содержание которых, согласно нашим данным (см. рис. 10), подвергаются наиболее выраженным изменениям. С другой стороны, в лимфоцитах с активацией фосфолипазы A_2 сопряжена передача сигнала с клеточной поверхности [184].

Следовательно, изучение активности фосфолипазы A_2 в лимфоцитах представляет существенный интерес с точки зрения выяснения ее патогенетического значения при различных патологических состояниях.

Результаты сравнительного анализа показывают, что наиболее существенным является повышение активности фермента при эмфиземе легких (рис. 13). Увеличение активности фермента при ХОБ и ОА составляет 72 и 35 % соответственно.

Согласно литературным данным, повышенный уровень арахидоновой кислоты в результате деацилирования фосфатидов-глицеридов под действием фосфолипазы A_2 может способствовать усиленному синтезу простагландинов и лейкотриенов, играющих определенную роль в интерфазной гибели лимфоцитов [183, 282].

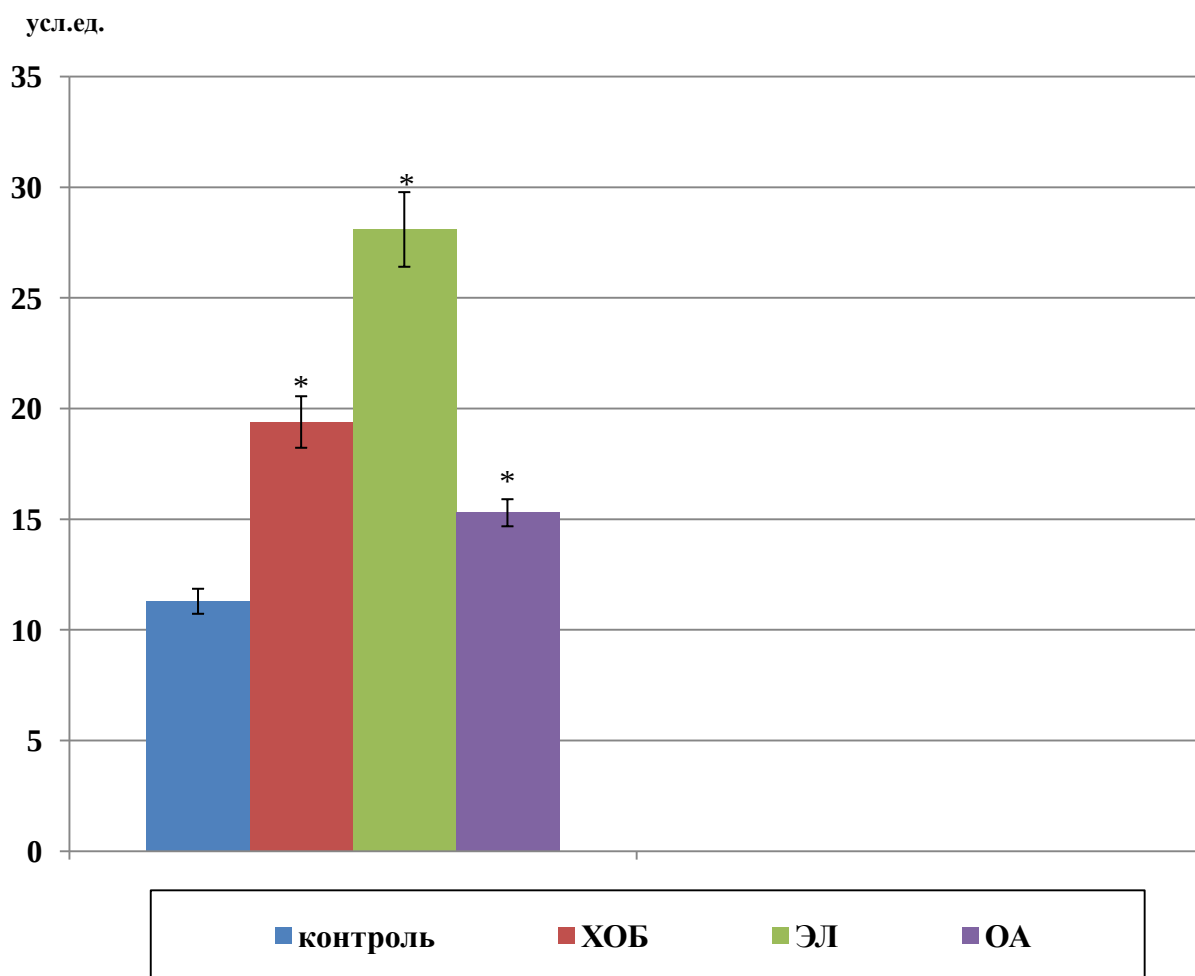


Рис 13. Активность фосфолипазы A_2 в лимфоцитах при различных патологических состояниях (в усл. ед.). * - $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем.

Таким образом, можно заключить, что нарушение метаболизма мембранных ФЛ обусловлено, с одной стороны, активированием процессов их деградации под действием фосфолипазы A_2 , с другой, – интенсификацией процессов ПОЛ, приводя к выбросу большого количества прооксидантов, повреждающих белки, углеводы, липиды и нуклеиновые кислоты, усиливающих воспалительные и деструктивные процессы.

Наблюдающийся оксидативный стресс вызывает дисбаланс в системе протеиназ-антипротеиназ за счет инактивирования α_1 -антитрипсина, что в конечном итоге приводит к формированию эмфиземы [GOLD, 2014].

Более того, прооксиданты могут активировать ядерный фагоцитарный фактор NF- κ B, стимулируя синтез воспалительных цитокинов (ИЛ-8, ФНО- α). Интересно, что оксидативный стресс у больных ХОБЛ индуцирует стероидную устойчивость.

Выделение изопростана F 2α -III вызывает сокращение гладкомышечных клеток, приводя к обструкции бронхов и способствуя экссудации плазмы в дыхательные пути. С другой стороны, прогрессированию ХОБЛ, несомненно, способствует недостаточность системы антирадикальной защиты.

После лечения пациентов с ХОБЛ наблюдается снижение активности деструктивных процессов. Закономерно, что наиболее отчетливые изменения прослеживаются после проведения плазмафереза и иммуномодулирующей терапии инозин пранобексом (рис. 14, 15).

Возможно, наблюдаемые изменения происходят из-за замещения легкоокисляемых фракций ФЛ более устойчивыми к окислению липидами. В результате уменьшается скорость зарождения радикалов в липидах и наблюдается тенденция к нормализации изученных показателей. При использовании лишь МТ статистически достоверных изменений в активности фосфолипазы A $_2$ и ПОЛ не обнаружено.

мкМ МДА/г

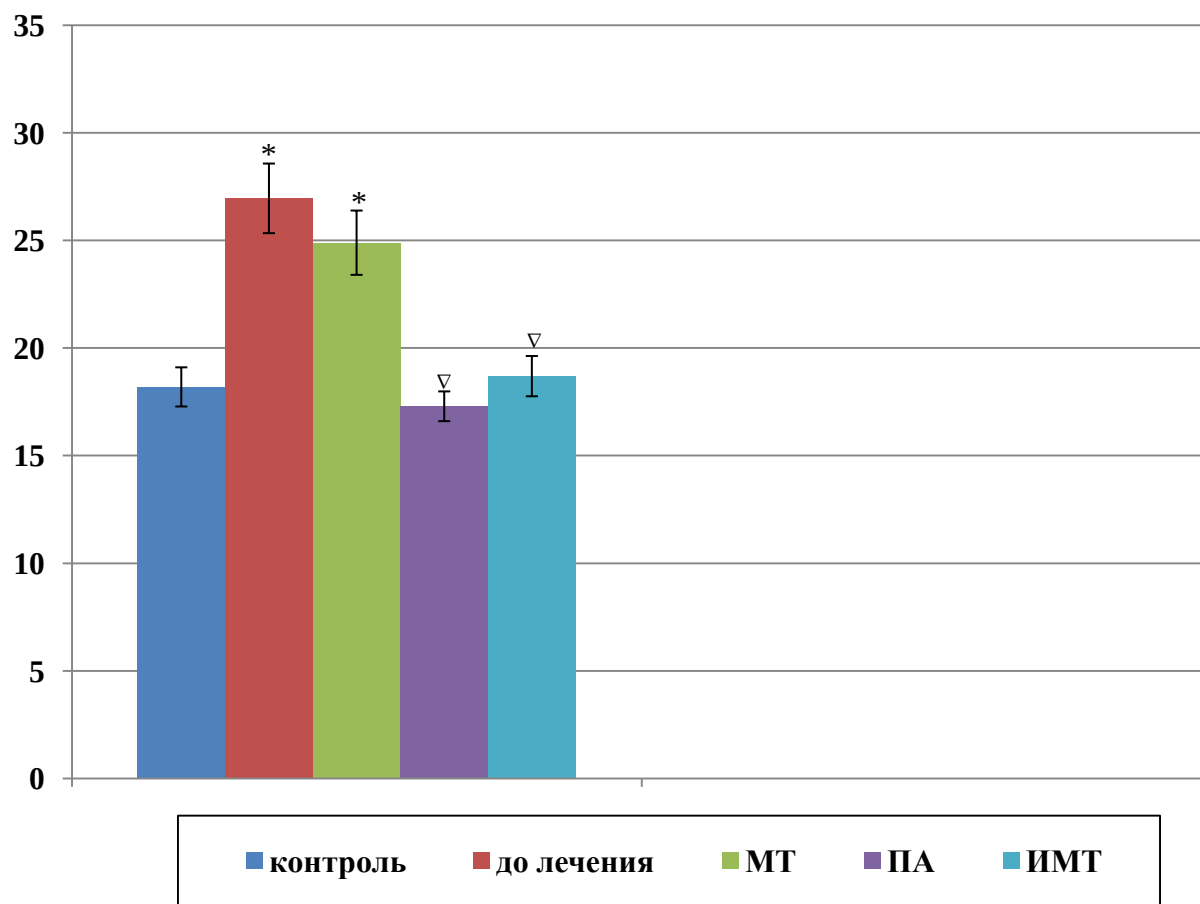


Рис 14. Интенсивность ПОЛ в лимфоцитах при хронической обструктивной болезни легких после различных схем лечения (в мкМ МДА/г ткани). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Таким образом, можно констатировать, что использование в общепринятых схемах лечения иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса и, особенно, плазмафереза приводит к нормализации метаболизма липидного компонента мембран лимфоцитов, влияя на физико-химическое состояние мембран и систем регуляции.

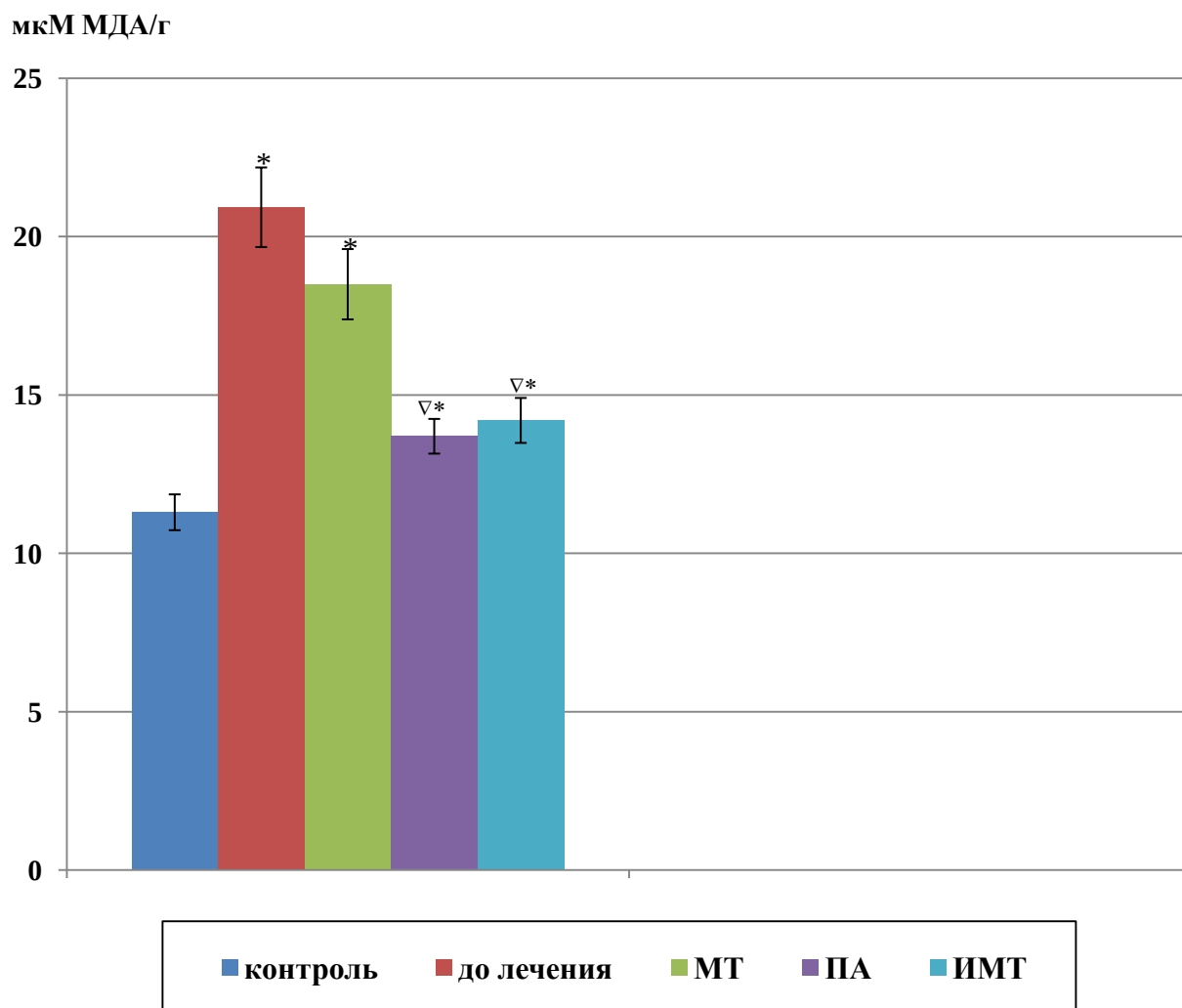


Рис. 15 Активность фосфолипазы A_2 в лимфоцитах при хронической обструктивной болезни легких после различных схем лечения (в мкМ МДА/г ткани). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Как известно, гидрофобные взаимодействия являются одним из факторов, определяющих структуру и стабильность глобулярных белков. Между тем, если в растворимых белках они реализуются во внутреннем гидрофобном ядре молекулы, то для мембраносвязанных белков, в частности интегральных транспортных АТФаз, существенное значение имеют взаимодействия неполярных аминокислотных остатков с гидрофобными углеводородными остатками липидной матрицы.

4.3 Изменение активности мембранно-ассоциированных транспортных АТФаз в лимфоцитах при ХОБЛ до и после различных методов лечения

Известно, что физиологическая роль липидной фазы мембранных структур заключается в создании микроокружения, обеспечивающего конформационную стабильность белков-ферментов в мембранах и, следовательно, эффективность работы ионных насосов, в частности Na/K-АТФазы. С другой стороны, в результате совершающихся качественных и количественных перестроек мембранных ФЛ лимфоцитов изменяется текучесть мембраны, приводя к развитию конформационных нарушений мембранных протеинов, вследствие чего наблюдаются заметные отклонения в активности мембранно-ассоциированных ферментов и рецепторных белков, утрачивающих свою эффективность в отношении раздражителей и расстраивающих таким образом существующие в норме лиганд-рецепторные отношения [157, 297].

С учетом всей важности нормального функционирования мембранно-связанных ферментов в жизнедеятельности лимфоцитов наши дальнейшие исследования были посвящены изучению активности интегральных транспортных белков лимфоцитарных мембран, в частности общей, Mg- и Na/K-АТФазы, при ХОБЛ до и после различных схем терапии.

Согласно полученным данным, в мембране лимфоцитов больных ХОБЛ выявлено заметное изменение активности мембранно-ассоциированных транспортных белков по сравнению с аналогичными показателями у лиц контрольной группы.

Как видно из таблицы 22, ХОБ и ЭЛ характеризуются некоторым повышением активности АТФаз.

При этом наиболее заметным изменениям подвергаются общая и Na/K-АТФазная активности, особенно при эмфиземе легких (больше контрольных величин в 1,5 и 2,3 раз соответственно).

Интересно, что при ОА отмечается лишь незначительные колебания активности изученных АТФаз.

**Изменение активности мембранно-ассоциированных ферментов лимфоцитов
при различных патологических состояниях (в мкмольх Фн/г)**

Ферменты	контроль n=25	ХОБ n=75	ЭЛ n=75	ОА 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

P – сравнение данных с контролем.

Несомненно, что повышению активности исследуемых АТФаз способствует окислительная деструкция основных классов фосфатидов-глицеридов и накопление ЛФХ, имеющее место в наших исследованиях. Последнее чревато переходом липидного бислоя в монослой и активацией проницаемости мембраны для одновалентных катионов.

Одним из механизмов модуляции активности ионтранспортных систем может явиться и окисление сульфгидрильных групп в их активном центре, приводящее к изменению его структуры [288]. При этом конформационные переходы в олигомерном комплексе АТФаз могут выражаться в изменении как сродства фермента к субстрату, так и скорости распада фермент-субстратного комплекса. Немаловажную роль играет и гормональный статус организма. Нейроэндокринная реакция, развивающаяся при ХОБЛ в подавляющем большинстве случаев, может инициировать раннее перераспределение поверхностных рецепторов, приводя к изменению активности мембранных АТФаз.

**Изменение активности мембранно-ассоциированных ферментов лимфоцитов
при хронической обструктивной болезни легких после различных схем лечения (в
мкмолях Фн /г)**

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

P₁ – сравнение данных с контролем; P₂ – сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Интересная картина разворачивается на фоне терапии (табл. 23). Так, после МТ у больных с ХОБЛ регистрируется дальнейшее повышение активности общей, Mg- и, особенно, Na/K-АТФазы (превышает контрольные величины почти в 2 раза). При

плазмаферезе и применении препарата инозин пранобекса отмечается тенденция к нормализации активности изученных ферментных систем, однако, несколько превышая 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.

ГЛАВА 5

ИЗМЕНЕНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА

ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ

БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ ДО И ПОСЛЕ РАЗЛИЧНЫХ

МЕТОДОВ ТЕРАПИЙ

Как известно, немаловажное значение в патогенезе ХОБЛ придается нарушению функции иммунной системы. Показано, что хронизация заболевания является следствием развития вторичной иммунной недостаточности, в результате чего снижается сопротивляемость организма к различным инфекционным агентам [150].

В различных исследованиях отмечается об увеличении количества макрофагов (до 25 раз), дендритных клеток, а также и нейтрофильных гранулоцитов в дыхательных путях больных ХОБЛ, коррелирующем с тяжестью и активностью воспалительного процесса [181, 215, 270].

Клетки врожденного иммунитета, активируясь через соответствующие рецепторы, выделяют цитокины и ферменты, запуская каскад воспалительных реакций с повреждением тканей легких. Неспецифические реакции врожденного иммунитета индуцируют адаптивный иммунный ответ с вовлечением Т- и В-лимфоцитов. С другой стороны, при вирусных и бактериальных инфекциях могут индуцироваться все типы клеточных и гуморальных реакций, усиливающих воспаление. Между тем, как показали наши исследования, именно вирусная инфекция, 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.

С учетом многокомпонентности иммунного ответа при ХОБЛ, в данной главе мы попытались оценить некоторые составляющие гуморального и клеточного звеньев иммунитета при различных патологических состояниях, а также проследить за изученными показателями после различных схем лечения.

5.1 Изменение основных показателей клеточного иммунитета при хронической обструктивной болезни легких до и после различных методов лечения

Установлено, что различные неспецифические заболевания легких сопровождаются нарушением клеточного звена иммунитета, причем эти изменения находятся в тесной зависимости с тяжестью клинических проявлений, со степенью вентиляционных нарушений. Воспаление при ХОБЛ – это реакция гиперреактивности, на начальном этапе неспецифическая, но с вовлечением антиген-специфических механизмов на последующих этапах [103, 230].

Поэтому мы проследили за изменением основных показателей, отражающих состояние Т-клеточного иммунитета, при ХОБЛ и после применения различных схем лечения.

Как известно, мембранные молекулы CD4 и CD8 являются корецепторами комплекса TCR-CD3 и рассматриваются в качестве основных маркеров определения Т-хелперов и цитотоксичных Т-лимфоцитов соответственно. Сравнительное изучение иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов при различных патологических состояниях ХОБЛ позволило выявить ряд особенностей (рис. 16).

Фактически, количество CD4+лимфоцитов, обладающих хелперно-индукторными свойствами, статистически достоверно уменьшалось при всех изученных патологических состояниях, наиболее отчетливо при ХОБ (в 2,5 раза) и ОА (в 2,2 раза). Уровень CD8+ клеток с цитотоксичными свойствами заметно повышался при эмфиземе легких в 1,3 раза, при ОА в

1,5 раза и при ХОБ в 1,1 раз. Полагают, что длительная персистенция вируса, действие других патогенных факторов (сигаретный дым и т.д.) при ХОБЛ нарушает созревание Т-регуляторных и дендритных клеток, приводя к преимущественной активации CD8+ лимфоцитов [293].

Показано, что количество CD8+ клеток коррелирует с выраженностью эмфиземы. Взаимодействие цитотоксических Т-лимфоцитов с клетками-мишенями приводит к проникновению в мембраны последних перфоринов и цитолизинов, что способствует гибели клеток путем апоптоза, тем самым поддерживая постоянный воспалительный процесс при ХОБЛ [194].

Указанные субпопуляционные изменения Т-лимфоцитов закономерно приводят к существенной инверсии иммуnoreгуляторного индекса CD4+/CD8+. Отмечается понижение отношения CD4+/CD8+ при всех изученных патологических состояниях. Примечательно, что при эмфиземе легких и ОА значение иммуnoreгуляторного индекса изменяется 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 CD25+-клеток, экспрессирующих α -цепь рецептора ИЛ-2, 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).

В настоящее время они рассматриваются как основные nTreg-клетки, способные к супрессии Th1 и Th2-опосредованных иммунных ответов [202]. Согласно данным некоторых авторов, nTreg-клетки могут образовываться и на периферии из CD4+CD25-клеток под действием патогенов, низких доз антигенных пептидов, глюкокортикоидов [226, 245].

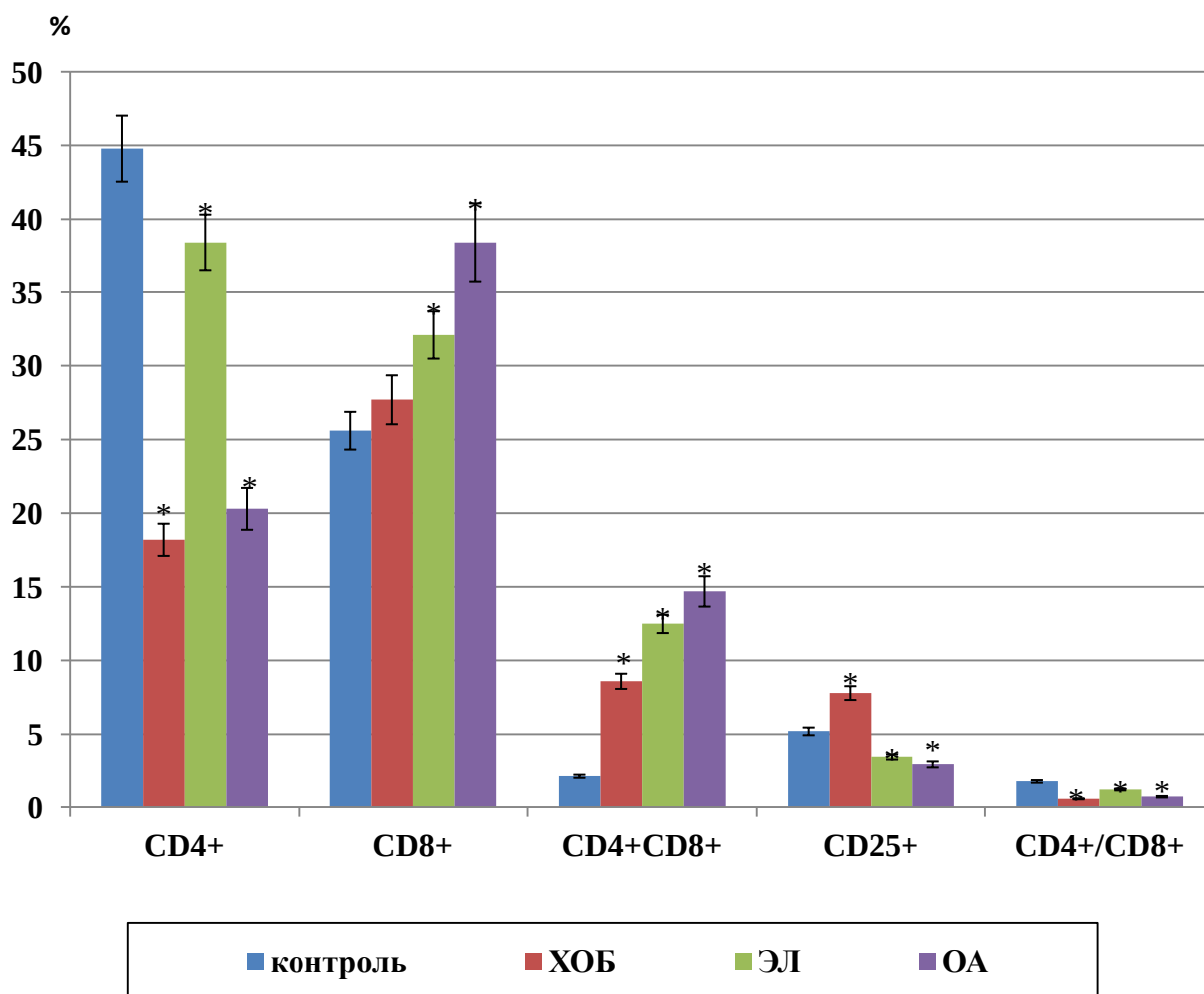


Рис. 16. Основные показатели состояния клеточного звена иммунитета при различных патологических состояниях (в %). * - $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем.

Согласно полученным данным, при ХОБ наблюдается статистически достоверное повышение (в 1,5 раза) количества CD25+-клеток и снижение – при эмфиземе легких и обструктивной астме (в 1,4 и 1,8 раз). Мы считаем, что это указывает на различия в иммуногенезе изученных патологических состояниях. Показано, что повышенная активность Т-регуляторных клеток приводит к развитию иммунодефицитных состояний и хронизации воспаления, а их дефицит в организме играет патогенетическую роль при аллергии, способствует развитию аутоиммунной патологии [142].

Особый интерес представлял 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 из тимуса [222].

С другой стороны, некоторые исследователи отмечают об увеличении количества дубль-позитивных CD4+CD8+ лимфоцитов при таких патологических состояниях, как вызванный вирусом Эпштейна-Барр мононуклеоз, ВИЧ-инфекция, хронический лимфолейкоз и другие [280].

Существует также мнение о том, что представители данной субпопуляции лимфоцитов являются высокодифференцированными клетками памяти и могут участвовать в реакциях адаптивного иммунитета в ответ на действие вирусных агентов [250].

В наших исследованиях обнаружено резкое повышение уровня дубль-позитивных CD4+CD8+ лимфоцитов во всех обследованных группах – в 4,1 раз при ХОБ, в 6 раз при эмфиземе легких, в 7 раз при ОА (рис. 16).

Мы считаем это вполне закономерным, так как почти у всех обследованных пациентов с ХОБЛ обнаружен заметно высокий титр анти-VCA IgG, 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 того, что повреждение мембран имеет единый патогенетический механизм, различные патологические состояния 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.

Иммунные нарушения, обнаруженные при ХОБЛ, предполагают включение в схемы лечения иммуномодулирующих препаратов, способствующих восстановлению обнаруженных отклонений. Более того, 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.

Применение различных методик лечения при ХОБ дало следующие результаты (рис. 17). Как мы ожидали, наибольшая эффективность наблюдалась при использовании плазмафереза и, особенно, иммуномодулирующего препарата. Так, сниженное при ХОБ содержание CD4⁺-лимфоцитов имело тенденцию к повышению, составляя $25,6 \pm 2,1$ и $38,5 \pm 2,7$ процента соответственно. После проведения плазмафереза уровень цитотоксических CD8⁺-клеток был ниже контрольных величин (в пределах нижней границы референтных значений). МТ не приводила к нормализации уровня обоих корцепторов, что, несомненно, отражалось на значении иммунорегуляторного индекса.

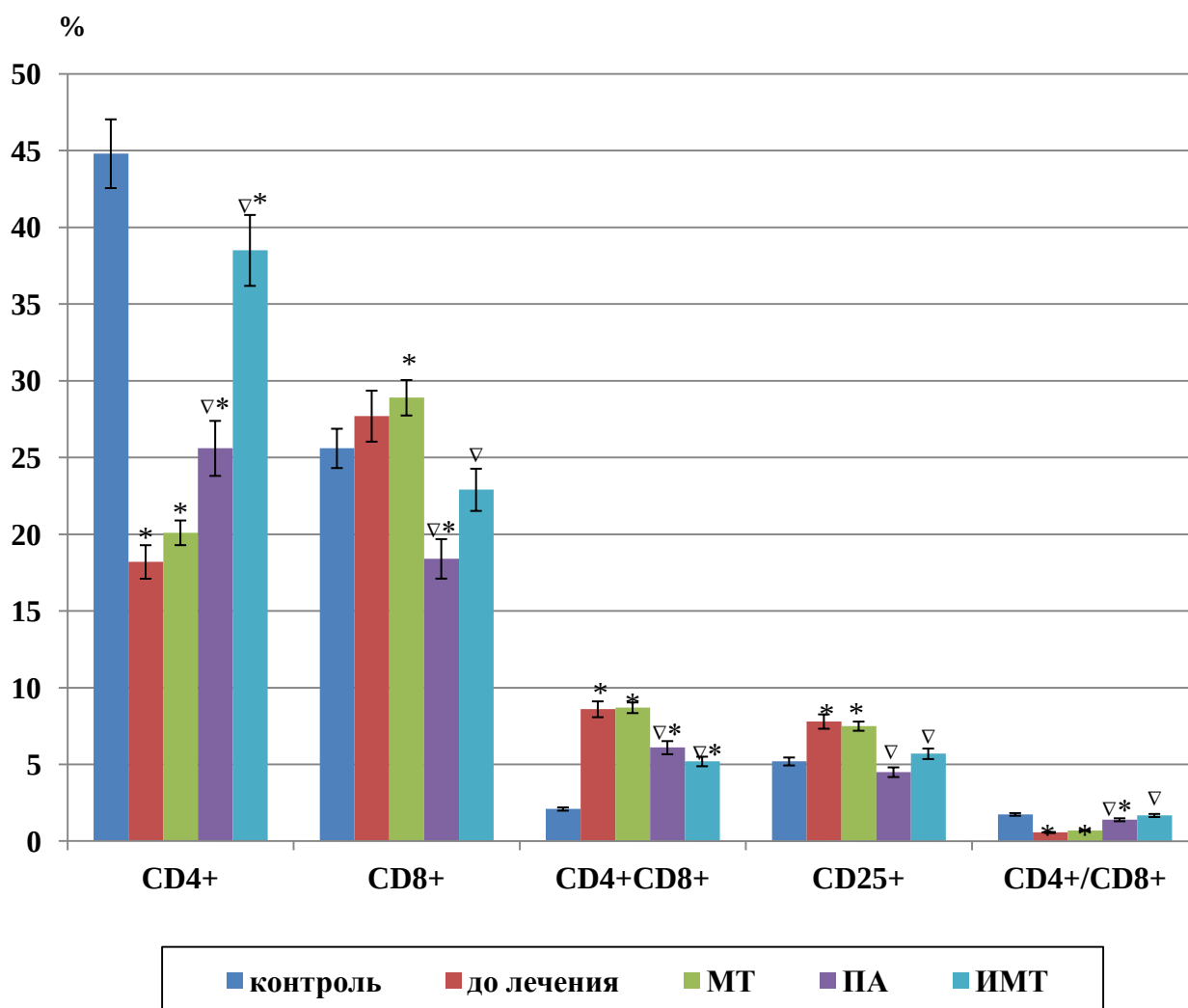


Рис. 17. Основные показатели состояния клеточного звена иммунитета при хроническом обструктивном бронхите после различных схем лечения (в %). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

После MT $CD4+/CD8+ < 1$, что является свидетельством наличия иммунодефицитного состояния, даже после предпринятого лечения. После плазмафереза и иммуномодулирующей терапии инозин пранобексом наблюдается почти полная нормализация иммунорегуляторного индекса, особенно после применения иммуномодулятора. Применение плазмафереза и иммуномодулятора приводит к уменьшению содержания как $CD25^{+}$, так и

CD4+CD8+ клеток. По-видимому, это является свидетельством снижения антигенной нагрузки у пациентов данных групп после лечения. Применение стандартной МТ, к сожалению, никаким образом не влияет на эти параметры. При ХОБ их количество остается на том же уровне, что и до проводимой медикаментозной терапии.

При эмфиземе легких процентное содержание основных иммунокомпетентных клеток, характеризующих состояние клеточного звена иммунитета, претерпевало следующие изменения (рис. 18).

Концентрация CD4+-клеток статистически достоверным изменениям не подвергалась. Повышенное содержание CD8+-клеток снижалось, наиболее отчетливо – после плазмафереза и иммуномодулирующего лечения, достигая $20,9 \pm 3,1$ и $22,2 \pm 1,6$ процентов соответственно. В результате наблюдаемых колебаний в содержании изученных корцепторов отмечалась полная нормализация иммунорегуляторного индекса после применения плазмафереза и иммунокорригирующего лечения, но не МТ.

Количество дубль-позитивных CD4+CD8+-клеток достоверно снижалось, наиболее отчетливо у пациентов, дополнительно получавших сеансы плазмафереза или иммуномодулирующий препарат инозин пранобекс. В первом случае мы связываем этот эффект с элиминацией их из кровяного русла в результате плазмафереза, во втором – с модулирующим действием противовирусной терапии.

Обнаружена интересная закономерность в изменении количества поздних маркеров активации Т-хелперов – CD25+-клеток, у пациентов с ЭЛ после различных вариантов лечения.

Так, если после применения иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса их содержание приближается к контрольным величинам, то после МТ и ПА их концентрация продолжает снижаться.

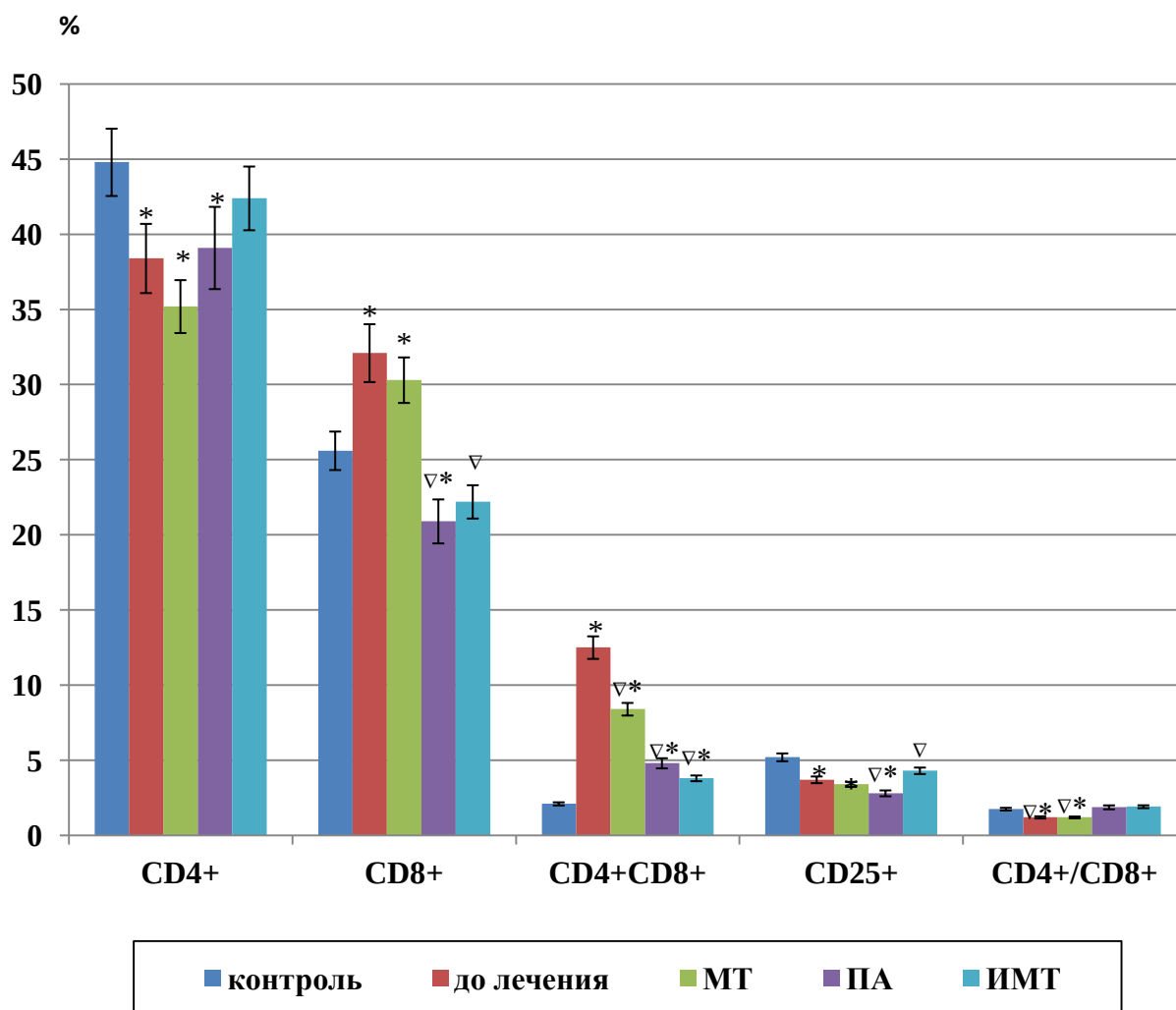


Рис. 18. Основные показатели состояния клеточного звена иммунитета при эмфиземе легких после различных схем лечения (в %). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ▽ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Принимая во внимание, что эмфизема легких развивается и протекает по аутоиммунному механизму, можно предположить, что дальнейшее снижение их концентрации может привести к прогрессированию заболевания. Имеются данные об обратной корреляции между активностью Т-регуляторных клеток и клиническими проявлениями некоторых аутоиммунных заболеваний [287].

Показано, что уменьшение содержания CD4+CD25+ Т-клеток вызывает накопление Th2-клеток, индуцирующих эозинофильное воспаление дыхательных путей [221].

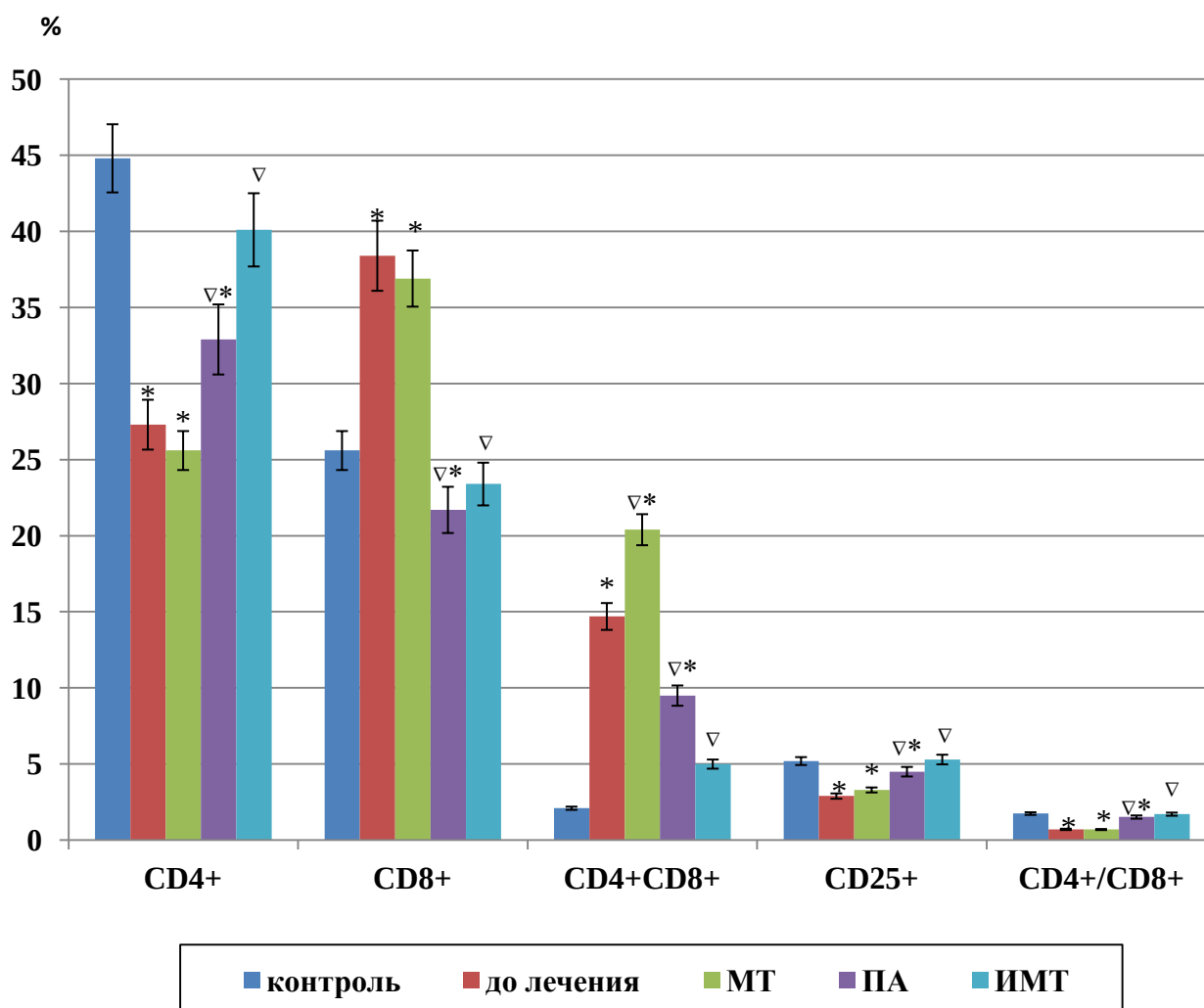


Рис. 19. Основные показатели состояния клеточного звена иммунитета при обструктивной астме после различных схем лечения (в %). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ▽ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Схожая картина наблюдается после лечения пациентов с ОА (рис. 19). Как было показано выше, иммунопатогенез ОА сложен: он протекает как по аутоиммунному, так и иммунодефицитному фенотипу, с вовлечением аллергических реакций.

Количество CD4⁺-клеток с Т-хелперными функциями, заметно 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 уменьшают супрессию иммунного ответа за счет резкого снижения концентрации цитотоксических CD8⁺-лимфоцитов.

Совершающиеся изменения приводят к нормализации отношения CD4⁺/CD8⁺, указывая на адекватность иммунного ответа.

После применения ИМТ и ПА наблюдается тенденция к нормализации дубль-позитивных CD4⁺CD8⁺-клеток, свидетельствуя о снижении антигенной нагрузки. С другой стороны, отмечается постепенное нарастание количества CD25⁺-лимфоцитов, ответственных за активирование Т-хелперов. Кроме того, имеются сведения о способности CD4⁺CD25⁺-клеток подавлять аллергические реакции. Так, в экспериментальной модели БА CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺-клетки, индуцированные TGF- β , предотвращали развитие патологии у мышей, сенсibilизированных клещевыми аллергенами [172].

К сожалению, необходимо констатировать, что стандартная МТ при ОА не приводит к каким-либо улучшениям изученных показателей клеточного звена иммунитета, а по некоторым параметрам – к прогрессированию зарегистрированных отклонений.

Таким образом, включение в схему лечения плазмафереза или иммуномодулирующей терапии при ХОБЛ способствует восстановлению нарушенного звена клеточного иммунитета.

5.2 Изменение основных показателей гуморального иммунитета при хронической обструктивной болезни легких до и после различных методов лечения

Как было сказано выше, недостаточность иммунной системы является одним из важных факторов нарушения устойчивости организма к действию патогенных агентов, персистирующих в организме и являющихся одной из причин развития ХОБЛ. Немаловажное значение в специфической защите организма от патогенов имеют факторы гуморального иммунитета – иммуноглобулины и ЦИК.

Так, сывороточные IgG рассматриваются в качестве антиген-связывающего агента, препятствующего адгезии патогенов – триггеров заболевания, на легочном эпителии и стимулирующего атаку цитотоксичных лимфоцитов. В тоже время IgA в качестве компонента гуморального иммунитета подавляют активность микроорганизмов после их проникновения через эндотелиальную мембрану.

IgM привлекают фагоцитов в места расположения антигена или в очаг инфекции с активацией фагоцитоза. IgG и IgM защищают организм от инфекции и продуктов жизнедеятельности патогенов за счет активации комплемента, опсонизации и активации фагоцитоза.

Увеличение концентрации ЦИК способствует повреждению мембран и развитию иммунопатологического процесса в органах с одной стороны, и активации систем комплемента 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 А, М и G, а также ЦИК при ХОБЛ и после применения различных схем лечения.

Согласно нашим данным (табл. 24), при всех патологиях отмечается 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 обусловлены высокой концентрацией IgG, содержание которых при ХОБ повышается почти в 2 раз, а при ЭЛ и ОА – в 2,7 и 2,6 раз соответственно.

Обнаруженные изменения, несомненно, обусловлены сдвигом активности гуморального звена иммунитета и являются отражением функциональной неполноценности фагоцитарной системы, обеспечивающей деградацию и элиминацию ЦИК из организма.

Таблица 24

**Изменение концентрации основных классов сывороточных
иммуноглобулинов и ЦИК у больных хронической обструктивной
болезнью легких**

Показатели	контроль n=25	ХОБ n=75	ЭЛ n=75	ОА n=75
IgA (г/л)	2,34±0,4	3,14±0,5 P<0.05	1,67±0,4 P<0.05	1,92±0,7 P<0.05
IgM (г/л)	1,62±0,2	1,25±0,2 P>0.5	1,98±0,4 P<0.05	1,14±0,2 P<0.05
IgG (г/л)	12,41±1,2	28,32±1,7 P<0.01	33,07±2,1 P<0.01	31,73±1,8 P<0.01
ЦИК (y.e.)	118,74±5,8	255,61±7,6 P<0.05	485,13±7,5 P<0.01	371,66±8,1 P<0.01

P – сравнение данных с контролем.

При ХОБ и эмфиземе легких концентрация IgM статистически достоверным изменениям не подвергалась.

При ОА отмечается достоверное снижение их уровня в 1,4 раза. Возможно, в условиях общего угнетения функции В-звена иммунитета, наблюдающегося при персистировании вируса, плазматические клетки не отвечают на раздражение усилением выработки IgM. Концентрация IgA в 1,3 раза повышается при ХОБ, а при ЭЛ и ОА снижается в 1,6 и 1,4 раза соответственно. Показано, что инактивация IgA может наступить под влиянием IgA-протеаз, продуцируемые некоторыми микроорганизмами.

Таким образом, наблюдаемые изменения свидетельствуют о функциональной неполноценности гуморального звена иммунитета, приводя к развитию и прогрессированию аутоиммунной и иммунопатологической реакции.

Результаты, полученные после применения различных схем лечения, представлены в таблицах 25-27.

Необходимо отметить, что включение в схемы лечения пациентов с ХОБЛ плазмафереза и, особенно, иммуномодулирующего противовирусного препарата инозин пранобекса вполне оправдано, такая терапия характеризуется наибольшим положительным воздействием на гуморальное звено иммунопатогенеза.

В частности, как при ХОБ, так и при ЭЛ и ОА у больных, леченных с применением плазмафереза и иммуномодулирующей терапии, наблюдается существенная тенденция к нормализации основных классов иммуноглобулинов и ЦИК.

Наблюдается резкое снижение уровней IgG, играющих, как известно, основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях, вызывая гибель возбудителя с участием комплемента и опсонизируя фагоцитарные клетки.

**Изменение концентрации основных классов сывороточных иммуноглобулинов и
ЦИК при хроническом обструктивном бронхите
после различных схем лечения**

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

P₁ – сравнение данных с контролем; P₂ - сравнение данных после лечения с данными до лечения.

**Изменение концентрации основных классов сывороточных иммуноглобулинов и
ЦИК при эмфиземе легких после различных схем лечения**

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

P₁ – сравнение данных с контролем; P₂ - сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Изменение концентрации основных классов сывороточных иммуноглобулинов и ЦИК при обструктивной астме после различных схем лечения

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

P₁ – сравнение данных с контролем; P₂ - сравнение данных после лечения с данными до лечения.

Между тем, если в первом случае положительный иммунокорригирующий эффект обусловлен механическим удалением ЦИК, токсинов, факторов воспаления с плазмой, действие препарата инозин пранобекса направлено на коррекцию интимных механизмов, лежащих в основе иммунопатогенеза ХОБЛ.

Использование только базисной МТ не приводит к полной коррекции нарушенного звена гуморального иммунитета.

Таким образом, ввиду того, что нарушения в деятельности иммунной системы при ХОБЛ затрагивают как клеточное, так и гуморальное звено иммунного ответа, включение в схемы лечения таких пациентов препаратов, обладающими иммуномодулирующими свойствами, вполне целесообразно. Как показано в ряде исследований, препарат инозин пранобекс напрямую действует на вирус путем нарушения синтеза вирусной РНК.

С другой стороны, как подтверждают наши исследования, препарат модулирует клеточный иммунный ответ и усиливает гуморальный. В результате нормализуется деятельность иммунной системы, повышается резистентность организма к инфекциям, наблюдается быстрая локализация очага воспаления, приводя к купированию воспаления и прогрессирования ХОБЛ. В наших исследованиях обнаружено и мембраностабилизирующее действие данного препарата, очевидно, за счет инозинового компонента препарата, вовлекающегося в пуриновый метаболизм.

5.3 Изменение активности экто-5'-нуклеотидазы/CD73 при хронической обструктивной болезни легких до и после различных методов лечения

Как известно, механизм супрессорного действия Т-регуляторных клеток обусловлен не только их прямым контактом с клетками-мишенями [255], но и синтезом соединений, обладающих той же антигенной специфичностью и активностью, что и вырабатывающие их Т-клетки. К таким соединениям относятся пурины – аденозин, АМР, инозин, сАМР и другие [152, 211].

На сегодняшний день доказано, что нарушение пуринового обмена, в частности деятельности экто-5'-нуклеотидазы (э5'НТ, CD73), являющейся одним из ключевых ферментов пуринового цикла, приводит к функциональной неполноценности клеток иммунной системы [218].

Фермент является поверхностным, рафт-ассоциированным гликопротеином, прикрепленным к мембране при помощи гликозилфосфоинозитольного якоря и регулирующим концентрацию аденозина на клеточной поверхности путем превращения АМР в аденозин.

В иммунной системе CD73 экспрессируется во всех клетках, однако его экспрессия наиболее выражена в лимфоцитах. При этом активность фермента в Т-лимфоцитах намного ниже, чем в В-лимфоцитах. Показано, что аденозин и его производные являются селективными активаторами Т-лимфоцитов. В частности, молекула CD73, участвующая в процессе образования аденозина, играет существенную роль в активации цитотоксичных Т-лимфоцитов. Согласно литературным данным [241], э5'НТ-положительные Т-клетки на 60% состоят из популяции CD8⁺-клеток, в основном представленной Т-супрессорами, в то время как э5'НТ-отрицательные Т-клетки являются CD4⁺-клетками. Недостаточность э5'НТ в Т-лимфоцитах проявляется блокированием G-фазы клеточного цикла, подавлением супрессорного действия Т-лимфоцитов. С другой стороны, э5'НТ считается маркером функциональной зрелости лимфоцитов. Активность фермента в клетках-предшественниках в 5-6 раз ниже, чем в зрелых лимфоцитах.

Показано, что В-лимфоциты с низкой э5'НТ-зной активностью не способны к нормальному синтезу иммуноглобулинов. Так, отмечено снижение экспрессии э5'НТ в моноклеональных клетках у пациентов с первичным дефицитом иммуноглобулинов. Дефицит фермента приводил к торможению пролиферации В-лимфоцитов, блокируя S-фазу клеточного цикла.

Доказано, что э5'НТ специфически локализуется в липидных рафтах – структурно-функциональных элементов мембраны, регулирующих активацию и передачу сигнала, а также перестройку цитоскелета [235].

В иммунной системе они обеспечивают эффективное распознавание антигена Т-клетками и формирование полноценного активационного сигнала. Между тем, в отличие от комплекса TCR-CD3, в состав рафтов входят и корецепторы CD4 и CD8 (вместе с киназой Lck). На ранних стадиях активации Т-клеток между TCR-CD3 и корецепторами происходит

взаимодействие (иммунный синапс), что позволяет корцептору ввести рецепторный комплекс в состав рафта, обуславливая эффективность презентации антигена. При этом потеря холестерина или модификация участвующих в презентации белков с потерей сродства к рафтам приводит к нарушению презентации антигена [276].

Ввиду важного значения э5'НТ в деятельности как иммунной системы, так и липидных рафтов мы сочли интересным проследить за изменением ее активности при ХОБЛ до и после различных методов лечения, а также сравнить с другими показателями клеточного и гуморального иммунитета.

Согласно полученным данным, активность э5'НТ в мембране лимфоцитов больных при различных вариантах ХОБЛ статистически достоверно снижается, причем наиболее существенно при ОА (рис. 20). Так, при ХОБ активность фермента падает в 1,3 раза, при ЭЛ и БА – в 1,7 и 2,4 раз соответственно. Как известно, э5'НТ является поверхностным белком мембраны и ее активность регулируется состоянием текучести наружного слоя мембраны (СМ/ФХ).

Несомненно, что подавление активности фермента при ОА и эмфиземе легких обусловлено повышенной ригидностью наружного слоя мембраны лимфоцитов, отмечаемой в наших исследованиях (см. табл. 10). Мы считаем, что потеря э5'НТ с поверхности лимфоцитов ведет к перестройке/распаду липидных рафтов, следовательно, к нарушению передачи дифференцировочных сигналов, приводя к выбросу в кровоток клеток с недостаточной иммунной активностью. С другой стороны, показано, что дефицит э5'НТ ведет к затруднению поступления нуклеотидов внутрь клетки, вследствие чего снижается ее аденилатный заряд, нарушается синтез белка, работа мембранных ионных систем, следовательно, нормальное функционирование иммунных клеток [218].

Необходимо отметить о наличии обратной корреляции между активностью э5'НТ и содержанием CD4+CD8+-клеток, наиболее сильной при ОА. Так, при ХОБ $r=-0.27$, при эмфиземе легких $r=-0.33$, а при ОА $r=-0.63$. Интересно, что при ХОБ наблюдается прямая сильная зависимость между CD25+ и э5'НТ ($r=0.55$), тогда как при ОА и ЭЛ – слабая и обратная корреляционная связь (при ЭЛ $r=-0.16$, при ОА $r=-0.26$).

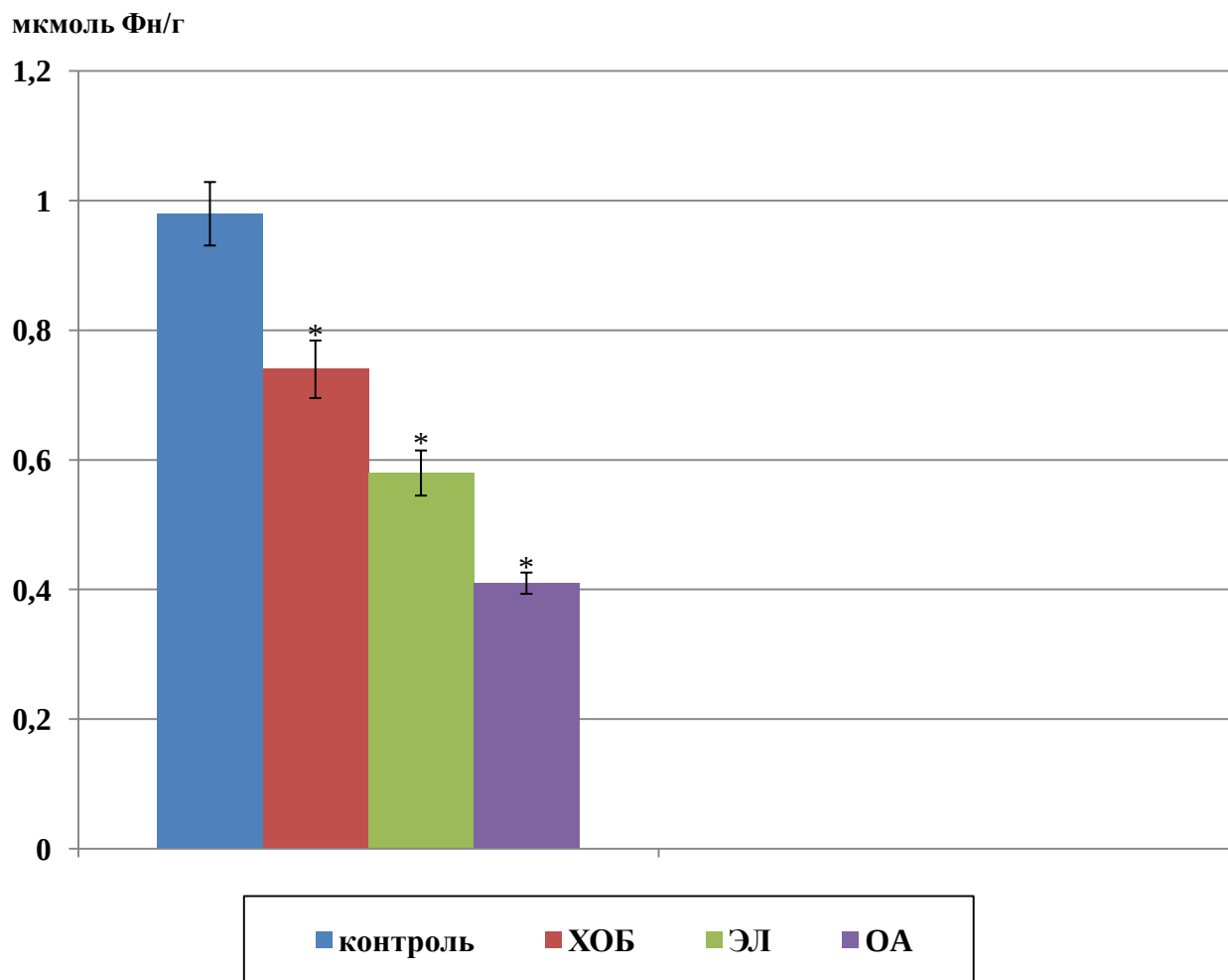


Рис. 20. Изменение активности экто-5'-нуклеотидазы/CD73 при различных патологических состояниях (в мкмоль Фн/г). Р – сравнение данных с контролем.

Результаты, полученные после лечения, представлены на рисунках 21-23. Так же, как и в случае других параметров, характеризующих состояние иммунитета, МТ не приводит к нормализации активности э5'НТ ни при одном из патологических состояний ХОБЛ. Наоборот, тенденция к нормализации отмечается при использовании в комплексной терапии плазмафереза, и полная нормализация – иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса. Последнее вполне закономерно, так как данный препарат является синтетическим аналогом инозина, который в организме метаболизируется в пуриновом цикле. Инозин, обладает теми же свойствами, что и аденозин [211].

мкмоль Фн/г

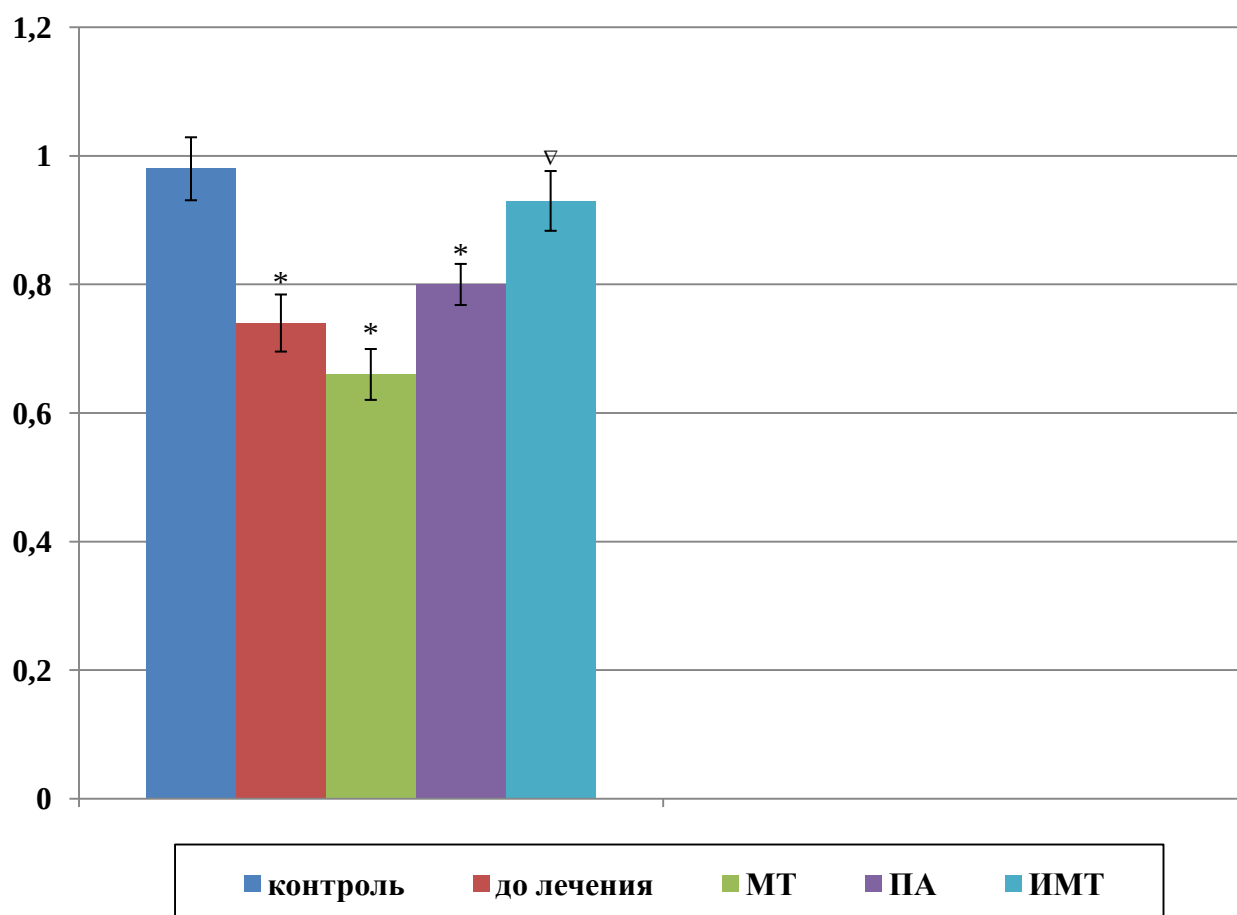


Рис. 21. Изменение активности экто-5'-нуклеотидазы/CD73 при хроническом обструктивном бронхите до и после лечения (в мкмольях Фн/г). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Таким образом, анализируя вышеизложенное, можно заключить, что использование только стандартной терапии при лечении пациентов с ХОБЛ не эффективно. Почти у всех пациентов с ХОБЛ наблюдается персистирование вируса Эпштейна-Барр (моно- или микст-инфекция) с нарушением деятельности клеток иммунной системы. Поэтому в схемы лечения

таких пациентов предпочтительно включение противовирусных препаратов с иммуномодулирующими свойствами.

мкмольФн/г

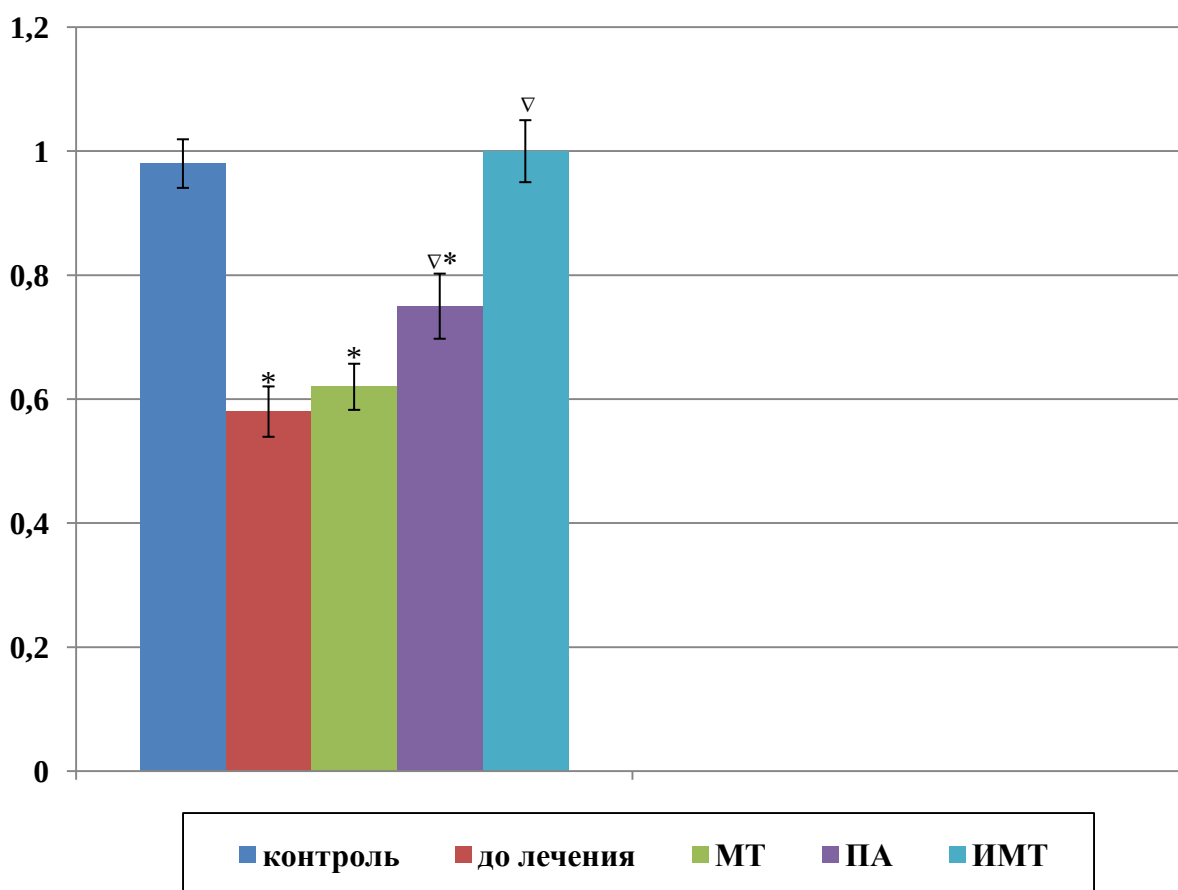


Рис. 22. Изменение активности экто-5'-нуклеотидазы/CD73 при эмфиземе легких до и после лечения (в мкмольФн/г). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Справедливо отметить, что в наших исследованиях нормализация некоторых биохимических и иммунологических показателей наблюдалась и после включения в комплексное лечение плазмафереза. Однако иммунокорригирующий эффект плазмафереза в

основном обусловлен деплазмированием клеточных элементов, механическим удалением из плазмы токсинов, патогенов, антител и не затрагивает интимных механизмов, лежащих в основе иммунных нарушений.

мкмольФн/г

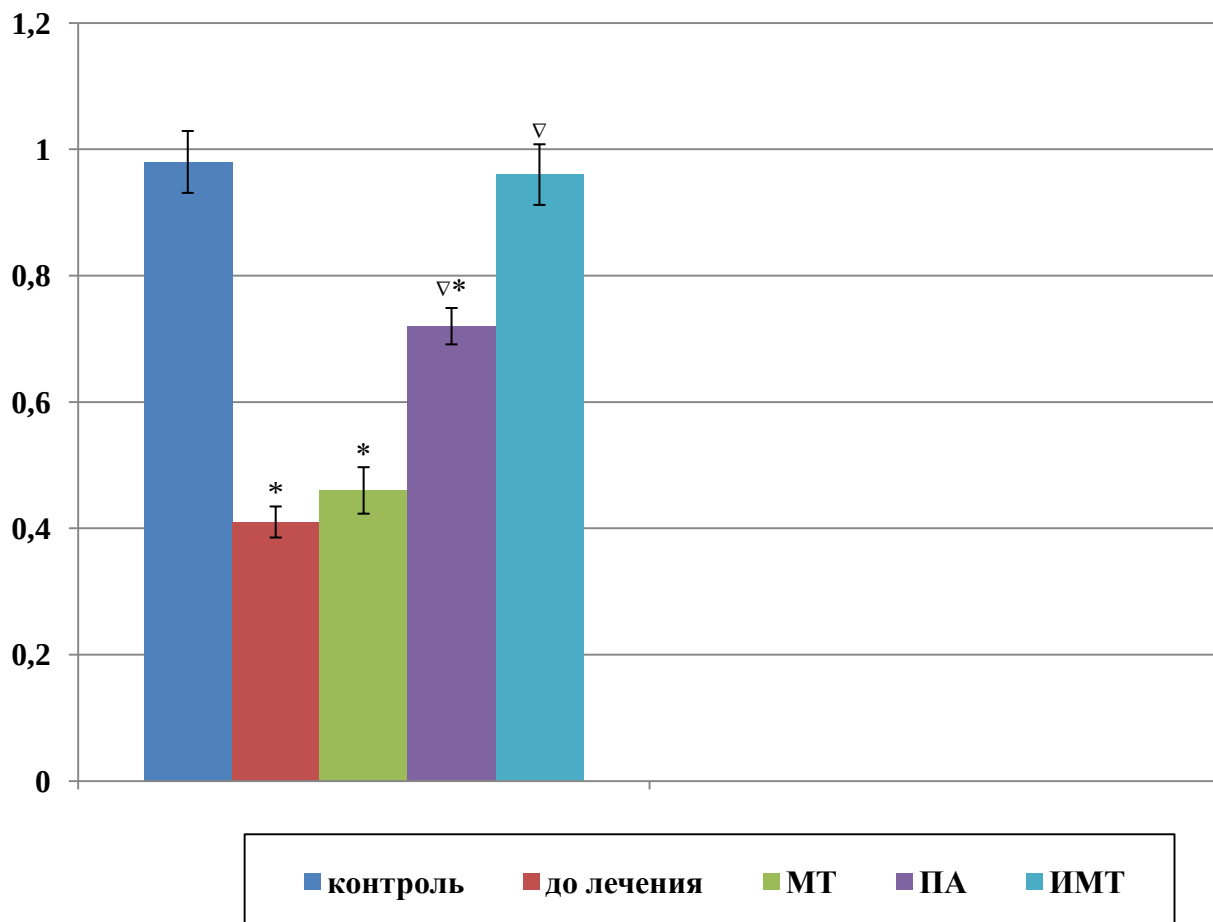


Рис. 23. Изменение активности экто-5'-нуклеотидазы/CD73 при обструктивной астме до и после лечения (в мкмольФн/г). $P < 0.05$; без обозначений – данные статистически не достоверны. ∇ – сравнение данных после лечения с результатами до лечения; * - сравнение данных с контролем.

Препарат инозин пранобекс – иммуномодулятор универсального стимулирующего действия с преобладанием тимомиметических эффектов [96]. Считают, что он активизирует

пролиферацию Т-лимфоцитов, Т-хелперов, НК-клеток, уравнивает баланс клеточного и гуморального звена в иммунной системе. Эффект препарата, с одной стороны, обусловлен стимуляцией биохимических процессов в макрофагах, усилением хемотаксической и фагоцитарной активности моноцитов, макрофагов и полиморфноядерных лейкоцитов, а с другой стороны – повышением продукции цитокинов и усилением синтеза антител. На наш взгляд, механизм терапевтического эффекта иммуномодулирующей терапии связан с его нормализующим действием на активность э5'НТ/CD73.

Мы считаем, что, воздействуя на один из ключевых ферментов пуринового цикла, играющего, к тому же, немаловажную роль в дифференцировке и нормальном функционировании лимфоцитов, можно корректировать дисбаланс клеточного и гуморального звена иммунитета, что намного повысит эффективность лечения пациентов с ХОБЛ. Исследованные в нашей работе параметры клеточного и гуморального иммунитета, наряду с э5'НТ/CD73, могут быть использованы не только в качестве прогностических критериев ХОБЛ, но и для оценки эффективности терапии с использованием иммуномодулирующих препаратов с противовирусным действием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время хроническая обструктивная болезнь легких является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности [236], что позволяет рассматривать ее как тяжелое социальное и экономическое бремя, уровень которого будет постоянно увеличиваться вплоть до 2030-х годов.

В исследованиях BOLD (*Burden of Obstructive Lung Disease*) с помощью стандартизованных вопросников и легочных функциональных тестов обеспечена уникальная возможность оценки распространенности хронической обструктивной болезни легких в популяции взрослых людей старше 40 лет как в развитых, так и в развивающихся странах. По данным исследования BOLD, распространенность хронической обструктивной болезни легких $\geq$ II стадии (GOLD) среди лиц старше 40 лет составила $10,1 \pm 4,8$ % (для мужчин – $11,8 \pm 7,9$ %, для женщин – $8,5 \pm 5,8$ %) [160].

В недавно опубликованном поперечном популяционном эпидемиологическом исследовании, проведенном в 12 регионах России ($n = 7\,164$: 57,2 % – женщины; средний возраст 43,4 года), распространенность хронической обструктивной болезни легких среди лиц с респираторными симптомами составила 21,8 %, а среди лиц общей популяции – 15,3 % [176].

Актуальность хронической обструктивной болезни легких среди всех глобальных медико-социальных проблем обусловлена не только широкой распространенностью заболевания, но и высоким риском серьезных осложнений, приводящих к инвалидизации и смерти, в т. ч. трудоспособного населения [205].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), хроническая обструктивная болезнь легких занимает 3-ю позицию (4,8 %) в мире среди причин смерти

[216]. Ежегодно от хронической обструктивной болезни легких умирает примерно 2,8 млн. человек. Особенно выраженный рост летальности от хронической обструктивной болезни легких отмечается среди женщин.

Обострения хронической обструктивной болезни легких в большинстве случаев провоцируются вирусной и бактериальной инфекцией верхних дыхательных путей и трахеобронхиального дерева [139, 264, 277].

При целом ряде патологических состояний в организме имеет место активация герпесвирусных инфекций. Попадая в кровоток, активные компоненты герпесвирусной инфекции вносят свой “вклад” в утяжеление болезни.

Использование стандартных схем лечения не всегда является эффективным, они также могут привести к нежелательным последствиям: развитию антибиотикоустойчивых штаммов микробов, изменению реактивности организма.

В связи с наблюдаемым ростом заболеваемости хронической обструктивной болезни легких, а также высоким риском появления серьезных осложнений, приводящих к инвалидизации и смертности населения, возникла необходимость поиска новых, более рациональных методов лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких.

При хроническом легочном воспалении, вызванном оксидативным стрессом, возникает легочный фиброз и ремоделирование легочной ткани. В случае оксидативного стресса снижается порог восприимчивости клеток. Плазмаферез является радикальным методом детоксикации. При этом биологический эффект плазмафереза заключается в его многофакторном действии на организм. Он включает иммуностимулирующий, противовоспалительный, детоксикационный эффекты. Эффект плазмафереза заключается с одной стороны – в уменьшении концентрации антигенов и антител, токсинов, конечных продуктов воспаления и прокоагулянтов; с другой – в восстановлении чувствительности клеточных рецепторов, нарушенного обмена веществ.

Любая вирусная инфекция может привести к обострению хронической обструктивной болезни легких. Персистенция вируса и/или внутриклеточного возбудителя на фоне повышенной чувствительности бронхиального дерева к инфекции вызывает хроническое

воспаление, а реинфицирование вирусной этиологии способствует развитию острого воспаления на фоне хронического. Препарат инозин пронабекс (гроприносин, изоприносин) является иммуномодулирующим с противовирусным действием, который представляет собой комплекс, содержащий инозин и N₁N-диметиламино-2-пропанол.

Эффективность комплекса определяется присутствием инозина, второй компонент повышает его доступность для лимфоцитов. Под воздействием препарата наблюдается стимуляция хемотоксической и фагоцитарной активности моноцитов, макрофагов и полиморфноядерных клеток. Он также подавляет репликацию ДНК и РНК вирусов, усиливает защитные свойства организма, стимулирует функцию макрофагов, пролиферацию лимфоцитов и выработку лимфокинов.

С учетом вышеизложенного, нами была поставлена цель исследовать эффективность различных методов проводимой терапии и научно обосновать их применение при хронической обструктивной болезни легких. В то же время была дана оценка терапевтического эффекта каждого из методов лечения как по клиническим, так и по биохимическим показателям.

Для определения эффективности терапии клинические и биохимические исследования проводились до и после лечения, как в общей совокупности, так и в группах, одинаковых по степени тяжести, активности патологического процесса и нарушению вентиляционной функции легких.

Как известно, актуальной проблемой современной медицины является высокая инфицированность населения одним из представителей герпесвирусов – вирусом Эпштейна-Барр, что дало основание для обследования больных с хронической обструктивной болезнью легких и установления распространенности и роли данного вируса при данной патологии.

Результаты исследования выявили, что почти у всех обследованных больных с хронической обструктивной болезнью легких отмечалось повышение концентрации IgG вируса Эпштейна-Барр. Лишь у одного больного IgG был в пределах нормы. У другого больного, помимо повышения концентрации VCA-IgG, было обнаружено повышение концентрации VCA-IgM вируса Эпштейна-Барр.

После проведенных лабораторных и инструментальных исследований данному больному был поставлен диагноз мононуклеоз. Он был исключен из списка исследования и был переведен в специализированную больницу для получения соответствующего лечения.

Проанализировав данные, полученные в результате исследований VCA-IgG вируса Эпштейна-Барр при хронической обструктивной болезни легких, мы заключили, что заболевание сопровождается резким повышением концентрации VCA-IgG вируса Эпштейна-Барр. Причем у больных с эмфиземой легких данный показатель подвергался более резким изменениям, чем при обструктивной астме и хроническом обструктивном бронхите. Было также зарегистрировано, что концентрация VCA-IgG повышалась пропорционально степени тяжести хронической обструктивной болезни легких.

Полученные данные, возможно, являются следствием того, что вирус Эпштейн-Барр паразитирует в клетках иммунной системы (В-лимфоцитах), лишая их возможности выполнять предназначенные функции [55]. 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 хронической обструктивной болезни легких, по сравнению со стандартной медикаментозной терапией.

Проводимые процедуры плазмафереза показывали больший эффект при обструктивной астме, применение иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса оказывало большую коррекцию при хроническом обструктивном бронхите.

При эмфиземе легких результаты этих двух методов почти соизмеримы. Можно утверждать, что использование данных методов лечения нормализуют резкие отклонения концентрации VCA-IgG вируса Эпштейна-Барр. Очевидно, эффект плазмафереза связан с механическим удалением антигенов и антител, повышая функциональные возможности

клеток. Более того, взамен удаленным клеткам из костного мозга поступают несенсибилизированные к тканям организма клетки.

При исследовании больных хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от степени тяжести заболевания были получены следующие данные: как при легкой, так и при средней степени тяжести заболевания концентрация VCA-IgG вируса Эпштейна-Барр подвергалась наибольшему изменению после применения иммуномодулирующей терапии и использования плазмафереза. 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 иммуномодулирующей терапии инозин пранобексом наблюдалась небольшая положительная динамика, при использовании медикаментозной терапии динамика почти не наблюдалась.

Клинические наблюдения показали, что проводимая терапия оказывает различное влияние на больных хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от 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 хроническим обструктивным бронхитом. Больные с обструктивной астмой также отмечали облегчение отхождения мокроты. Чаще положительная динамика наблюдалась у больных с легкой и средней степенью тяжести заболевания. Цианоз также являлся одним из основных клинических симптомов хронической обструктивной болезни легких. Цианоз 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 количество хрипов в легких уменьшалось 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%). Причем необходимо отметить, что основная часть больных без изменений приходилась на группу, где использовалась стандартная медикаментозная терапия.

При применении в комплексе терапии сеансов плазмафереза наблюдалось значимое улучшение клинического состояния у больных с обструктивной астмой. Они отмечали уменьшение интенсивности и частоты приступов удушья. У всех больных имело место уменьшение кашля, мокрота становилась более легко отделяемой, т.е. наблюдалось 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 отменены. Справедливо отметить, что у всех этих больных диагностировалась эмфизема легких с тяжелой степенью тяжести заболевания.

При исследовании группы больных, получавших только медикаментозную терапию по стандартным схемам, было зафиксировано, что все клинические данные подвергались улучшению, однако изменения были не столь выражены.

Сравнивая динамику улучшения клинических симптомов у пациентов данной группы с двумя другими группами больных, получавших нестандартную терапию, с включением в лечебные схемы сеансы плазмафереза в одной группе и в другой – дополнительное назначение иммуномодулятора инозин пранобекса, можно констатировать, что традиционная терапия оказалась менее эффективной. При применении как плазмафереза, так и иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса на фоне медикаментозной терапии

клинические симптомы подвергались изменению как в более ранние сроки лечения, так и были более выражены.

Результат проводимой терапии оценивался как “улучшение” (положительная динамика) в случае, когда наблюдалось уменьшение основных клинических симптомов, таких как, кашель, одышка, цианоз, отхождение мокроты, а также аускультативных данных. При увеличении основных клинических и аускультативных данных результат оценивался как “ухудшение” (отрицательная динамика). Если же наблюдаемые симптомы и данные, полученные при аускультации легких, не подвергались изменениям, то результат проводимой терапии оценивался как “без изменений”.

Определяя вероятность улучшения состояния, мы акцентировали внимание на тяжести исходного состояния. Чем тяжелее исходное состояние, тем меньше вероятность улучшения состояния больного. Улучшение чаще наблюдалось при легкой и средней степени тяжести заболевания.

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что максимальный эффект при применении иммуномодулирующей терапии у больных хронической обструктивной болезнью легких отмечался при легкой или средней степени тяжести заболевания. При рассмотрении эффективности иммуномодулирующей терапии в зависимости от патологического состояния в основном наблюдалось улучшение состояния 101 больных, что составило 87%. Ухудшения состояния не отмечалось ни разу.

При наблюдении за больными, получавшими сочетанную терапию с использованием плазмафереза, было установлено, что у 3 больных (11%) было ухудшение состояния, причем все больные входили в группу с эмфиземой легких. Важно также отметить, что улучшение клинического состояния отмечалось у всех больных с обструктивной астмой. Изменения не наблюдались лишь у 9 больных (8%).

При оценке состояния больных в зависимости от тяжести заболевания было выявлено, что у всех больных с легким течением заболевания наблюдалось улучшение состояния. У 3 больных с тяжелым течением заболевания отмечалось ухудшение клинического состояния.

Эффективность терапии группы больных, которым проводили терапию с использованием медикаментозной терапии по стандартным схемам, также была оценена. Почти у половины больных с эмфиземой легких результат оценивался как “без изменений”. Терапия была малоэффективна и у больных с тяжелой степенью заболевания. У 16 из 22 больных изменения не были зарегистрированы.

Как нам известно, ведущее значение в диагностике хронической обструктивной болезни легких и объективной оценке степени тяжести заболевания имеет исследование вентиляционной функции легких. 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 [137]. Исследования показали, что при хронической обструктивной болезни легких происходило значительное снижение показателей ЖЕЛ и ОФВ₁, что свидетельствовало о наличии нарушений бронхиальной проходимости различной степени при данной патологии. После лечения более ощутимые изменения подверглись больные хронической обструктивной болезнью легких, которым в комплексе лечебных мероприятий был использован препарат инозин пранобекс. Значимы были также изменения показателей ВФЛ при лечении с использованием сеансов плазмафереза. Наименьшие изменения регистрировались у больных хронической обструктивной болезнью легких, получавших медикаментозную терапию по стандартным схемам.

Необходимо также отметить, что выраженные положительные функциональные сдвиги наблюдались у больных с нарушением вентиляционной функции легких легкой и средней степени 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.

Как уже было сказано, 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 иммунной системы. С другой стороны, сегодня большинство заболеваний 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 [47].

Хорошо известно, что липиды клеточных мембран являются не только формой депонирования метаболического топлива и основной компонентой клеточных структур, но и системой биологических эффекторов, регуляторов и медиаторов, участвующих практически во всех физиологических процессах клетки.

В связи с вышеизложенным, мы на следующем этапе наших исследований попытались выявить общие закономерности и особенности изменения основных составляющих плазматической мембраны лимфоцитов при хронических бронхолегочных заболеваниях, отягощенных персистенцией вируса Эпштейна-Барр.

Согласно нашим данным, при всех изученных патологических состояниях выявлено заметное статистически достоверное изменение процентного содержания основных, функционально различных классов фосфолипидов. Так, при хронической обструктивной болезни легких выявлено статистически достоверное повышение уровней лизофосфатидилхолинов (в 1,8 раз), сфингомиелинов (в 1,3 раза), фосфатидилсеринов (в 1,2 раза) и фосфатидных кислот (в 1,7 раз) с одновременным заметным уменьшением доли фосфатидилхолинов (в 1,5 раз) и фосфатидолэтаноламинов (в 1,2 раза).

Эмфизема легких характеризуется существенно повышенным уровнем фосфатидных кислот (почти в 2 раза) и лизофосфатидилхолинов – цитотоксичных продуктов липолиза (в 2,2 раза). Увеличению содержания последних способствует отмечаемое при данной нозологии резкое понижение количества фосфатидилхолинов (почти в 2 раза), вероятно, вследствие активации фосфолипазы A_2 . Повышенное же содержание лизофосфатидилхолинов, по-видимому, способствует активации макрофагов и Т-лимфоцитов, модуляции активности иммунной системы.

При обструктивной астме наиболее заметные изменения регистрируются во фракциях фосфоинозитидов (повышение в 1,2 раза), сфингмиелинов (повышение в 1,5 раз), фосфатидилэтаноламинов (снижение в 1,8 раз) и дифосфоглицеринов (в 1,8 раз). Высокий уровень фосфоинозитидов (представленных главным образом монофосфоинозидами) при данной нозологии, по-нашему мнению, можно объяснить, как ослаблением их превращения в полифосфоинозитиды, так и активированием ферментных систем, ответственных за их синтез.

Надо заметить, что одним из важных аспектов физиологической роли фосфоинозитидов является их участие в трансформации энергии в клетке. Поэтому накопление монофосфоинозитидов в лимфоцитах может быть косвенным свидетельством нарушения энергетического обмена при обструктивной астме. Заметное статистически достоверное увеличение доли дифосфатидилглицеринов при обструктивной астме 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, свидетельствует о заметном нарушении структуры мембраны, обусловленном действием эндогенной фосфолипазы Д.

Повышение процентного содержания сфингомиелинов, особенно выраженное при хроническом обструктивном бронхите и обструктивной астме, приводит к изменению текучести наружного слоя мембраны, утрате некоторых мембранно-ассоциированных поверхностных белков, приводя к нарушению деятельности определенных сигнальных путей в лимфоцитах.

Для нормального функционирования различных органов и систем организма важное значение имеет физиологически установившееся постоянство соотношений между отдельными представителями фосфолипидов [191].

В связи с этим определенный интерес представляют не только изменения в содержании отдельных фосфолипидов, 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.

Согласно полученным данным, 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 обструктивной астме выявлено также существенное повышение (в 1,7 раз) отношения холинсодержащих фосфолипидов (лизофосфатидилхолины + фосфатидилхолины + сфингомиелины), дислоцирующихся в поверхностном слое мембраны, к аминсодержащим (фосфатидилэтаноламины + фосфатидилсерины), локализованным во внутреннем слое, что свидетельствует о повышении ригидности мембраны и, следовательно, о выраженном снижении функциональной активности лимфоцитов при данной патологии. Примечательно, при хроническом обструктивном бронхите и эмфиземе легких отношение холинсодержащих фосфолипидов к аминсодержащим не подвергается значительным изменениям и колеблется в пределах контрольных величин.

Обнаруженное при хронической обструктивной болезни легких 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 эмфиземой легких, более выражены.

Как известно, определенную роль в разворачивании патологического процесса в клетке играет изменение микровязкости ее мембраны. О состоянии последней можно предположить 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 Ca^{2+} -зависимой внутриклеточной сигнальной системы [156]. Так, если при обструктивной астме коэффициент отношения фосфатидилэтаноламинов к фосфатидилхолинам имеет тенденцию к снижению, то при хроническом обструктивном бронхите и, особенно при эмфиземе легких наблюдается его повышение, свидетельствующее о повышении текучести лимфоцитарных мембран.

Использованные схемы лечения неоднозначно влияют 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 имеют тенденцию к нормализации уровней почти всех основных классов фосфолипидов. В обеих группах установлено существенное увеличение фракции фосфатидилхолинов после лечения.

При этом резко снижается концентрация лизофосфатидилхолинов, что свидетельствует о подавлении активности фосфолипазы A_2 и активировании ацилтрансфераз, участвующих в их реакцировании до фосфатидилхолинов. Отмечается почти полная нормализация уровней легкоокисляемых фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилсеринов и фосфатидных кислот.

При этом изменения наиболее выражены у больных, получавших плазмаферез. Регистрирующийся несколько повышенный уровень фосфоинозитидов у пациентов,

получавших иммуномодулирующую терапию, на наш взгляд, говорит об активировании фосфоинозитидной сигнальной системы, являющейся генератором вторичных мессенджеров, участвующих в трансдукции внеклеточных сигналов внутрь клетки.

Необходимо отметить, что, несмотря на выраженный корректирующий эффект иммуномодулирующего лечения и, особенно плазмафереза, на большинство фракций фосфолипидов, уровень дифосфоглицеринов после лечения остается на несколько повышенном уровне.

После использования медикаментозной терапии количество основных фосфолипидов – фосфатидилхолинов, ниже контрольных величин почти в 2 раза. Одновременно регистрируется повышенный уровень цитотоксичных 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 кислот, которые способствуют увеличению концентрации 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 агентами.

В регуляции состояния мембран клеток принимают участие процессы перекисного окисления липидов, фосфолипазы, ферменты протеолитической системы. Изучение их активности может быть важным диагностическим критерием общего состояния организма, характеристикой адаптивных процессов при неблагоприятных воздействиях, компенсаторных возможностей организма [88].

Результаты исследований свидетельствуют о значительном повышении скорости перекисного окисления липидов во всех изученных нозологиях, причем наиболее выраженные изменения наблюдаются при эмфиземе легких (рост активности почти в 2 раза).

При хроническом обструктивном бронхите и обструктивной астме концентрация малонового диальдегида – конечного продукта перекисного окисления липидов,

увеличивается в 1,4 и 1,2 раза соответственно. Важную роль в превращении фосфолипидов, наряду с процессами перекисного окисления липидов играют фосфолипазы, катализирующие гидролиз и трансэтерификацию мембранных липидов. Показано, что усиление перекисного окисления липидов влечет за собой изменение мембранной проницаемости для ионов кальция, тем самым способствует активации фосфолипазы A_2 , приводя к удалению токсичных перекисленных жирнокислотных остатков фосфолипидов. В лимфоцитах с активацией фосфолипазы A_2 сопряжена передача сигнала с клеточной поверхности внутрь клетки [184]. Следовательно, изучение активности фосфолипазы A_2 в лимфоцитах при хронической обструктивной болезни легких представляет существенный интерес с точки зрения выяснения ее патогенетического значения при различных патологических состояниях.

Результаты сравнительного анализа показывают, что наиболее существенным является повышение активности фермента при эмфиземе легких. Увеличение активности фермента при хроническом обструктивном бронхите и обструктивной астме составляет 72% и 35 % соответственно. После лечения пациентов с хронической обструктивной болезнью легких наблюдается снижение активности деструктивных процессов. Закономерно, что наиболее отчетливые изменения прослеживаются после проведения плазмафереза и лечения инозин пранобексом. При использовании лишь стандартной медикаментозной терапии статистически достоверных изменений в активности фосфолипазы A_2 и перекисного окисления липидов не обнаружено.

Таким образом, можно констатировать, что использование препарата инозин пранобекса и, особенно, плазмафереза приводит к нормализации метаболизма липидного компонента мембран лимфоцитов, влияя на физико-химическое состояние мембран и систем регуляции.

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, Mg- и Na/K-АТФазы, при хронической обструктивной болезни легких до и после различных вариантов терапии.

Так, хронический обструктивный бронхит и эмфизема легких характеризуются некоторым повышением активности АТФаз. При этом наиболее заметным изменениям подвергаются общая и Na/K-АТФазная активности, особенно при эмфиземе легких (больше контрольных величин в 1,5 и 2,3 раз соответственно). Интересно, что при обструктивной астме отмечается лишь незначительные колебания активности изученных АТФаз. Несомненно, что повышению активности исследуемых АТФаз способствует окислительная деструкция основных классов фосфатидов-глицеридов и накопление лизофосфатидилхолинов, имеющее место в наших исследованиях. Последнее чревато переходом липидного бислоя в монослой и активацией проницаемости мембраны для одновалентных катионов.

Интересная картина разворачивается на фоне терапии. Так, после стандартной медикаментозной терапии у больных с хронической обструктивной болезнью легких регистрируется дальнейшее повышение активности общей, Mg- и особенно, Na/K-АТФазы (последняя превышает контрольные величины почти в 2 раза). 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 хронической обструктивной болезни легких.

В различных исследованиях отмечается об увеличении количества макрофагов (до 25 раз), дендритных клеток, а также и нейтрофильных гранулоцитов в дыхательных путях больных хронической обструктивной болезнью легких, коррелирующем с тяжестью и активностью воспалительного процесса [181, 215, 270].

Показано, что 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 хронической обструктивной болезни легких. Более того, признаки хронического воспаления могут сохраниться даже после прекращения действия токсикантов-индукторов вследствие развития аутоиммунных процессов и персистенции вирусной инфекции.

Как известно, мембранные молекулы CD4 и CD8 являются корецепторами комплекса TCR-CD3 и рассматриваются как основные маркеры определения Т-хелперов и цитотоксичных Т-лимфоцитов соответственно. Сравнительное изучение иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов при различных патологических состояниях ХОБЛ позволило выявить ряд особенностей.

Фактически, количество CD4⁺ лимфоцитов, обладающих хелперно-индукторными свойствами, статистически достоверно уменьшалось при всех изученных патологических состояниях, наиболее отчетливо при хроническом обструктивном бронхите (в 2,5 раза) и обструктивной астме (в 2,2 раза).

Уровень CD8⁺ клеток с цитотоксичными свойствами заметно повышался при эмфиземе легких в 1,3 раза, при обструктивной астме в 1,5 раза и при хроническом обструктивном бронхите в 1,1 раз. Обнаружено, что количество CD8⁺ клеток коррелирует с выраженностью эмфиземы. Взаимодействие цитотоксических Т-лимфоцитов с клетками-мишенями приводит к проникновению в мембраны последних перфоринов и цитолизинов, что способствует гибели клеток путем апоптоза, тем самым поддерживая постоянный воспалительный процесс при хронической обструктивной болезни легких [194].

Указанные субпопуляционные изменения Т-лимфоцитов закономерно приводят к существенной инверсии иммунорегуляторного индекса CD4⁺/CD8⁺. Отмечается понижение отношения CD4⁺/CD8⁺ при всех изученных патологических состояниях.

Примечательно, что при эмфиземе легких и обструктивной астме значение иммунорегуляторного индекса изменяется преимущественно за счет увеличения содержания цитотоксичных лимфоцитов, а при хроническом обструктивном бронхите – в результате почти трехкратного повышения уровня Т-хелперов.

Интересная закономерность прослеживалась при исследовании процентного содержания CD25⁺-клеток, экспрессирующих α-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 хроническом обструктивном бронхите наблюдается статистически достоверное повышение (в 1,5 раза) количества CD25⁺-клеток и снижение – при эмфиземе легких и обструктивной астме (в 1,4 и 1,8 раз). На наш взгляд, это указывает на различия в иммуногенезе изученных патологических состояний. Показано, что повышенная активность Т-регуляторных клеток приводит к развитию иммунодефицитных состояний и хронизации воспаления, а их дефицит в организме играет патогенетическую роль при аллергии, способствует развитию аутоиммунной патологии [142].

Особый интерес представлял 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 из тимуса [222]. Некоторые исследователи отмечают об увеличении количества дубль-позитивных CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов при таких патологических состояниях, как вызванный вирусом Эпштейна-Барр мононуклеоз, ВИЧ-инфекция, хронический лимфолейкоз и другие [280]. В наших исследованиях обнаружено резкое повышение уровня дубль-позитивных CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов во всех обследованных группах – в 4,1 раз при хроническом обструктивном бронхите, в 6 раз при эмфиземе легких, в 7 раз при обструктивной астме.

Мы считаем это вполне закономерным, так как почти у всех обследованных пациентов с хронической обструктивной болезнью легких обнаружен заметно высокий титр вируса Эпштейна-Барр, 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 обнаруживают различный иммунопатогенез. При хроническом обструктивном бронхите преимущественно поражается Т-хелперное звено иммунитета, в то время, как эмфизема легких и обструктивная астма протекают с преобладанием цитотоксических реакций. Одним из звеньев иммунопатогенеза при хронической обструктивной болезни легких 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.

Иммунные нарушения, обнаруженные при хронической обструктивной болезни легких, диктуют необходимость включения в схемы лечения иммуномодулирующих препаратов, способствующих восстановлению обнаруженных отклонений. Более того, с учетом различного иммуногенеза изученных патологических состояниях, а также с целью оценки эффективности каждого вида терапии при определенном иммунофенотипе хронической обструктивной болезни легких мы сочли целесообразным представить полученные результаты по-отдельности.

Применение лишь стандартной медикаментозной терапии не приводило к нормализации уровня обоих корцепторов, что, несомненно, отражалось на значении иммунорегуляторного индекса. После нее величина отношения CD4+/CD8+ меньше 1, что является свидетельством наличия иммунодефицитного состояния, даже после предпринятого лечения. После плазмафереза, так же, и как 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. При хроническом обструктивном бронхите их количество оставалось на том же уровне, что и до проводимой медикаментозной терапии.

Концентрация CD4+-клеток при эмфиземе легких статистически достоверным изменениям не подвергалась. Повышенное содержание CD8+-клеток снижалось, наиболее отчетливо – после плазмафереза и лечения инозин пранобексом, достигая $20,9 \pm 3,1$ и $22,2 \pm 1,6$ процентов соответственно. В результате наблюдаемых колебаний в содержании изученных корцепторов отмечалась полная нормализация иммунорегуляторного индекса после применения плазмафереза и иммунокорригирующего лечения, но не 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 в результате плазмафереза, во втором – с модулирующим действием инозин пранобекса. Обнаружена интересная закономерность в изменении количества поздних маркеров активации Т-хелперов – CD25+-клеток, у пациентов с эмфиземой легких 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 продолжает снижаться. Принимая во внимание, что эмфизема легких развивается и протекает по аутоиммунному механизму, можно предположить, что дальнейшее снижение их концентрации может привести к прогрессированию заболевания. Имеются данные об обратной корреляции между активностью Т-регуляторных клеток и клиническими проявлениями некоторых аутоиммунных заболеваний [287].

Схожая картина наблюдалась после лечения пациентов с обструктивной астмой. Как было показано выше, иммунопатогенез обструктивной астмы сложен: он протекает как по аутоиммунному, так и иммунодефицитному фенотипу, с вовлечением аллергических реакций.

Количество CD4+-клеток с Т-хелперными функциями, было заметно 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 уменьшали супрессию иммунного ответа за счет резкого снижения концентрации цитотоксических CD8⁺ - лимфоцитов. Совершающиеся изменения приводили к нормализации отношения CD4⁺/CD8⁺, указывая на адекватность иммунного ответа.

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 терапия по стандартным схемам при обструктивной астме не приводила к каким-либо улучшениям изученных показателей клеточного звена иммунитета, а по некоторым параметрам – к прогрессированию зарегистрированных отклонений.

Таким образом, включение в схему лечения плазмафереза или препарата инозин пранобекса при хронической обструктивной болезни легких способствует восстановлению нарушенного звена клеточного иммунитета.

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

С учетом важного значения иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов в прогрессировании хронической обструктивной болезни легких и их роли в осуществлении гуморального иммунного ответа, нами было проведено исследование концентрации иммуноглобулинов классов А, М и G, а также уровня циркулирующих

иммунных комплексов при хронической обструктивной болезни легких и после применения различных схем лечения.

Согласно полученным данным, при хронической обструктивной болезни легких отмечалось существенное возрастание уровня циркулирующих иммунных комплексов в крови: в 2,2 раза при хроническом обструктивном бронхите, в 4,1 раз при эмфиземе легких и в 3,1 раз при обструктивной астме.

Примечательно, что эти изменения преимущественно были обусловлены высокой концентрацией IgG, содержание которых при хроническом обструктивном бронхите повышалось почти в 2 раз, а при эмфиземе легких и обструктивной астме – в 2,7 и 2,6 раз соответственно. Обнаруженные изменения, несомненно, обусловлены снижением активности гуморального звена иммунитета и являются отражением функциональной неполноценности фагоцитарной системы, обеспечивающей деградацию и элиминацию циркулирующих иммунных комплексов из организма.

При хроническом обструктивном бронхите и эмфиземе легких концентрация IgM статистически достоверным изменениям не подвергалась. При обструктивной астме отмечалось достоверное снижение их уровня в 1,4 раза. Возможно, в условиях общего угнетения функции В-звена иммунитета, наблюдающегося при персистировании вируса, плазматические клетки не отвечают на раздражение усилением выработки IgM. Концентрация IgA повышалась в 1,3 раза при хроническом обструктивном бронхите, а при эмфиземе легких и обструктивной астме снижалась – в 1,6 и 1,4 раза соответственно. Показано, что инактивация IgA может наступить под влиянием IgA-протеаз, продуцируемых некоторыми микроорганизмами.

Таким образом, наблюдаемые изменения свидетельствовали о функциональной неполноценности гуморального звена иммунитета, приводя к развитию и прогрессированию аутоиммунной и иммунопатологической реакции.

Как при хроническом обструктивном бронхите, так и при эмфиземе легких и обструктивной астме 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 иммунокорригирующий эффект обусловлен механическим удалением ЦИК, токсинов, факторов воспаления с плазмой, а действие иммуномодулирующего препарата инозин пранобекса направлено на коррекцию интимных механизмов, лежащих в основе иммунопатогенеза хронической обструктивной болезнью легких. Использование только базисной медикаментозной терапии не проводило к полной коррекции нарушенного звена гуморального иммунитета.

На сегодняшний день доказано, что нарушение пуринового обмена, в частности деятельности экто-5'-нуклеотидазы или молекулы CD73, являющейся одним из ключевых ферментов пуринового цикла, приводит к функциональной неполноценности клеток иммунной системы [218].

С другой стороны, экто-5'-нуклеотидаза специфически локализуется в липидных рафтах – структурно-функциональных элементов мембраны, регулирующих активацию и передачу сигнала внутрь клетки [235].

В иммунной системе CD73 экспрессируется во всех клетках, однако ее экспрессия наиболее выражена в лимфоцитах. При этом активность фермента в Т-лимфоцитах намного ниже, чем в В-лимфоцитах. Ввиду важного значения экто-5'-нуклеотидазы в деятельности как иммунной системы, так и липидных рафтов мы сочли интересным проследить за изменением ее активности при хронической обструктивной болезнью легких 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 хронической обструктивной болезнью легких статистически достоверно снижалась, причем наиболее существенно при обструктивной астме (в 2,4 раза). При хроническом обструктивном бронхите активность фермента падала в 1,3 раза, а при эмфиземе легких в 1,7 раз. Как известно, экто-5'-нуклеотидаза является поверхностным

белком мембраны и ее активность регулируется состоянием текучести наружного слоя мембраны, оценивающимся по величине отношения сфингомиелинов к фосфатидилхолинов.

Как показали наши исследования, подавление активности фермента при обструктивной астме и эмфиземе легких было обусловлено повышенной ригидностью наружного слоя мембраны лимфоцитов. Мы считаем, что потеря экто-5'-нуклеотидазы с поверхности лимфоцитов привела к перестройке липидных рафтов, следовательно, к нарушению передачи дифференцировочных сигналов, приводя к выбросу в кровотоки клеток с недостаточной иммунной активностью.

Необходимо отметить об обнаруженной обратной корреляционной связи между активностью экто-5'-нуклеотидазы и содержанием CD4+CD8+-клеток, наиболее сильной при обструктивной астме. Так, при хроническом обструктивном бронхите $r = -0.27$, при эмфиземе легких $r = -0.33$, а при обструктивной астме $r = -0.63$. Интересно, что при хроническом обструктивном бронхите наблюдалась прямая сильная зависимость между CD25+ и экто-5'-нуклеотидазой ($r = 0.55$), тогда как при обструктивной астме и эмфиземе легких – слабая и обратная корреляционная связь (при эмфиземе легких $r = -0.16$, при обструктивной астме $r = -0.26$).

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 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 хронической обструктивной болезнью легких не эффективно. Почти у всех пациентов с хронической обструктивной болезнью легких 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 приводил лишь к механическому ивлечению 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 хронической обструктивной болезни легких.

ВЫВОДЫ

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.
3. Сочетанные методы терапий 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 А, М, 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/CD73 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.
- Использования комплексного лечения с применением инозин пранобекса с целью предупреждения прогрессирования заболевания, повышения клинического эффекта и укорочения сроков пребывания больных в стационаре.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абросимов В.Н. «Порочные круги» одышки и ХОБЛ. Одышка и ассоциированные синдромы: сб. научн. тр., Рязань. - 2005. - С.7 – 16.
2. Авдеев С.Н. Можно ли улучшить прогноз у больных хронической обструктивной болезнью легких? //Пульмонология. - 2015. - Том 25. - №4. - С.469-476.
3. Авдеев С. Н. Клинические симптомы и качество жизни пациентов с хронической обструктивной болезнью легких: субъективно оцениваемые показатели или факторы, определяющие прогноз?//Пульмонология.- 2016.- Том 26.- № 2.-С.231-237.
4. Авдеев С.Н. Профилактика обострений хронической обструктивной болезни легких.// Пульмонология.-2016.- Том 26.- № 5.- С.591-603.
5. Адамян Р.Т. О групповой и резус-принадлежности крови армянков, болных раком тела матки. // Вопросы онкологии. - 2005. - №5. - С.575-576.
6. Айсанов З.Р., Кокосов А.Н., Овчаренко С.И., Хмелькова Н.Г., Цой А.Н., Чучалин А.Г., Шмелев Е.И. Хронические обструктивные болезни легких. Федеральная программа//Русский Медицинский Журнал. - 2001.- №1.-С.9-34.
7. Алексеенко А.С. Вопросы клиники и терапии внутренних болезней. Караганда. - 1967.- С.14-15.
8. Антонов Н.С., Стулова О.Ю., Зайцева О.Ю. Эпидемиология, факторы риска, профилактика // Хроническая обструктивная болезнь легких/ Под ред. А.Г. Чучалина. М. - 1998. –С. 66–82.
9. Аряев Н.Л. Свободнорадикальное окисление при пневмонии у детей. //Педиатрия. - 1984. - N5. - С.19-25.
10. Бабенко Н.А. Регуляция активности сфингомиелиназы и фосфолипазы С плазматических мембран клеток печени крыс разного возраста. // Биохимия. – 1991. - т.56. - №2 - С.346-353.

11. Базилян Г.К. Территориальные особенности онкологической заболеваемости населения Армении. // Медицинская наука Армении. - 2006. - №2. -С.52-57.
12. Баринский И.Ф. Герпес: этиология, диагностика, лечение / И.Ф. Баринский, А.К. Шубладзе, А.А. Каспаров. - М.: Медицина. - 1986. - 120с.
13. Белевский А.С. Клинико-экономическая эффективность терапии хронической обструктивной болезни легких. //Пульмонология. - 2016. - Том 26. - № 1. -с. 73-78. .
14. Белевский А.С. ред. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2011 г.). // Пер. с англ. М.: *Российское респираторное общество*. -2012.
15. Белков С.А., Новоженев В.Г., Гордеев М.Н. терапевтическая эффективность плазмафереза у больных с пневмонией// Военно-медицинский журнал. -1998. -№8.- С.68.
16. Беляков М.А., Гуревич К.Я., Костученко А.Л. Концепция экстракорпоральной гемокоррекции// Эфферентная терапия. -1997. -Т3. -№4. -С.3-6.
17. Березовский В.А., Горчаков В.Ю. Поверхностно-активные вещества легкого. //Киев. - 1982. -С.116.
18. Бережная Н.М. Аллергология. Словарь-справочник / Н.М. Бережная, Л.П. Бобкова, И.А. Петровская, С.И. Ялгут, - Киев. - 1986. - 38с.
19. Бестужева С.В. Физико-химическое и биохимическое исследование конденсата паров выдыхаемого воздуха. // Методические рекомендации. Минск. - 1983. -С.3-5.
20. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Современная химиотерапия множественной миеломы. // Актуальные вопросы гематол. и трансфузиологии. - 2000. -С.30-38.
21. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. // СПб.: Диалект. - 2004. – 448с.
22. Биличенко Т. Н., Быстрицкая Е. В., Чучалин А. Г., Белевский А. С., Батын С. З. Смертность от болезней органов дыхания в 2014–2015 гг. и пути ее снижения.//Пульмонология. - 2016. - Том 26. - № 4. -С.389-397.

23. Блохина Е.Б. Роль латентной инфекции, вызванной вирусом Эпштейн-Барр, в развитии лимфопролиферативных заболеваний. //Вопросы гепатологии, онкологии и иммунологии в педиатрии. - 2003. - т.2. - N3. -С.65-70.
24. Богадельников И.В., Березина Л.В. Частота и активация Эпштейн-Барр вирусной инфекции при некоторых инфекционных болезнях у детей. // Врачебная практика. - 2005. - N1. -С.46-49.
25. Бразжикова Т., Юрлова Т. Герпетическая инфекция: профилактика и лечение// Инфекционный контроль. - 2004. - N2-3. -С. 12-13.
26. Брокерхоф Х. Липолитические ферменты// Х. Брокерхоф, Р. Дженсен. -М.: Наука. - 1978. -400 с.
27. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты: новые горизонты. // Тез. Докл. VI Междунар. конф. Биоантиоксидант. – 2002. -М. -С. 69-70.
28. Бурлакова Е.Б., Архипова Т.В., Голщапов А.Н. и др. Мембранные липиды как переносчики информации. // В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М. - 1982. - Наука. -С. 74-83.
29. Ватутин Н.Т., Смирнова А.С. Хроническое обструктивное заболевание легких: рекомендации Global Initiative For Chronic Obstructive Lung Disease 2013 г.// Архів клінічної та експериментальної медицини. - 2014. - N 2. -С. 217–223.
30. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в живых системах. // Итоги науки и техники, Биофизика. - 1991. - т. 29. -С.33-35.
31. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука. - 1972. – 252с.
32. Влияние окружающей среды на здоровье человека. Женева, ВОЗ. - 1974. – С.215.
33. Внутриклеточные инфекции и состояние детей в XXI веке. Мат. международной научно-практической конференции (25-26 октября 2005 г). Редактор - проф. Юлиш Е.И. Донецк. - 2005. –186с.

34. Внутриклеточная инфекция и состояние детей в XXI веке. Матер. II научно-практической конференции с международным участием (4-5 декабря 2008). Редактор – проф. Юлиш Е.И., Донецк. - 2008. -192с.
35. Воинов В.А. Эфферентная терапия Мембранный плазмаферез. //-ЦПБ.: Эскулап. -1999.- С.4.
36. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. // Руководство для врачей. М.: Медицина. - 2001. – 576с.
37. Воробьев А.И. Прерывистый лечебный плазмаферез//М.: “Ньюдиамед-А-О”, 1998. - С.204.
38. Вотяков В.И. Терапия вирусных инфекций / В.И. Вотяков, А.Г. Коломиец // Клиническая медицина- 1991. - №5. - С.29-37.
39. Вяльцева Ю.В. Иммунологические проявления цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных детей. / Мат. междунар. науч.-практич. конф., посвящен. 75- летию Донецкого государственного медицинского университета им. М. Горького. Донецк. - 2005. -С.36-37.
40. Галоян А.А., Терио Н., Берг М., Маркс Н. Влияние обогащенного пролином пептидного фактора нейрофизина II на каспазы нейробластомы мыши; активация каспазы- 2 и каспазы- 6. // Нейрохимия. - 2000. - 17. - 3. -С.185-188.
41. Гаранжа Т.А., Филатов Ф.П. Диагностика инфекций, вызванных вирусом Эпштейна-Барр и цитомегаловирусом в гематологическом стационаре. // Актуальные проблемы герпесвирусных инфекций. Под ред. Д.К. Львова, И.Ф. Баринского, М.М. Гараева, Л.М.Алимбаровой. М.- 2004. –С. 124.
42. Геворкян Г.А., Марухян Г.Л., Аракелян Л.Н. и соавтр. Влияние гипоталамического пролином богатого пептида на уровень ¹⁴С-глюкозы при краш-синдроме. // Нейрохир. - 2001. - 26. - 7. - С.827-830.
43. Глузман Д.Ф. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство. Киев. - 2000. – 125с.

44. Герпес: профилактика и эффективное лечение// А Васильева. -СПб.: Невский проспект. – 2005. -112с.
45. Гранитов Р.М. Герпесвирусная инфекция // Р.М. Гранитов, - Н.Новгород. – 2001. -92с.
46. Грибанов Г.А. // Вопросы медицинской химии. - 1991. - Т.37. - №4. - С. 2-10.
47. Грибанов Г.А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов / Г.А. Грибанов // Вопр. мед. химии. 1991. - Т.37. - № 4. -С. 2-10.
48. Губергриц Н. Б., Лукашевич Г. М., Загоренко К. М. и др. Патогенетическое, клиническое и диагностическое значение фосфолипазы А2 в патогенезе панкреатитов (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. 2000. - №5. - С. 3 - 8.
49. Дагбашян С.С., Казарян П.А., Пепанян А.А., Асоян А.У., Мелик-Андреасян М.Г. Оценка липид-белковых и липид-липидных взаимоотношений при агрессивных неходжкинских лимфомах. // Новое в гематологии и трансфузиологии, Киев. - 2006. - вып.5. -С.165-169.
50. Доронин В.А. Современные аспекты патогенеза и диагностики хронического лимфолейкоза. // Клин. Лаб. диагностика. - 2003. - №4. -С.24-40.
51. Долгих М. С. Герпесвирусные инфекции в иммунодефицитных пациентов// Тер. Архив. – 2001. - № 11. - С. 59-65.
52. Дятловицкая Э.В. Сфинголипиды и злокачественный рост. / Э.В. Дятловицкая// Биохимия. 1995. - Т.60. - № 6. -С. 843-849.
53. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). – М.: ГЭОТАР–Медиа. - 2005. – 356 с.
54. Жданов В.М. Вирусные гепатиты //В.М. Жданов, В.А. Ананьев, В.М. Стаханова. М.: Медицина. - 1986. - 104 с.
55. Железнякова Г.Ф., Васякина Л.И., Монахова Н.Е. и др. Апоптоз и иммунный ответ у детей с острым инфекционным мононуклеозом // Иммунопатология, аллергология, инфектология. -2000. - № 4. - С. 87-94.
56. Зарецкая Ю.М., Пивник А.В., Клинова Э.Г., Хамаганова Е.Г. Факторы наследственной предрасположенности к лимфогранулематозу. // Тер. архив. – 1998. -, №7. -С.53-57.

57. Зарецкая Ю.М., Хамаганова Е.Г., Алещенко С.М., Мурашева Л.А. Поиск неродственного донора российским регистром доноров костного мозга. // Тер. архив. - 2002. - №7. -С. 30-35.
58. Иванова Л.Ф., Дмитриева Н.В., Багирова Н.С., Дурнов Л.А. Профилактика и лечение фебрильных нейротений у онкологических больных. // Инфекции и антимикробная терапия. - 2001. - №4. - С.109-111.
59. Иванова В.В., Родионова О.В., Букина А.А., Аксенов О.А., Железникова Г.Ф. Инфекционный мононуклеоз: клиника, новые подходы к диагностике и лечению//Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2001. - № 1. - С.43-48.
60. Исаков В.А., Борисова В.В., Исаков Д.В. Герпес патогенез и лабораторная диагностика// СПб.: 1999. -190с.
61. Исаков В.А. Терапия тяжелого гриппа. // Аллергол. и иммунол. - 2002. - Т. 3. - № 1. -С. 385–389.
62. Исаков В.А., Беляева Т.В., Рахманова А.Г. и др. Клиника и терапия современного гриппа. //Методические рекомендации для врачей. – СПб., 2009. – 106 с.
63. Исаков В.А., Каболова И.В., Днепровская Г.Л., Ерофеева М.К. Эффективность индукторов интерферонов в терапии гриппа и ОРЗ. // В сб.: Современные проблемы инфекционной патологии человека. Вып. 2. – Минск: Беларусь. - 2009. - С. 270–274.
64. Казарян П.А., Саакян Л.С., Дагбашян С.С. Биохимические показатели как критерии прогноза хронического лимфолейкоза. // Новое в гематологии и трансфузиологии. - 2006. - Киев. - вып.5. - С. 174-178.
65. Казарян П.А., Элоян Д.В. Хроматографические методы (распределительная и адсорбционная). // М., изд. ЦОЛИУВ. - 1982. – 28с.
66. Казмирчук В.Е., Мальцев Д.В. Диагностика и лечение инфекции, вызванной Эпштейна – Барр вирусом (вирусом герпеса человека 4 типа) Методические рекомендации. - N2. - 2011. - С. 30-36.
67. Калинин В.В., Железнова Е.В., Рогачева Т.А., Соколова Л.В., Полянский Д.А., Земляная А.А., Назметдинова Д.М. Применение препарата Магне-В6 для лечения

тревожно-депрессивных состояний у больных эпилепсией // Журнал неврологии и психиатрии. - 2004. - Т. 104. - № 8. - С. 51–55.

68. Карагезян К.Г., Овсепян Л.М., Агабабова А.А. и др. Исследования регуляции переоисления липидов в биомембранах в норме и патологии. //В кн.: Биохимические и физико-химические исследования в витаминологии. М.- 1981. - Наука. - С.45-48.
69. Караулов А.В., Кокушков Д.В. Эффективность иммунотерапии с использованием ИРС 19 у больных хроническим бронхитом. Атмосфера. // Пульмонология и аллергология. - №3. - 2005. - С. 61–63.
70. Клиническая онкогематология под ред. проф. Волковой М.А. / М.: Медицина. - 2007. -С. 177-188.
71. Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н. Апоптогенные механизмы возникновения иммунодефицитных заболеваний. // Микробиол. - 1995. - №5. -С.47-52.
72. Козлов Ю.П. Структурно-функциональные аспекты ПОЛ в биологических мембранах. // В кн.: Липиды, структура, биосинтез, превращения и функции. М.- 1977. -С.80-93.
73. Козлов Ю.П. Свободные радикалы и их роль в норме и патологии // Ю.П. Козлов. М.: МГУ. - 1973. - 124 с.
74. Кокосов А.Н., Гольденберг Ю.М., Мищенко В.П. Перекисное окисление липидов и гемостаз на этапах формирования хронического бронхита и бронхиальной астмы. // Пульмонология. - 1995. - N1. -С.38-43.
75. Кононенко В. В. Этиологическая диагностика и классификация герпесвирусных поражений центральной нервной системы Нейроинфекции. Другие инфекционные болезни. //Материалы научно-практической конф. и пленума Ассоциации инфекционистов Украины. - Харьков. - 2001. -С. 78-81.
76. Крамаев С.А. Герпесвирусные инфекции у детей/ Крамаев С.А.//MedicusAmicus. - 2003.-480с.
77. Кребс Е.М. Липиды клеточных мембран. //Л., Наука. - 1981. - 330с.

78. Кузьмичева Л. В., Киселева Р. Е., Новожилова О. С. Изменения фосфолипидного состава мембран лимфоцитов при бронхолегочных заболеваниях.// Иммунология. - 2005. - т.26. - №5. –С. 304-308.
79. Кубанов А.К. Пуриновый обмен при бронхиальной астме. // Пульмонология. - 2000. - №2. -С.13-19.
80. Кудрин А.П. Эта «безобидная» вирус Эпштейна-Барра инфекция. Часть 1. Характеристика возбудителя. Реакция иммунной системы на вирус. //Медицинские новости. - 2006. - 7. -С. 14-22
81. Куликов А.Ю., Макарова Е.И. Фармакоэкономический анализ применения лекарственного средства Бретарис Дженуэйр в лечении хронической обструктивной болезни легких. // Пульмонология. - 2015. - Том 25. - №6. -С.713-719.
82. Кускова Т.К., Белова Е.Г. Семейство герпес-вирусов на современном этапе. //Лечащий врач. - 2004. - 5. –С. 6-11.
83. Леенман Е.Е., Афанасьев Б.В., Пожариский К.М., Денисенко В.Б. О роли вируса Эпштейна — Барр в патогенезе лимфогранулематоза. Иммуногистохимическое и молекулярно-биологическое (гибридизация in situ) исследование // Иммунопатология, аллергология, инфектология. - 2003. - № 3. -С. 61-64.
84. Литвиненко Н.Г. Эпштейна-Барр инфекция. // Инфекционные болезни у детей. / Под ред. С.А.Камарева – М.: МОРИОН. - 2003. -С.56-68.
85. Лопаткин Н.А., Лопухин Ю.М. Эфферентные методы в медицине- М.: Медицина. - 1989. -352с.
86. Львов Д.К., Баринский И.Ф., Гараев М.М., Алимбарова Л.М. Актуальные проблемы герпесвирусных инфекций. М.- 2004. – 124с.
87. Лукьянова Н.Ю., Кулик Г.И., Чехун В.Ф. Роль генов p53 и bcl-2 в апоптозе и лекарственной резистентности опухолей. // Вопр. онкол. - 2000. - №46 (2). -С.121-128.
88. Мажуль Л.М., Якубовский С.М., Егуткии Г.Г. // Проблемы эндокринологии. -1989. - №4. - С. 61 - 63.

89. Максимов О.Д., Зайцева Г.А., Бутина Е.В., Загоскина Т.П. Распределение HLA-маркеров при хроническом лимфолейкозе. // Гематология и трансфузиология. -2003. - т.48. - №1. - с. 19-22.
90. Малашенкова И.К., Дидковский Н.А., Сарсания Ж.Ш. и др. // Клинические формы хронической Эпштейна-Барр- вирусной инфекции: вопросы диагностики и лечения. // Лечащий врач. -2003. - N 9. -С. 32—38.
91. Марков И. С. Диагностика и лечение герпетических инфекций и токсоплазмоза. - М.: АртЭк. - 2002.
92. Мартыненко Т.И., Шойхет Я.Н., Дуков Л.Г. Лечение тяжелых форм пневмоний// Пульмонология. -1997. -№1.-С.71-74.
93. Меерсон.Ф.З Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. – М.: Медицина. - 1984. - С.272.
94. Меймарян М.А. Пневмоцистоз. // Ереван. - 2003. - 100С.
95. Меньшикова Е.Б. / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков // Терапевтический архив. - 1991. - №11. -С. 85.
96. Мынбаев О.А., Елисеева М.Ю., Масихи К.Н. и др. Гроприносин – высокоэффективный иммуностимулятор для «трудных» пациентов с нарушениями в иммунной системе.//Трудный пациент. - 2009. - 7, 8-9. -С. 5-12.
97. Набинский С.И. Сурфактанты легких при Е-гиповитаминозе у крыс. //Матер. Докл. Студ. Научного общества им. И.Р. Тарханишвили, конфер. 47-я, Тбилиси. - 1984. -С.59.
98. Наследникова И.О., Рязанцева Н.В., Белобородова Е.В. и др. Дизрегуляция клеточного звена иммунитета при хроническом вирусном гепатите. //Бюллетень СО РАМН, . -2005. - 4 (118). -С. 59-63.
99. Назаров П. В. Качественный и количественный состав фосфолипидов биомембран в условиях токсического действия фенола и корректирование витаминами К и Е:// Автореф. дисс. канд. мед. наук/ Уфа. - 1997. -23с.
100. Нерсисян В.М. Иммунологические маркеры крови армянской популяции в норме и патологии. //Автореф. дис. док. мед. наук. М. - 1985. – 31с.

101. Нерсисян В.М., Дагбашян С.С. Популяционно-генетический анализ эритроцитарных изосерологических систем у армян, проживающих в разных старнах. // Кровь, Ереван, №1, с.44-50.
102. Нисевич Н.И., Казарин В.С. и Гаспарян М.О. Инфекционный мононуклеоз у детей, М.: Медицина. - 1975. - 164 с.
103. Новиков Д.К. Клиническая иммунопатология. //М.: Медицинская литература. - 2009. - 464с.
104. Новиков Ю.К. Мукоцилиарный транспорт, как основной механизм защиты легких // Русский медицинский журнал. - N5. - 2007. -С. 22-28.
105. Новиков Ю.К. Принципы лечения хронического бронхита //РМЖ. - Том 6. - №4. - 1998.
106. Оганов Р. Г. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний в работе врача общей практики // Врач. - 2000. - №2. -С. 16-19.
107. Проблемы региональной аллергологии: Тез. научно-практической конференции аллергологов Узбекистана. - Ташкент. - 1989.- С.40.
108. Разин А.С., Козлова Р.И., Филанова В.К. Фосфолипиды при неспецифических заболеваниях легких. // Сов. Медицина. - 1986. - N7. -С.93-95.
109. Редакционная статья. Хроническая обструктивная болезнь легких: профилактика обострений. //Клинические рекомендации Американской коллегии торакальных врачей и Канадского торакального общества (часть 1 я), Пульмонология. - 2016. - Том 26. - №2.- С.153-179.
110. Резник Б.Я., Бирюков В.С., Налбандян Р.М. и др. Перекисное окисление липидов и СОД в эритроцитах крови при пневмониях у детей раннего возраста. // Педиатрия. - 1984. - N9. - С.16-19.
111. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. // Москва. - 2000. – 345с.
112. Ройтберг Г.Е., Струтынский А.В., Внутренние болезни. Система органов дыхания. // М., “Издательство Бином”. - 2005. - 464с.
113. Руденко А.О., Муравска Л.В. Герпесвірусні інфекції людини-світова проблема//Інфекційні хвороби. - 2001. - N2. - С.5-11.

114. Рудницкий Л.В. О чем говорят анализы. // Санкт-Петербург. - 2006. – 151с.
115. Русанова Н.Н. Теплова С.Н., Коченгина С.А. и др. Цитомегаловирусная инфекция у детей первых месяцев жизни. //СПб.: «Лань» Мир медицины. - 2001. – 136с.
116. Сейланов А.С., Попов Г.А., Конев В.А. Связь перекисного окисления липидов с дыханием и окислительным фосфорилированием. //Журнал “экспериментальная и клиническая медицина”. - 1983. - N2. -С.108-112.
117. Сенаторова А.С., Логвинова О.Л. Рецидивирующий бронхит у детей: тактика ведения пациентов на современном этапе //Журнал “Дитячий лікар”. - N2. - 2009. - С. 12-19.
118. Симованьян Э.Н., Денисенко В.Б., Бовтало Л.Ф., Григорян А.В. Эпштейна–Барр-вирусная инфекция у детей: современные подходы к диагностике и лечению // Лечащий Врач. -2007. - № 7. - С. 36–41.
119. Симованьян Э.Н., Сизякина Л.П., Сарычев А.М. Хроническая Эпштейна — Барр вирусная инфекция у детей // Доктор.Ру. -2006. - № 2. - С. 34-42.
120. Синопальников А.И., Маев Э.З. Обострение хронической обструктивной **болезни легких**. Современные подходы к лечению. Антибиотики и химиотерапия. - N4. - 1999. - С. 35–38.
121. Слюсарь Н.Н. Роль фосфатидов и их метаболитов в онкогенезе. // Автореф.дис. докт. мед. наук. СПб., Москва. - 1993. – 30с.
122. Туков А.Р., Дзгоева Л.Г., Шафранский И.Л., Никитина Н.И. Заболеваемость злокачественными новообразованиями ликвидаторов Чернобыльской аварии, работников атомной промышленности России. // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 1998. - №3. -С.17-24.
123. Фамалеева Н.А., Ларионова В.Б., Багирова Н.С. и соавт. Использование суспензии орунгала для профилактики грибковых инфекций у онкогематологических больных. // В сб. мат. II всерос. конгр. “успехи медицинской микологии”, Москва. - 2004. - т.4. - С. 216.

124. Федосеев Г.Б., Лаврова Т.Р., Тихарев С.С. Сурфактантная система легких. // В КН.: Клеточные и субклеточные механизмы защиты и повреждения бронхов и легких. Л.- 1980. -С.46-59.
125. Федосеев Г.Б. Механизмы воспаления бронхов и легких и противовоспалительная терапия. // Санкт–Петербург. - 1998.
126. Франгулян Р.Р. Нарушение кислород транспортной функции эритроцитов у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких осложненными дыхательной недостаточностью и их медикаментозная коррекция. //Автореф. Дисс. Канд. Мед. Наук, СПб., 1992.
127. Фролов В. М. Синдром хронической усталости и иммунной дисфункции в практике врача-инфекционист // Современные инфекции. - 2000. - № 2. - С. 102-108.
128. Хаитов Р.М. Вторичные иммунодефицита: клиника, диагностика, лечение // Иммунология. -1999. - №1. -С. 14-17.
129. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. // Учебник. – М.: Медицина. - 2000.
130. Хачатурьян М.Л., Гукасов В.М., Комаров П.Г. и др. Сравнительная оценка показателей перекисного окисления липидов сердца, печени и мозга крыс с различной устойчивостью к гипоксии. // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1996. - Т. 121. - № 2. - С.138-143.
131. Ходак Л.А. Врожденная цитомегаловирусная инфекция у детей (клиника, диагностика, лікування): автореф. дис. док. мед. наук / Ходак Л.А. – М., 2004. – 35 с.
132. Хроническая обструктивная болезнь легких. Под ред А.Г. Чучалина. Москва. - 1998. - 510с.
133. Хроническая Обструктивная болезнь легких. Практическое руководство для врачей под. ред. А.Г.Чучалина. - 2004. - 61с.
134. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Патологическая анатомия хронических обструктивных заболеваний легких// Хроническая обструктивная болезнь легких. Под. Ред. А.Г. Чучалина, М.- 1998. - С.366-401.

135. Чернышова Л.И. Сравнительная характеристика подходов к лечению персистирующих инфекций у детей. Мат международной научно-практической конференции (25-26 октября 2005г.). Донецк. - 2005.- 164с.
136. Чучалин А.Г. Клинические рекомендации по хронической обструктивной болезни легких. //М.- 2001.
137. Чучалин А.Г., Айсанов З.Р., Калманова Е.Н. Функциональный диагноз у больных хронической обструктивной болезнью легких// Хроническая обструктивная болезнь легких/ Под ред. А.Г. Чучалина. М. - 1998. –С. 130–45.
138. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С. и др. Инфекционное обострение ХОБЛ. Практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. // Пособие для врачей. Москва, 2005. -37с.
139. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р. и др. Российское респираторное общество. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению хронической обструктивной болезни легких. //Пульмонология. -2014. - 3. –С. 15–54.
140. Шарыпова Н.Г. Механизмы повреждений плазматических мембран лимфоцитов крови у больных опишной наркоманией в состоянии абстинентного синдрома. Дисс. канд. мед. наук, Томск. - 2004. - 173 с.
141. Юлиш Е.И., Волосовец А.П. Врожденные и приобретенные TORCH-инфекции у детей.– Донецк: Регина. - 2005. -216с.
142. Ярилин А.А., Донецкова А.Д. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор FOXP3// Иммунология. - 2006. - 3. –С. 176-188.
143. American Thoracic Sociaty. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. // Am J. Respir. Crit. Care Med.-1995. - 152. - S.77-120
144. Arend S.M., Kroon F.P., van`t Wout J.W. Pneumocystis pneumonia patients without AIDS 1980 trough 1993. An analisis of 78 case. // Arch. Intern. Med.- 1995. - №155. -p. 2436-2441.
145. Asaoka Y., Oka M., Yoshida K. et al. Role of lysophosphatidylcholine in T-lymphocyte activation: involvement of phospholipase A₂ in signal transduction through proteinkinase C. // Proc.Natl.Acad. Sci. USA. -1992. - v. 89 (14) . - p. 6447-6451

146. Ayala A., Munoz M., Arguelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. //Oxid.Med. Cell. Long.- 2014. - ArticleID 360438. - 31p.
147. Babcock G.J., Decker L.L., Volk M., Thorley-Lawson D.A. EBV persistence in memory B cells in vivo // Immunity. — 1998. — № 9. — P. 395-404.
148. Barnes P. Systemic manifestations and comorbidities of COPD / P. Barnes, B. Celli // Eur. Respir. J. – 2009. – 33. –p. 1165 – 1185.
149. Barnes P.J., Buist A.S. The role of anticholinergics in chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. - 1997.-p. 92-125.
150. Barnes P.J., Shapiro S.D., Pauwels R.A. Chronic obstructive pulmonary disease molecular and cellular mechanisms. // Eur. RespJ. - 2003. - v. 22. - p. 672-688.
151. Boeckh M., Boivin G. Quantitation of cytomegalovirus: metodologic aspects and clinical applications. // Clin Microbiol.Rev.- 1998. - №11. - p.533-554.
152. Borowiec A., Lechward K., Tkacz-Stachowska K. Et al. Adenosine as a metabolic regulator of tissue function: production of adenosine bycytoplasmic 5'-nucleotidases. // ActaBiochim.Polonica. - 2006. - v. 53. - 2. - p. 269-278.
153. Bottcher S., Ritgen M., Pott C. et al. Comparative analisi of minimal residual disease detection using four-colour flou cytometry, consensus IgH-PCR, and quantitative IgH PCR in CLL after allogenic and autologus stem sell transplantation. // Leukemia. - 2004. - Oct., №18(10). - p.1637-1645.
154. Bostock I., Davies I.K. Recent changes in the Prevalence of Cigarette Smoking in Scotland. Hith Bull (Edinb.). - 1979. - 37. - 6. –p. 260-267.
155. Bourdin A. Recent advances in COPD: pathophysiology, res-piratory physiology and clinical aspects, including comorbidities / A. Bourdin [et al.] // EUR. RESPIR. REV. – 2009. – 18. –p. 198 – 212.
156. Brown K.L., Conboy J.C. Lipid flip-flop in binary membrane ecomposed of phosphatidylserine and phosphatidylcholine. // J. Phys. Chem. B. - 2013. - 117 (48) . - p. 15041-15050.

157. Brini M., Carafoli E. The plasma membrane Ca^{2+} ATPase and the plasma membrane sodium calcium exchanger cooperate in the regulation of cell calcium. //Cold Spring Harb.Perspect, Biol. - 2011. - 3: a004168.
158. Bruggemann M., Droese J., Bolz I et al. Improved assessment of minimal residual disease in B cell malignancies using fluorogenic consensus probes for real-time quantitative PCR. // Leukemia. - 2000. - Aug., №14(8) . - p.1419-25.
159. Buist A.S., Vollmer W.M. Smoking and other risk factors. – In: Murray J.F., Nadel J.A., eds. Textbook of respiratory medicine. – Philadelphia: W.B. Saunders. - 1994. –p. 1259–1287.
160. Buist A.S., McBurnie M.A., Vollmer W.M. et al. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a populationbased prevalence study. *Lancet*.2007. - 370. –p. 741–750.
161. Burge P.S., Calverley P.M., Jones P.W. et al. Randomized, double blind, placebo controlled study of fluticasone propionate in patients with moderate to severe COPD: the ISOLDE trial. *Br. Med. J.* 2000. - 320. –p. 1297–1303.
162. Burge P.S. Occupation and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) // Eur Respir J, 1994. - 7. –p. 1032–34.
163. Burney P.G.J., Patel J., Newson R. et al. Global and regional trends in COPD mortality, 1990–2010. //*Eur. Respir. J.* 2015. - 45. –p. 1239–1247.
164. Calverley P.M., Anderson J.A., Celli B. et al. TORCH investigators. Salmeterol and fluticasone propionate and survival in COPD. *N. Engl. J. Med.* 2007. - 356. –p. 775–789.
165. Calverley P.M., Boonsawat W., Cseke Z. et al. Maintenance therapy with budesonide and formoterol in COPD. *Eur.Resir. J.* 2003. - 22. –p. 912–919.
166. Calverley P.M., Pauwels R., Vestbo J. et al. Combined salmeterol and fluticasone in the treatment of COPD: a randomized controlled trial. *Lancet*. 2003. - 361 (9356). –p. 449–456.
167. Capcar D, Busse WW. Role of viral infections in ashtma. *Immunol. Allergy Clin North Am* 1993. -13(4). –p.745–67.
168. Cazin B., Maloum K., Creteil M.D. et al. Oral fludarabine and cyclophosphamide in previously untreated CLL: final response and follow up I 75 patients. *Blood*, 2003. - 102, 438a.

169. Celli B.R., Barnes P.J. Exacerbations of COPD. *Eur. Resp. J.* 2007. - 29. –p. 1224-1238.
170. Chaganti S., Ma C.S., Bell A.I. et al. Epstein-Barr virus persistence in the absence of conventional memory B cells: IgM+IgD+CD27+ B cells harbor the virus in X-linked lymphoproliferative disease patients // *Blood*. 2008. - Aug 1, 112 (3) . –p. 672–679.
171. Chen J.C., Mannino M.D. Worldwide epidemiology of COPD//*Cur. Opinion in Pulmonary Medicine*, 1999. - 5. –p. 93–99.
172. Chen W., Jin W., Hardegen N. et al. Conversion of peripheral CD4+CD25- naïve T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J ExpMed.*, 2003. - v.15. - 198 (12) . –p.1875-1886
173. Chandler A., Dhariwal K.R., Viswanattan R., Venkitasubramanian T.A. Puridine nucleotides in lung and liver of hipoxic rats-life sci, 1980. - v.26. - N23. - p. 1935-1945.
174. Chaurio R.A., Janko C., Munoz L.E. et al. Phospholipids: key players in apoptosis and immune regulation. *Molecules*, 2009. - 14. - p. 4892-4914.
175. Christian Brander and Bruce D Walker Modulation of host immune responses by clinically relevant human DNA and RNA viruses //*Current Opinion in Microbiology*, 2000. - 3. –p. 379-386.
176. Chuchalin A.G., Khaltayev N., Antonov N.S. et al. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulm. Dis.* 2014. - 9 (1). –p. 963–974.
177. Ciba Guest Symposium Terminology, definitions and classification of chronic pulmonary emphysema and related conditions//*Thorax*, 1959. - 14. –p. 286–99.
178. Cohen J.I., Kimura H., Nakamura S., Ko Y.-H., Jaffe E. S. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease in non-immunocompromised hosts: a status report and summary of an international meeting, 8–9 September 2008 // *Ann Oncol.* 2009 September. - 20 (9). –p. 1472–1482.
179. Cohen J. I. Epstein-Barr virus infection // *The New Engl. J. of Med.* 2000.- V. 343. - № 7. - P. 481–491.

180. Cohen J.I., Jaffe E.S., Dale J.K. et al. Characterization and treatment of chronic active Epstein-Barr virus disease: a 28-year experience in the United States. *Blood*. - 2011. - v. 117, 22. - p. 5835-5849.
181. Cosio M.G., Saetta M., Agusti A. Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease. *NEngl JMed*, 2009. - v.360. - 23. -p. 2445-2454.
182. Crawford D.H., Macsween K.F., Higgins C.D. et al. A cohort study among university students: identification of risk factors for Epstein-Barr virus seroconversion and infectious mononucleosis // *Clin Infect Dis*. 2006. - 43. -p. 276–282.
183. Cummings B.S., Mchowat J., Schnellmann J. Phospholipase A₂s in cell injury and death. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 2000. - v. 294. - 3. - p. 793-799.
184. Dennis E.A., Rhee S.G., Billah M.M., Hannun Y.A. Role of phospholipase in generating lipid second messengers in signal transduction. *FASEBJ.*, 1991. - v. 5. - 7. - p. 2068-2077.
185. Dennis R., Maldonado D., Norman S. et al. Wood smoke exposure and risk for obstructive airways disease among women // *Chest*, 1996. - 109. -p. 115–119.
186. Dirks W., Schone S., Uphoff C., Drexler H. Expression and function of CD95 (Fas/APO-1) in leukaemia-lymphoma tumor lines. *Br.J. Haematol.*, 1997. - 96(3). -p. 584-593.
187. Djukanovic R, et al. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990.-p. 142:434.
188. Elter T., Borchmann P., Schulz H. et al. Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II trial. *J. Clin. Oncol.*, 2005, -23.- p.7024-31.
189. Emiel F.M. wouters. Local and systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc. Am. Thorac. Soc*. 2005. - 2. -p. 26-33.
190. Escriba C. V., Gonzalez-Ros J. M., Goni F.M. et al. Membranes: a meeting point for lipids, proteins and therapies. *J. CellMol. Med.*, 2008. - v. 12. - 3. - p. 829-875.
191. Fadeel B., Xue D. The in and out of phospholipid asymmetry in the plasma membrane: roles in health disease. *Crit. Rev.Biochem. Mol.Biol.*, 2009. - 44 (5) . - p. 264-277.
192. Feinleib M., Rosenberg H.M., Collins J.G. et al. Trends in COPD morbidity and mortality in the United States. *Amer. Rev. respir. Dis.*, 1989. - vol.140. - N1. - p.9-18.

193. Fioretti E. et. Al. Spectrophotometric Assays for 5'-nucleotidase// The Italian Journal of Biochemistry. -1972.-21.-N3.-p.103-112.
194. Freeman C.M., Han M.K., Martinez F.J. et al. Cytotoxic potential of lung CD8+ T cells increases with chronic obstructive pulmonary diseases severity and with in vitro stimulation by IL-18 or IL-15. J. Immunol., 2010. - 184 (11). -p. 6504-6513.
195. Fruhwirth G.O., Loidl A., Hermetter A. Oxidized phospholipids: from molecular properties to disease. Biochim. Biophys. Acta: Mol. Bas. Dis., 2007. - v. 1772. - 7. - p. 718-736.
196. Galstyan G., Gorodetsky V. Keselman S., Fedanov A. Non-invasive ventilation (NIV) in acute respiratory failure in patient with hematological malignancies. Intensive Care Med., 2001.- 27. - Suppl. 2. - S.198.
197. Garcia I.S., Clara P.C. Causes of death and prediction of mortality in COPD. Arch. Bronconeumol. 2010. - 46. -p. 343-346.
198. Gershburg E., Pagano J.S. Epstein-Barr infections: prospects for treatment // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005.- Vol. 56.- № 2.- P. 277-281.
199. Glenda C. Faulkner, Andrew S. Krajewski and Dorothy H. Crawford A. The ins and outs of EBV infection// Trends in Microbiology, 2000. - 8. -p. 185-189.
200. «Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease». National Institutes of Health, 2001. - 100p.
201. Global initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease // NHLBI/WHO workshop Report. Last updated. – 2008.-112p.
202. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease NHLBI/WHO Workshop Report, 2001 (National Institutes of Health Publ. № 2701, April 2001). Bethesda 2001. -p. 1-96.
203. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. National Institutes of Health; National Heart, Lung and Blood Institute, updated 2003. -103p.

204. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI / WHO workshop report. Updated 2013. www.gold_copd.com
205. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI / WHO workshop report. The 2015 report is available on www.goldcopd.com
206. Grassl M., Moellering H. Spektrophotometrischebestimmung von phospholipase A // Z. Anal. Chem., 1969. - Bd. 243. - S. 416-423.
207. Grotto I., Mimouni D., Huerta M., Mimouni M., Cohen D., Robin G., Pitlik S., Green M. S. Clinical and laboratory presentation of EBV positive infectious mononucleosis in young adults// Epidemiol Infect. 2003. - August; 131 (1) . -p. 683–689.
208. Gunen H., Hacievliyagil S.S., Yetkin O. The role of nebulized budesonide in the treatment of exacerbations of COPD. //Eur. Respir. J. 2007. - 29. -p. 660–667.
209. Haahr S., Plesner A. M., Vestergaard B.F. et al. // Acta Neurol. Scand. — 2004. — V. 109, N 4. — P. 270—275.
210. Halliwell B., Guttendge J.M. Free radicals in biology and medicine. //Oxford, 1989. - 58 (188). -p. 366–494.
211. Hasko G., Sitkovsky M.V., Czabo C. Immunomodulatory and neuroprotective effects of inosine. // TRENDS in Pharm. Science, 2004. - v. 25, 3. - p. 152-157.
212. Hecht M.E., Jacobson W. Phospholipase A₁ and A₂ in lamellar bodies of the alveolar epithelium of rabbit lung. Biochem. Biophys. Acta, 1976. - v.441. - N3. - p. 443-452.
213. Henzen C., Suter A., Lerch E. et al. Suppression and recovery of adrenal response after shortterm, highdose glucocorticoid treatment. *Lancet*. 2000. - 355. -p. 542–545.
214. Hjalgrim H., Askling J., Rostgaard K., Hamilton-Dutoit S., Frisch M., Zhang J.S., Madsen M., Rosdahl N., Konradsen H.B., Storm H.H., Melbye M. Characteristics of Hodgkin's lymphoma after infectious mononucleosis. // N. Engl J Med. -2003. - № 2.-p. 1324-1332
215. Holloway R.A., Donnelly L.E. Immuno pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease.//Curr OpinPulm Med. 2013. -19 (2) . -p. 95-102.

216. Hoyert D.L., Xu J. Deaths: preliminary data for 2011. *Natl.Vital. Stat. Rep.* 2012. - 61. -p. 1–51.
217. Hugo H., Linde A., Abom P. // *Scand. J. Infect. Dis.* — 1989. — V. 21. — P.103—105.
218. Hunsucker S.A., Mitchel B.S., Spychala J. The 5'-Nucleotidase as regulators of nucleotide and drug metabolism. *Pharm. Theurap.*, 2005. - 107. -p. 1-30.
219. Hussein J.S. Cell membrane fatty acids and health. // *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2013. - v. 5. - 3.-p. 38-46.
220. Innes J., Runtz M.M., Kim Y.T., Weksler M.E. // *J. Clin. Invest.*, 1979. - 64. - p. 1608
221. Jaffar Z., Sivacuru T., Roberts K. CD4+CD25+ T-cells regulate airway eosinophilic inflammation by modulating the Th2 cell phenotype//*J. Immunol.*, 2004. - 172. -p. 3842-3849.
222. Jimenez E., Sacedon R., Vicente A. et al. Rat peripheral CD4+CD8+ T lymphocyte sarepartially immunocompetent thymus-derived cells that undergo postthymic maturation to become functionally mature CD4+ Tlymphocytes. // *J. Immunol.*, 2012. - v.168. - P. 5005-5013.
223. Kalyanyama B.M., Matee M.I., Vuhahula E. Oral tumours in Tanzanian children based on biopsy materials examined over a 15-year period from 1982 to 1997. // *Int Dent J.* 2002. - №52.-p.10-14.
224. Kampelmacher M.J., Lammers J.S. Long-term Oxygentherapy COPD: Diagnosis and Treatment. Amsterdam, 1996. - p.103-108.
225. Kane M., Golovkina T. Common threads in persistent viral infections. *J. Virol.*, 2010. - v. 84.-9. - p. 4116-4123.
226. Karagiannidis C. et al. Glucocorticoid supregulate FOXP3 expression and regulatory T-cells in asthma. // *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004. - 114. -p.1425-1433.
227. Khanna R., Burrows S.R. Role of cytotoxic T lymphocytes in Epstein — Barr virus-associated Diseases // *Ann. Rev. Microbiol.* — 2000. — Vol. 54. — p. 19-48.
228. Kijima Y., Hokita S., Yoshinaka H. et al. Amplification and overexpression of c-met gene in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas. // *Oncology* 2002. - 62. - 1. -p. 60-65.
229. Kohama A., Tanouchi J., Masatsugu H., Kitabatake A., Kamada T. Pathologic involvement of the left ventricle in chronic cor pulmonale // *Chest*, 1990. - 98. -p. 794–800.

230. Larche M., Robinson D.C., Kay A.B. The role of T lymphocytes in pathogenesis of asthma. // *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003. - 111. –p.450-463.
231. Larsen G.L., Parrish D., Henson P.M. Lung defense paradox of inflammation. *Chest*. 1983. - v.83. - N5. - p. 1-4.
232. Le Riverand Morales E., Gurtsevich V.E., Ruiz Garcia R. Levels of humoral antibodies to Epstein-Barr virus in the population of Cuba. // *Vopr Virusol.* — 1979. -№4.-p.399-405.
233. Lee J.H., Kim S.H., Han S.H., An J.S., Lee E.S., Kim Y.S. Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a meta-analysis. // *J Gastroenterol Hepatol.* — 2009.- №24. - p.354-365.
234. Li Z. Y., Lou J. G., Chen J. Analysis of primary symptoms and disease spectrum in Epstein-Barr virus infected children // *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2004. -Vol. 42.- № 1.- P. 20–22.
235. Lingwood D., Simons K. Lipid rafts as membrane-organizing principle. *Science*. - 2010. - v. 327. - p. 46-50.
236. Lopez A.D., Shibuya K., Rao C. et al. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projection. //*Eur. Respir. J.* 2006. - 27. –p. 397–412.
237. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. Protein measurement with the folin phenol reagent// *J Biol. Chem.*-1951.-193(1). -P.265-275.
238. Mac Nee W. Oxidants/antioxidants and chronic obstructive pulmonary disease: pathogenesis to therapy. //Novartis Found.Symp., 2001. - 234. - p. 169-185.
239. Mannino D.M., Homa D.M., Akinbami L.J. et al. Chronic Obstructive Pulmonary Disease Surveillance – United States, 1971–2000. *MMWR Surveillance Summaries*. 2002. - 51 (SS06). - p. 1–16.
240. Mancini G., Carbonara A.O., Heremans J.F. Immunochemistry. -1965.-Vol.2.-N3.-P.235-254.
241. Massaia M., Attisano C., Redoglia V. et al. Amplification of T cell activation induced by CD73 (ecto-5' nucleotidase) engagement. In “Purine and pyrimidine metabolism in manVII”, 1992. - 309B. - p. 155-158.
242. Medical Research Council. Definition and classification of chronic bronchitis for clinical and epidemiological purposes// *Lancet*, 1965. - 1. –p. 775–9.

243. Meydani S.N., Beharka A.A. Recent development in vitamin E and immune response. Nutr.Rev., 1996. - v. 56. - 1. - p. 49-58.
244. Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ in toxication and vitamin E deficiency // Biochem. Med. 1980. -V. 23. -. № 3. - p. 302–311.
245. Mills K.H.G. Regulatory T-cells: friend or foe in immunity to infection, Nature Reviews Immunology, 2004. - 4. –p. 841-845.
246. Morton R.E., Green D.J. The surface cholesterylester content of donor and acceptor particles regulates CETP: a liposome-based approach the substrate properties of lipoproteins. //J. LipidRes., 2003. - v. 44. - p. 1364-1372.
247. Muszbek L., Szabo T., Fesus L// Analyt Biochem. -1977.-77.-p.286-288.
248. Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction / K. Chung, I. Adcock // Eur. Respir. J. – 2008. – 31. –p. 1334 – 1356.
249. Nagai A., West W.W, Paul J.L, Thurlbeck W.M. The national institutes of health intermittent positive-pressure breathing trial Pathology studies II Correlations between morphologic findings, clinical findings and evidence of expiratory air-flow obstruction // Am. Rev. Respir. Dis., 1985. - 132. –p. 946–52.
250. Naschimbeni M., Shin E.C., Chiriboga L. et al. Peripheral CD4+CD8+ T cells are differentiated effector or memory cells with antiviral functions. Blood, 2004. - v.104. - 2. –p. 478-486.
251. National Center for Health Statistics. National hospital interview survey. Vital and health statistics, series 10 (issues from 1974 to 1995).
252. Nelson textbook of pediatrics, 17 th Edition / [edited by] R. E. Behrman, R. M. Kliegman, H. B. Jenson. 2004. - p. 2615–2619.
253. Neuhierl B., Feederle R., Hammerschmidt W., Delecluse H.J. Glycoprotein gp110 of Epstein — Barr virus determines viral tropism and efficiency of infection // Proc. Natl. Acad. Sci USA. — 2002. — 99. — p.15036-41.

254. Niewoehner D.E., Erbland M.L., Deupree R.H. et al. Effect of systemic glucocorticoids on exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N. Engl. J. Med.* 1999. - 340. –p. 1941–1947.
255. Nishikawa H, Kato T., Tawara I. et al. Definition of target antigens for naturally occurring CD4+CD25+ regulatory Tcells. *J.Exp.Med.*,2005. - v. 201. - 5.- p. 681-686.
256. O`Driscole B.R., Cromwell O., Kay A.B. Sputum leukotrienes in obstructive airways disease. // *Clin. Exp. Immunol.*, 1984. - vol.55. - N2. - p.397-404.
257. Odumade O.A., Hogguist K.A., Balfour H.H. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. // *Clin.Microbiol.Rev.*, 2011. - 24 (1). - p. 193-209
258. Oldstone M. Viral persistence: Parameters, mechanisms and future predictions. // *Virology*, 2006. - v. 344. - 1. - p. 111-118.
259. Pagano J. S. Viruses and lymphomas // *N. Eng. J. Med.* 2002.- Vol. 347.- № 2.- P. 78–79.
260. Panagopoulos D., Victoratos P., Alexiou M. et al. // *J. Virol.* — 2004. — V. 78, N 23. — P. 13253—13261.
261. Peto R., Lopez A.D., Boreham J., Thun M., Health C.Jr. Mortality from tobacco in developed countries: indirect estimation from national vital statistics. - *Lancet.* 1992. - 339. –p. 1268-1278.
262. PniewskaE., Pawliczak R. The involvement of phospholipase A₂ in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Mediat.Inflam.*, 2013, ArticleID 793505, -12 p.
263. Postma D.S. Epidemiology of COPD risk factors // *COPD: Diagnosis and treatment. Excerpta Medica*, 1996, 17 Report. Chronic bronchitis in Great Britain. *BMJ*, 1961. –p. 12–973.
264. Punekar Y.S., Shukla A., Müllerova H. COPD management costs according to the frequency of COPD exacerbations in UK primary care. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulm. Dis.* 2014. - 9. –p. 65–73.
265. Ranadive N.S., Lewis R. Effects of antioxidants and indomethacin on compound 48/80-induced histamine reale and Ca⁺⁺ uptake in mast cells. *Fed.Proc.*, 1981. - v. 40. - N 3. - pt.2. - p. 1115-1117.

266. Rennard S. Natural Histories of Chronic Obstructive Pulmonary Disease/ S. Rennard, J. Vestbo//The proceedings of the American Thoracic Society. -2008.-5.-p.878-883.
267. Repine J.E., Bast A., Lankhorst L. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease//Amer J Respir Crit Care Med, 1997. - 156. –p. 341–57.
268. Reis A., Spickett C.M. Chemistry of phospholipid oxidation. Biochem, Biophys.Acta, 2012.- v. 1818. - 10. - p. 2374-2387.
269. Rijcken B., Britton J. Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease // Management of chronic obstructive pulmonary disease / Eds: Postma D.S., Siafakas N.M. The European Respiratory Society Monograph, 7 May, 1998. –p. 1–302.
270. Rovina N., Koutsoukou A., Koulouris N.G. Inflammation and immune response in COPD: where do we stand? Mediators Inflamm., 2013. - Article ID 413735. - 9p.
271. Rowe M., Lear A.L., Croom-Carter D., Davies A.H., Rickinson A.B. Three pathways of Epstein-Barr virus gene activation from EBNA1? positive latency in B lymphocytes // J Virol. 1992. - Jan, 66 (1). –p. 122–131.
272. Sandford A.J., Weir T.D., Pare P. Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease // Eur Respir J, 1997. - 10. –p. 1380–91.
273. Shapiro S.D. The pathogenesis of emphysema the elastase- antielastase hypothesis 30 years later // Proceedings of Assoc Amer Phys., 1995. - 107. –p. 346–52.
274. Shelly W. Basic principles of therapy for allergic disease / W. Shelly, E. Shelly // Allergy. - 1997.- Vol.42.- №2, - P.483-492.
275. Shoji H., Wakasugi K., Miura Y. et al. Herpesvirus infections of the central nervous system. Jpn. J. Infect. Dis. 2002. - 55. - 1. –p. 6-13.
276. Simons K., Gerl M.J. Revitalizing membrane rafts: New tools and insights. //Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2010. - v. 11. - p. 688-699.
277. Solem C.T., Sun S.X., Sudharshan L. et al. Exacerbation related impairment of quality of life and work productivity in severe and very severe chronic obstructive pulmonary disease. // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulm. Dis.* 2013. - 8. –p. 641–652.

278. Stanescu D. Small airways disease and chronic obstructive pulmonary disease // Management of chronic obstructive pulmonary disease / Eds: Postma D.S., Siafakas N.M. The European Respiratory Society Monograph, 7 May, 1998. –p. 107–27.
279. Sumimoto S., Kasajima Y., Hamamoto T. et al. // Eur. J. Pediatr. — 1990. — N 149. — P. 691—694.
280. Sullivan Y.B., Landay A.L., Zack J.A. et al. Up regulation of CD4 on CD8+ T cells anactivated phenotype of CD8+ T cells. Immunology, 2001. - v.103. - 3. –p. 270-280.
281. Szafranski W., Cukier A., Ramirez A. et al. Efficacy and safety of budesonide and formoterol in the management of COPD. //Eur. Respir. J. 2003. - 21. –p. 74–81.
282. Tappia P.S., Dhalla N.S. Mechanisms for the defects of phospholipid signal transduction in diabetic cardiomyopathy. //Ind.J. Biochem.Byoph., 2014. - v. 51. - p. 431-440.
283. Thracker E.L., Mirzaei F., Ascherio A. Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: a metaanalysis // Ann. Neurol. 2006.- Vol. 59.- № 3.- P. 499–503.
284. Tonnesen P. Smoking cessation and prevention// management of chronic obstructive pulmonary disease/ Eds: Postma D.S., Siafakas N.M. The European Respiratory Society Monograph. 7 May. 1998. –p. 127-35.
285. Tosato G., Taga K., Angiolillo A.L., Sgadari C. Epstein-Barr virus as an agent of haematological disease // Baillieres Clin Haematol. 1995. - Mar, 8 (1). –p. 165–199.
286. van Durme Y. C-Reactive Protein Levels, Haplotypes, and the Risk of Incident Chronic Obstructive Pulmonary Disease / Y. van Durme, K. Verhamme, A. Aarnoudse // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2009. – 179. –p. 375 – 382.
287. Valencia X., Lipsky P.E. CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells in autoimmune diseases. Nat.Clin. Pract.Rheumatol., 2007, 3 (11). –p. 619-626.
288. Vasic V., Momic T., Petkovic M., Krstic D. Na⁺, K⁺-ATPase as the target enzyme of organic and inorganic compounds. Sensors, 2008. - 8. - p. 8321-8360.
289. Verma N., Arunabh S., Brady T.M. et al. // Clin. Nephrol. — 2002. — V. 58, N 2. — P.151—154.

290. Vento S., Guella L., Mirandola F. et al. // *Lancet*. — 1995. — V. 346, N 8975. — P. 608—609.
291. Vicevic D., Radosavljevic T., Zunic S. The role of oxidative stress in the pathogenesis of pulmonary emphysema. *Med. Pregl.*, 2005. - 58 (9-10) . - p. 472-477.
292. Weir E.K. // *Pulmonary hypertension* /Eds E.K. Weir, J.T. Reeves -N.Y., 1984.-8- p. 115-26.
293. Wiesel M., Walton S., Richter K., Oxenius A. Virus-specific CD8 Tcells: activation, differentiation and memory formation, *APMIS*, 2009. - 117 (5-6) . -p. 356-381.
294. White P.D., Thomas J.M., Sullivan P.F. // *Psychol. Med.*, 2004. - V. 34. - N 3. - P. 499—507.
295. Wilton D.C. Phospholipase A₂: structure and function. // *Eur. J. LipidSci. Technol.*, 2005. - 107. - p. 193-205.
296. Xu X., Wess S.T., Rijcken B., Schoten J.P. Smoking, changes in smoking habits and rate of decline in FEV1: new insight into gender differences// *Eur. Respir. J.*, 1994. - 7. —p. 1056—1061.
297. Xie Z., Askari A. Na⁺/K⁺-ATPase as a signal transducer. *Eur.J. Biochem.*, 2002. - 269. - p. 2434-2439.
298. Yin H., Xu L., Porter N.A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chem. Rev.*, 2011. - v. 111. - 10. - p. 5944-5972.
299. Yoshida T. Pathobiology of Cigarette Smoke- Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease/ T. Yoshida. R.M. Tuder// *Physiol.Rev.*-2007.-87. —p. 1047-1082.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

МКБ – 10 - МЕЖДУНАРОДНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ БОЛЕЗНЕЙ 10-ГО ПЕРЕСМОТРА (ВЕРСИЯ: 2016, ТЕКУЩАЯ ВЕРСИЯ)

ХРОНИЧЕСКИЕ БОЛЕЗНИ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ (J40-J47)

Исключен: кистозный фиброз ([E84.-](#))

J.40 Бронхит, не уточненный как острый или хронический

Примечание. Бронхит, не уточненный как острый или хронический, у лиц моложе 15 лет может рассматриваться как острый по своему характеру и его следует относить к рубрике

J.20

Включено:

- Бронхит:
 - БДУ
 - катаральный
 - трахеитом БДУ
- Трахеобронхит БДУ

Исключены: бронхит:

- аллергический БДУ (**J45.0**)
- астматический БДУ (**J45.9**)
- вызванный химическими веществами (острый) (**J68.0**)

J.41 Простой и слизисто-гнойный хронический бронхит

Исключены: хронический бронхит:

- БДУ J42
- Обструктивный (J44. -)

J.42 Хронический бронхит неуточненный

Включено: Хронический:

- бронхит БДУ
- трахеит
- трахеобронхит

Исключены: хронический(ая):

- астматический бронхит (J44. -)
- бронхит:
 - простой и слизисто-гнойный (J41. -)
 - с закупоркой дыхательных путей (J44. -)
- эмфизематозный бронхит (J44. -)
- обструктивная легочная болезнь БДУ (J44.9)

J.43 Эмфизема

Исключены:

- эмфизема:
 - компенсаторная (J98.3)
 - вызванная химическими веществами, газами, дымами и парами (J68.4)
 - интерстициальная (J98.2)
 - новорожденного (P25.0)
 - медиастинальная (J98.2)
 - хирургическая (подкожная) (T81.8)
 - травматическая подкожная (T79.7)

- с хроническим (обструктивным) бронхитом (**J44.-**)
- эмфизематозный (обструктивный) бронхит (**J44.-**)

J.44 Другая хроническая обструктивная легочная болезнь

Включены: хронический(ая):

- бронхит:
 - астматический (обструктивный)
 - эмфизематозный
 - с:
 - закупоркой дыхательных путей
 - эмфиземой
- обструктивная(ый):
 - астма
 - бронхит
 - трахеобронхит

Исключены:

- астма (**J45.-**)
- астматический бронхит БДУ (**J45.9**)
- бронхоэктазия (**J47**)
- хронический:
 - трахеит (**J42**)
 - трахеобронхит (**J42**)
- эмфизема (**J43.-**)
- болезни легкого, вызванные внешними агентами (**J60-J70**)

J.45 Астма

Исключены:

- острая тяжелая астма (**J46**)
- хронический астматический (обструктивный) бронхит (**J44.-**)
- хроническая обструктивная астма (**J44.-**)
- эозинофильная астма (**J82**)
- болезни легкого, вызванные внешними агентами (**J60-J70**)
- астматический статус (**J46**)

J.46 Астматическое статус [status asthmaticus]

Острая тяжелая астма

J.47 Бронхоэктазия

Бронхиолэктазы

Исключены:

- врожденные бронхоэктазы (**Q33.4**)
- туберкулезные бронхоэктазы (текущее заболевание) (**A15-A16**)