

**Министерство образования и науки Кыргызской Республики
Ошский Государственный университет
Международный медицинский факультет**

**На правах рукописи
УДК 616.24-092.9:616.155.18**

Калматов Романбек Калматович

**"Патогенетические механизмы и особенности развития заболеваний
верхних дыхательных путей инфекционно-аллергической природы в
детском возрасте"
(клинико-экспериментальное исследование)**

14.03.03 – патологическая физиология

**диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

**Научный консультант:
доктор медицинских наук, профессор
Г.В.Белов**

Бишкек – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	6
Введение	9
Глава 1. Локальные клеточно-молекулярные основы патогенеза заболеваний верхних дыхательных путей	19
1.1 Современные представления о сурфактанте легких и слизистых оболочек	19
1.2 Патологические процессы в верхних дыхательных путях – общие представления об этиологии и патогенезе	26
1.3 Современные представления о патогенезе бронхиальной астмы	29
1.4 Цитологические механизмы ремоделирования дыхательных путей	35
1.5 Цитохимическая характеристика верхних дыхательных путей при воздействии токсических веществ на организм человека	42
1.6 Роль механизмов свободнорадикального окисления в патогенезе локального поражения верхних дыхательных путей	47
1.6.1 Общие представления о роли оксидантной и антиоксидантной систем в генезе нарушений гомеостаза	47
1.6.2 Нарушения процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты при заболеваниях дыхательных путей, бронхиальной астме и действии токсических веществ	52
1.7 Основные направления совершенствования диагностики патологии верхних дыхательных путей	59
1.7.1 Потенциальные биомаркеры поражения верхних дыхательных путей и бронхиальной астмы	59
1.7.2 Определение биомаркеров сурфактанта и оксидативного стресса в конденсате выдыхаемого воздуха	64
Заключение по главе	73
Глава 2. Дизайн исследования	76
2.1 Экспериментальная часть	76
2.1.1 Характеристика экспериментальных моделей	76
2.1.2 Методы исследования в эксперименте	77
2.2 Клиническая часть	78
2.2.1 Характеристика обследуемых детей	80
2.2.2 Методы исследования в клинике	88

2.2.2.1 Клиническое обследование	88
2.2.2.2 Биохимические исследования	89
2.2.2.3 Иммунологические исследования	91
2.2.2.4 Цитологические исследования	92
2.2.2.5 Микробиологические исследования	92
2.2.3. Методы лечения больных	92
2.3 Статистическая обработка полученных данных	94
Глава 3. Поверхностная активность смывов слизистых оболочек у кроликов в норме и при аллергическом воспалении	95
3.1 Показатели поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов	95
3.2 Показатели поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов при моделировании банального воспаления	100
3.3 Изменения показателей поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов при моделировании аллергического воспаления	102
3.4 Изменения показателей свободнорадикального окисления в различных анализируемых субстратах у кроликов при моделировании банального воспаления	104
3.5 Изменения показателей свободнорадикального окисления в различных анализируемых субстратах у кроликов при моделировании аллергического воспаления	106
3.6 Протекторный эффект амброксола на состояние сурфактантов слизистых и свободнорадикального окисления при моделировании аллергического воспаления	108
Заключение по главе	110
Глава 4. Результаты клинического обследования больных	112
4.1 Результаты клинического обследования больных бронхиальной астмой	112
4.2 Динамика клинических признаков заболеваний у обследуемых детей после проведенного лечения	114
Заключение по главе	117
Глава 5. Характеристика эпителия верхних дыхательных путей и оценка процессов свободнорадикального окисления у детей с инфекционной и	120

аллергической патологией	
5.1 Показатели поверхностной активности эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха	120
5.2 Состояние процессов перекисного окисления и активности антиоксидантной системы в эндоназальных смывах и конденсате выдыхаемого воздуха	124
5.3 Показатели свободнорадикального окисления и активности антиоксидантной системы периферической крови обследуемых детей	128
5.4 Динамика показателей эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха под влиянием лечения	129
5.5 Динамика показателей свободнорадикального окисления и активности антиоксидантной системы периферической крови обследуемых детей в процессе лечения	134
Заключение по главе	137
Глава 6. Состояние иммунной системы до и после лечения детей с инфекционной и аллергической патологией	140
6.1 Показатели клеточного иммунитета детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей до лечения	140
6.2 Характеристика гуморального звена иммунитета у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой	144
6.3 Состояние неспецифической резистентности у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой	149
6.4 Оценка состояния слизистых оболочек верхних дыхательных путей у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой	150
6.5 Динамика показателей клеточного иммунитета детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей после лечения	153
6.6 Динамика показателей гуморального иммунитета детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей после лечения	164
6.7 Показатели неспецифической резистентности у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей после лечения	171
6.8 Динамика показателей состояния слизистой оболочки верхних дыхательных путей обследуемых детей после лечения	174
Заключение к главе	177
Глава 7. Изучение взаимосвязей между показателями иммунного статус-	182

са, свободнорадикального окисления и состояния верхних дыхательных путей у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей. Обоснование предлагаемого способа диагностики и лечения.	
7.1. Взаимосвязи между показателями иммунного статуса, свободнорадикального окисления и состояния верхних дыхательных путей у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей	182
7.2. Обоснование предлагаемого способа диагностики и лечения воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей и придаточных полостей	191
Заключение к главе	195
Выводы	201
Практические рекомендации	204
Список использованной литературы	204

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АОЗ	– антиоксидантная защита
АОС	– антиоксидантная система
АФК	– активные формы кислорода
БА	– бронхиальная астма
БАЛ	– бронхоальвеолярный лаваж
БАС	– бронхоальвеолярный смыв
ВДП	– верхние дыхательные пути
ГМ-КСФ	– гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ЖЕЛ	– жизненная ёмкость лёгких
ЖК	– жирные кислоты
ИЛ	– интерлейкин
ИС	– индекс стабильности
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИФН	– интерферон
КВВ	– конденсат выдыхаемого воздуха
ЛПС	– липополисахарид
ЛТ	– лейкотриены
МДА	– малоновый диальдегид
МОС 25	– мгновенная объёмная скорость при выдохе 25 % ФЖЕЛ
МОС 50	– мгновенная объёмная скорость при выдохе 50% ФЖЕЛ
МОС 75	– мгновенная объёмная скорость при выдохе 75% ФЖЕЛ
МПО	– миелопероксидаза
ОРВИ	– острые респираторные вирусные инфекции
ОФВ1	– объема форсированного выдоха за первую секунду
ПА	– поверхностная активность
ПАУ	– полициклические ароматические углеводороды
ПН	– поверхностное натяжение
ПН макс	– поверхностное натяжение максимальное

ПН мин	– поверхностное натяжение минимальное
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
ПСВ	– пиковая скорость выдоха
РДС	– респираторный дистресс-синдром
СОД	– супероксиддисмутаза
СП-А, СП-В, СП-С и СП-Д	– сурфактанта протеины А, В, С и D типа
СРО	– свободнорадикальное окисление
ССЛ	– сурфактантная система легких
ТЖ	– технические жидкости
ТЧ	– твердые частицы
ФВД	– функция внешнего дыхания
ФНО	– фактор некроза опухоли
ФНО- α	– фактор некроза опухоли-альфа
ХОБЛ	– хроническая обструктивная болезнь легких
ЧБД	– часто болеющие дети
ЧДВ	– частицы дизельных выхлопов
ЭНС	– эндоназальные смывы
АСТ	– Asthma Control Test
CD16 ⁺	– НК-клетки,
CD19 ⁺	– В-лимфоциты,
CD25 ⁺	– рецепторы к интерлейкину 2
CD3 ⁺	– Т-лимфоциты
CD3 ⁺ CD4 ⁺	– Т-хелперы
CD3 ⁺ CD8 ⁺	– цитотоксические Т-лимфоциты,
EGF	– эпидермальный фактор роста
ERK	– внеклеточно регулируемая киназа
ЕТ – 1	– эндотелин-1
GCT	– глутатион S-трансфераз
Ig	– иммуноглобулин
IgA, IgE, IgM	– иммуноглобулин А, Е, М

IL	– интерлейкины
JNK	– c-Jun NH2-киназа
MAPK	– митоген-активируемая протеинкиназа
MMP	– металлопротеиназы
PDGF	– тромбоцитарный фактор роста
TLR	– toll-like receptors – Toll-подобные рецепторы,
TSLP	– thymic stromal lymphopoietin – тимусный стромальный лимфопоэ тин
VEGF	– Vb фактор роста эндотелия сосудов

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы диссертации

В Кыргызстане, как и целом в мире, имеет место рост заболеваний ВДП инфекционно-аллергической природы у детей [М.Е. Загорянская и соавт., 2003, Н.Э. Уметалиева, 2007], что связывают с аллергизацией и ухудшением экологии окружающей среды. Обычная противовоспалительная терапия ринитов, отитов, синуситов не всегда приводит к выздоровлению, спустя несколько месяцев, заболевание вновь может обостриться. Это послужило основой для выделения категории часто болеющих детей [В.Ю. Альбицкий, А.А. Боронов, 1986]. Ситуация заставляет вести поиск новых патогенетических методов восстановительного лечения, так как часто болеющие дети отстают в развитии, не редко потом заболевают бронхиальной астмой (БА). БА представляет собой важнейшую медико-социальную и экономическую проблему, общемировая заболеваемость БА увеличивается с каждым годом [Anandan S. et al., 2010; Anderson G.P., 2008; Holgate S.T. et al., 2010].

Депрессия местного иммунитета может быть не только результатом экологического прессинга, но и иметь наследственные формы. В частности появились данные о снижении клеточных и гуморальных иммунных реакций у детей с дефицитом сурфактантного белка, который может быть приобретен в результате перенесенного в неонатальном периоде дистресс-синдрома или носить семейную форму [R. Ball, 1995; C. Delestrain, 2013]. В начале 21 века в слизистой внутреннего уха, евстахиевой трубы и некоторых других органов выявлены коллектины, схожие с протеинами сурфактанта легких [JF. Mc Guire, 2002, JM. Luo et al., 2004, Г.В. Белов и соавт., 2005].

Одним из важнейших показателей состояния механизмов локальной защиты верхних дыхательных путей (ВДП) является их колонизационная резистентность, которая зависит от характеристик нормофлоры биотопа и состоя-

ния неспецифической резистентности организма [Метельская В.А., 2013; Lofgren S., Krol A., 2011; Magrone T. et al., 2014]. Развивающиеся при этом негативные изменения состояния эубиоза и нарушения иммунного статуса приводят к сдвигам в эндоэкологии макроорганизма, являясь базисом для формирования целого ряда донозологических изменений, которые со временем могут трансформироваться в клинически выраженную патологию, что, как правило, и наблюдается у детей с БА и у контингентов ЧБД [Рамазанова З.К. и др., 2005; Holgate S.T. et al., 2010]. Однако эти вопросы остаются недостаточно изученными, в доступной литературе практически отсутствуют данные о цитологических и микробиологических характеристиках отделяемого носоглотки у таких детей, не описана динамика показателей состояния слизистой оболочки ВДП в процессе лечения, в том числе с применением иммуностропных лекарственных средств.

В последнее десятилетие появился ряд работ по лечению отитов и синуситов местным применением модификаторов и стимуляторов сурфактанта [Mautone, 2004;]. Однако, предлагая средства для лечения и профилактики отита, авторы не дают критериев оценки поверхностно-активных свойств содержимого внутреннего уха. Нам представляется практически значимым изучить возможность определения поверхностной активности (ПА) секрета внутреннего уха и евстахиевой трубы в назофарингеальных смывах для диагностики нарушений сурфактантов уха. Возможно, эти показатели могут стать критериями эффективности восстановительного лечения детей с ЛОР-патологией и больных бронхиальной астмой.

Степень разработанности темы исследования

Общепризнанно, что в организме больного с заболеваниями легких и верхних дыхательных путей в результате патологического процесса развиваются изменения на клеточном и молекулярном уровне, которые в норме практически отсутствуют [Бримкулов Н.Н., Белов Г.В., 1989; Holgate S.T., 2011;

Rubin В.К., 2002]. Эти сдвиги могут быть оценены с помощью лабораторного изучения биологических образцов: например, жидкости, получаемой при бронхоальвеолярном лаваже, промывании носа, исследовании крови, проб ткани легкого [Белов Г.В. и др., 1995; Добрых В.А., Мун И.Е., 2005]. Рядом исследователей было предложено применение методов оценки физико-химических показателей конденсата выдыхаемого воздуха и назальных смывов в качестве индикаторов активности патологических процессов в ВДП [Поважная Е.Л. и др., 1996; Яковлева О.А., 1990; Kaiko G.E., Foster P.R., 2011; Karaaslan C. et al., 2012].

К настоящему времени проведено большое количество исследований, подтвердивших, что изменения процессов свободнорадикального окисления (СРО) и функции антиоксидантной системы (АОС) вносят существенный вклад в патогенез инфекционно-аллергических заболеваний, в частности, активные формы кислорода играют важнейшую роль в патогенезе БА [Болевич С., 2006; Li Y. et al., 2014; Mathias L.J. et al., 2013]. Также установлено, что для патологии, сопровождающейся повышением активности СРО, характерно развитие окислительного стресса, что в полной мере относится и к острым респираторным заболеваниям у часто болеющих детей [Соодаева С.К., 2006; Rahman I. et al., 2006].

Очевидно, что результаты исследований иммунного статуса, процессов СРО, а также локальных физико-химических характеристик состояния ВДП у часто болеющих детей, сравнение этих данных с показателями детей, страдающих бронхиальной астмой, позволит выявить определенные закономерности развития этих заболеваний, даст возможность определить критерии перехода ребенка из статуса «часто болеющего» в статус больного бронхиальной астмой.

Связь темы диссертации с научными программами, основными научно-исследовательскими работами

Работа выполнена в инициативном порядке.

Цель работы

Патогенетическое обоснование путей оптимизации диагностики и лечения часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой.

Задачи исследования:

1. Определить биологическое значение изменений свободнорадикального окисления и поверхностной активности сурфактанта слизистых оболочек при моделировании аллергического воспаления носоглотки и верхних дыхательных путей на экспериментальных животных.

2. Разработать методику определения ПА сурфактантов слизистых оболочек человека.

3. Охарактеризовать состояние эпителия верхних дыхательных путей по физико-химическим показателям эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой.

4. Оценить иммунный статус и неспецифическую резистентность, состояние процессов свободно радикального окисления, дать цитологическую и микробиологическую характеристику эпителия верхних дыхательных путей у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой.

5. Выявить взаимосвязь изменений ПА КВВ, назофарингеальных смывов у обследованных больных со сдвигами известных иммунологических, морфологических, цитологических показателей.

6. Изучить динамику показателей эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха, а также параметров свободнорадикального окисления у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой под влиянием лечения.

7. Предложить новые патогенетические методы лечения и профилактики воспалительных заболеваний ВДП и бронхиальной астмы.

Научная новизна полученных результатов

Впервые разработана методика определения ПА эндоназальных смывов, конъюнктивальных смывов, смывов внутреннего уха у лабораторных животных и у человека.

Впервые в экспериментальных моделях продемонстрированы изменения показателей поверхностной активности смывов (конъюнктивальных, эндоназальных, бронхоальвеолярных, внутреннего уха) и конденсате выдыхаемого воздуха кроликов при банальном и аллергическом воспалении слизистых верхних дыхательных путей, сочетающиеся с повышением показателей свободно-радикального окисления этих биосубстратов.

Впервые охарактеризованы изменения физико-химических характеристик эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой, выполнена сравнительная оценка выявленных сдвигов у обследованных контингентов больных.

Представлены новые данные о состоянии и динамике показателей иммунного статуса, параметров свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в сопоставлении с характеристиками локального состояния верхних дыхательных путей у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой при проведении патогенетически обоснованного лечения.

Описаны значимые корреляции между показателями иммунного статуса и характеристиками состояния верхних дыхательных путей, параметрами интенсивности процессов СРО и активности антиоксидантной системы (ферментов СОД и каталазы) у обследуемых контингентов больных.

Впервые продемонстрировано, что проведение патогенетически обоснованного лечения в отношении рассмотренных в рамках исследования нозологий проявляется снижением частоты жалоб и уменьшение частоты обострений бронхиальной астмы и острых респираторных инфекций.

Полученные данные позволили обосновать концепцию совершенствования лечебно-диагностических мероприятий в отношении часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой с учетом современных представлений о молекулярно-клеточных основах патогенеза верхних дыхательных путей инфекционно-аллергической природы, в основе которой положение о том, что обоснованное лечение должно включать нормализацию функции иммунной системы, снижение интенсивности свободнорадикального окисления и повышение активности антиоксидантной системы у данной категории больных.

Практическая значимость полученных результатов

Продемонстрирована необходимость совершенствования подходов к диагностике и лечению часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой с учетом современных представлений о молекулярно-клеточных основах патологии верхних дыхательных путей. Обоснована необходимость применения в клинической практике методов оценки состояния слизистой оболочки носоглотки у этих контингентов больных.

Рекомендовано дополнить комплекс лечебно-профилактических мероприятий в отношении часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой следует оптимизацией баланса про- и антиоксидантных систем организма.

Результаты выполненных исследований позволяют осуществить индивидуальный выбор наиболее оптимального режима лечебно-реабилитационных мероприятий у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой.

Показано, что использование разработанного подхода позволяет повысить клиническую эффективность лечения этих контингентов больных.

Экономическая значимость полученных результатов

При использовании разработанных методов диагностики аллергического воспаления верхних дыхательных путей и бронхиальной астмы уменьшаются

сроки анализа и, следовательно, постановки диагноза. Вместо многочисленных анализов предлагаются в качестве маркеров определение ПА в субстратах получаемых атравматично (КВВ и эндоназальный смыв), что особенно важно в педиатрической практике. Анализ ПА не требует дорогостоящей аппаратуры, позволяет снизить затраты на реактивы и расходные материалы.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой изменены физико-химические характеристики эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха. Очевидно, что эти изменения, наличие которых также выявляется при экспериментальном моделировании банального и аллергического воспаления, являются проявлениями процессов, происходящих на молекулярном и клеточном уровне в слизистой оболочке верхних дыхательных путей при рассматриваемых патологиях, лежащих в основе патогенеза этих нозологий.

2. У часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой выявляются как общие, так и локальные проявления нарушений функции иммунной системы, проявляющиеся сдвигами баланса субпопуляций лимфоцитов, изменениями уровней иммуноглобулинов и цитокинов в периферической крови, повышением уровней нейтрофилов и эозинофилов в слизистой оболочке верхних дыхательных путей и увеличением колонизации носоглотки патогенной микрофлорой.

3. Важнейшим механизмом и необходимым условием комплекса лечебно-профилактических мероприятий, проводимых детям с частыми инфекционными заболеваниями и больным бронхиальной астмой, является оптимизация баланса проокислительных и антиоксидантных систем организма.

4. Ранняя диагностика нарушений функции иммунной системы и оксидантного статуса организма ЧБД и детей с БА и повышение эффективности их лечения требует совершенствования подходов с учетом современных пред-

ставлений о молекулярно-клеточных основах патологии верхних дыхательных путей.

Личный вклад соискателя

Соискателем лично поставлены эксперименты, проведен сбор и анализ клинических данных, результатов лабораторных исследований. Биофизические и биохимические исследования конденсата выдыхаемого воздуха и эндоназальных смывов по оригинальным методикам проведены самостоятельно. Данные комплексных исследований самостоятельно обработаны статистически, подготовлен иллюстративный материал, дана интерпретация полученным результатам, подготовлены публикации.

Внедрения полученных результатов

Результаты научных исследований внедрены в практику преподавания кафедры морфологических дисциплин международного медицинского факультета Ошского государственного университета по курсу патологической анатомии по разделу «Патология органов дыхания», по курсу патологической физиологии по разделу «Аллергия», на кафедре «Биохимии, патофизиологии и фармакологии» медицинского факультета ОшГУ по разделу «Бронхолитики, муколитики».

Результаты научных исследований внедрены в лечебно-диагностический процесс Кыргызского НИИ курортологии и восстановительного лечения, Ошской межобластной детской клинической больницы, Ошской межобластной клинической больницы, Ошской городской территориальной клинической больницы.

Апробации результатов диссертации

Результаты исследований доложены и обсуждены на: III съезде пульмонологов Кыргызстана, Ош - 2007; III конгрессе Евро-Азиатского респираторного общества, Астана - 2007; Республиканской научно-практической конференции «Деятельность санитарно-эпидемической службы и современные проблемы охраны здоровья населения», Караганда - 2009; 18 научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава КРСУ, Бишкек - 2011; Всероссийской конференции «Профилактическая медицина - 2011», Санкт – Петербург - 2011; Всероссийском съезде морфологов, Самара - 2011; Международном симпозиуме «Актуальные проблемы биофизической медицины», Киев - 2012; I Международной научно-практической онлайн конференция «Липидология – наука 21 века», Казань - 2013; Научно-практической конференции, посвященной 60-летию института горной физиологии, Бишкек - 2014; Научно-практической конференции ОшГУ, посвященной 20-летию медицинского факультета, Ош - 2015; научно-практической конференции «Медицинская физиология и нутрициология – основа здоровья и долголетия» посвященная 80-летию профессора Утепбергенова А.А., Чимкент - 2015; V международной научно-практической конференции «Научные исследования: от теории к практике», Чебоксары – 2015; II Международной научно-практической конференции «Научное и образовательное пространство: перспективы развития», Чебоксары -2016; VIII Международной заочной научно-практической конференции «Медицина: актуальные вопросы и тенденции развития», Краснодар – 2016; II Международной научно-практической конференции «Эпидемиология, патогенез и саногенез заболеваний в измененных эколого-климатических условиях», Ош – 2016.

Публикация результатов

По теме диссертации опубликовано 1 монография и 34 печатных работ, из них 2 в иностранных журналах, 20 печатных работ опубликованы в журналах входящих в перечень системы РИНЦ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 249 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 5 глав результатов собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 30 таблицами и 71 рисунками. Указатель использованной литературы содержит 368 библиографических источника.

ГЛАВА 1. ЛОКАЛЬНЫЕ КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Современные представления о сурфактанте легких и слизистых оболочек

Легкие играют ряд важнейших функций жизнеобеспечения организма. В каждом учебнике по патофизиологии и пульмонологии расписаны газообменная и гемодинамические функции. Но не менее важными являются барьерная, экскреторная, метаболическая и иммунологическая функции легких.

Альвеолярная поверхность составляющая около 100 м^2 , что значительно превышает площадь кожных покровов и других слизистых организма. Объемы вдыхаемого воздуха в сотни раз превышают объемы выпиваемой жидкости и съедаемой еды. Через эту контактную поверхности могло бы попадать невероятное количество микробиологических, химических, аллергических загрязнителей, если бы не существовало защитных механизмов. Это, прежде всего, мукоцеллюлярный аппарат, разница поверхностного натяжения между альвеолами и бронхиолами, альвеолярные макрофаги [Ерохин В.В., Романова Л.К. , 2000].

Через легкие осуществляется значительная часть влаговыделения, и экскреции газорастворимых веществ, например спиртов, эфиров, кетонов [Сыромятникова Н.В. , 1987].

В легких метаболизируется громадное количество органических веществ, сравнимое с метаболической активностью печени. Прежде всего, надо отметить, что здесь происходит основной метаболизм фосфолипидов. Одного лецитина - основного компонента сурфактанта легких, синтезируется и катаболизируется почти 100 г в сутки. Кроме дипалмитилфосфатидилхолина, в состав сурфактанта легких входят еще 6 фосфолипидов с различными жирными кислотами, в том числе омега-3-полиненасыщенных, арахидоновой и других, слу-

жащих источником медиаторов липидной природы [Хасина М.А., 1994]. Фосфолипиды образуют множественные лизоформы, также являющиеся биологически активными. Наконец сурфактант легких играет важную антирадикальную и антиоксидантную роль. Клиническим подтверждением этого является успешное восстановительное лечение легочных больных реабилитационными комплексами включавшими антиоксиданты.

При этом легкие являются не столько органом-мишенью иммунной системы, сколько его составной частью. В слизистой бронхов имеются так называемые MALT-структуры (аббревиатура от англ. mucosa-associated lymphoid tissue) [Целуйко С.С., 2012].

Важно отметить, что легкие обладают автономной регуляцией всех этих процессов на уровне ацинуса, структурной единицей включающей бронхиолу, с ее слизистыми и мышечными клетками, артериолу и венулу, а также респираторную и межуточную ткань. Наглядным примером местной саморегуляции является сурфактантная система легких (ССЛ), включающая клеточный компонент: альвеолоциты I и II типа, альвеолярные макрофаги, а также внеклеточный компонент: альвеолярный сурфактант и гипофазу [Guillot L., 2013].

Ряд заболеваний легких, прежде всего синдром респираторных расстройств взрослых имеет в основе своего развития нарушение местной регуляции в легочной ткани [Parra E., Pérez-Gil J., 2015].

Как показали исследования последних лет в основе развития и прогрессирования бронхиальной астмы (БА) также лежат местные нарушения в слизистой бронхах и альвеолярной ткани. Для этого заболевания характерны воспалительные, структурные и функциональные изменения, ведущие к развитию гиперреактивности бронхов [Дугарова И.Д., 2012; Коненков В.И., 2014].

Однако в последнее время появляется все новые маркеры специфичные для БА, которые можно получить при лабораторном исследовании биологических образцов: жидкости, получаемой при бронхоальвеолярном лаваже или промывании носа, крови, проб ткани легкого, конденсировании выдыхаемого воздуха [А.Г. Чучалин и др., 2014; J.M. Leung 2013; N. Louhelainen 2014].

Кроме того появилось много экспериментальных работ, выполненных на модели аллергического воспаления у мышей, а также трансгенных лабораторных животных с дефектами сурфактантной или иммунной системы [Stahlman M.T., et al., 2000; Melton K.R. et al. 2003; G.R. Zosky, P.D.Sly, 2007; С. Winkler, 2014; N. O. Al-Harbi, 2015], которые требуют сопоставления с имеющимися ранее воззрениями.

Бронхиальная астма развивается как следствие взаимодействия различных патологических механизмов между собой, и ее патогенез включает множество факторов [И.И. Балаболкин и др., 2003; Ю.С. Ландышев, 2006]. БА является комплексным гетерогенным заболеванием, для которого характерна вариабельность патологических и клинических форм, в зависимости от особенностей течения воспалительного процесса дыхательных путей в каждом отдельном случае [Р. И.Плешко, 2010].

Сурфактант легких, как мы отметили выше, является барьером на пути проникновения в легкие микробов и других поллютантов. Сурфактант является липопротеидом. Имеется 4 вида сурфактантных протеидов СП-А, СП-В, СП-С и СП-Д [Т. А. Синюкова, Л. В. Коваленко, 2011; S.Hawgood, F.R. Poulain, 2001]. Два из них гидрофобные (СП-В и СП-С) и два гидрофильные (СП-А и СП-Д). Функции СП-А включают в себя формирование трубчатого миеллина, ускорение адсорбции сурфактанта к поверхности раздела фаз воздух/жидкость, этот белок увеличивает поглощение фосфолипидов пневмоцитами II типа для рециркуляции сурфактанта, регулируют через клетки Клара процессы реутилизации альвеолярного сурфактанта [А.Насзку, 2008]. Кроме того защищает сурфактант от ингибирования его белками плазмы. Из-за своих эффектов на секрецию, адсорбцию, и поглощение фосфолипидов, СП - А считается важным звеном регуляции гомеостаза сурфактанта. Кроме того СП-А и СП-Д выполняют иммуномодулирующие функции, стимулируя или тормозя фагоцитарную активность альвеолярных макрофагов и лимфоцитов в отношении бактерий, вирусов, грибков, органических и минеральных поллютантов, действуя как опсоины [Wang JY. 2007]. Среди регуляторных функций SP-A –

его способность стимулировать хемотаксис макрофагов, влиять на пролиферацию клеток иммунного ответа и на продукцию провоспалительных цитокинов, повышать продукцию реактивных оксидантов, регулировать продукцию оксида азота, повышать фагоцитоз клеток, подвергшихся апоптозу, и стимулировать фагоцитоз. Кроме описанных выше функций, СП-А опосредует механизмы аллергических реакций в лёгких, участвуя в удалении аллергена, ингибировании связывания IgE и аллергена и освобождения гистамина, супрессии и активации сенсibilизированных базофилов, тучных клеток или эозинофилов, супрессии пролиферации В- и Т-клеток, и модуляции иммунного ответа дендритными клетками и макрофагами. В модели на мышах выявлено, что внутриносовое введение SP-A снижает эозинофилию в случае аллергического бронхолёгочного аспергиллёза [J.Ren, 2013].

СП-D - важный компонент антитело независимой иммунной системы легких, которая играет защитную роль против инфекции легких, аллергии, астмы и воспаления [A.M. LeVine, 2001, P. Emmanouil, 2015]. В экспериментах на мышах показано, что СП-D может защитить от аллергической реакции с помощью целого ряда механизмов, включая ингибирование аллерген-IgE взаимодействия, выброса гистамина из сенсibilизированных тучных клеток, понижающей регуляции специфического IgE производства, подавление эозинофилии в легких и слизистых, ингибирование механизмов, вызывающих индукцию апоптоза сенсibilизированных эозинофилов. СП-D может также сместить ответ Т-хелперов от патогенных Th2 к Th1 с выработкой защитных цитокинов. Интересно, что мышей с дефицитным СП-D геном появляется фенотип со сверхэкспрессией интерлейкина IL-13, который играет существенную патогенетическую роль в развитии астмы. У трансгенных мышей со сверхэкспрессирующим IL-13 в легких развиваются несколько характерных для астмы морфологических изменений, таких как легочная эозинофилия, гиперплазии эпителия бронхов с явлениями метаплазии и обструкции дыхательных путей, появление кристаллов Шарко-Лейдена. При этом возникает гиперреактивность бронхов на холинергическую стимуляцию [AS.Qaseem, 2013].

Аллергические реакции в легких вызывают повышение синтеза СП-D, который предотвращает дальнейшую активацию сенсibilизированных Т-клеток. Эта отрицательная обратная связь представляется очень важной в защите дыхательных путей от воспалительного повреждения после ингаляции аллергена [J.Y.Wang, 2007].

СП-С и СП-В стимулируют преимущественно биофизические свойства сурфактанта, обеспечивая формирование пространственной структуры альвеолярного сурфактанта из его незрелой формы [Т. А. Синюкова, Л. В. Коваленко, 2011; S.Hawgood, F.R.Poulain, 2001]. Выявлены наследуемые формы синдрома дыхательных расстройств новорожденных, связанные не с дефицитом ФЛ, а с отсутствием СП-В, обеспечивающего расправление тубулярных структур сурфактанта в мономолекулярную поверхностную пленку. Болезнь довольно редкая, в основе которой является мутация гена, наследуется она по аутосомно - рецессивному принципу. Описана эпидемиология наследуемых форм синдрома дыхательных расстройств [F.S.Cole, 2000; Cameron H.C. et al., 2005]. Есть работы, показывающие связь дефицита белков сурфактанта СП-В, СП-А, возникающим в перинатальный период, с последующим развитием дисплазии легких и бронхолегочных заболеваний [Brasch F. et al., 2004; Nogee L.M., 2004; Hamvas A.etal.. 2004; C.Delestrain, 2013].

Количество научных работ посвященных роли белков сурфатанта в патологии неуклонно возрастает. Определение СП в ЖБАЛ и плазме крови в ближайшее время станет важным критерием дифференциального диагноза нозологических форм и активности бронхолегочных заболеваний.

Оценка состояния ССЛ при бронхиальной астме не проста. Ученые Кыргызстана внесли значительный научный вклад в изучение роли ССЛ в патогенезе и саногенезе БА и хронических бронхитов. Г.В. Белов и Н.Н. Бримкулов (1986, 1988), внедрили в широкую практику определение поверхностной активности жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) и конденсата выдыхаемого воздуха при бронхолегочных заболеваниях. Ими усовершенствована аппаратура и методика определения ПА при помощи монослоев с изопропиловым

спиртом, позволяющая проводить десятки анализов в день в стационарных и экспедиционных условиях [Г.В. Белов, Н.Н. Бримкулов, 1991,1993]. Предложен метод определения эвакуаторной функции сурфактанта и показано её снижение при бронхиальной астме [Г.В. Белов и др., 1993; N. Brimkulov, G. Belov, 1995]. Показана зависимость выраженности снижения ПА сурфактанта от степени активности воспаления, определяемого бронхоскопически и по изменениям цитологии ЖБАЛ, показана достоверная корреляционная связь снижения индекса стабильности сурфактанта в ЖБАЛ и ростом числа нейтрофильных лейкоцитов и эозинофилов, а также снижением жизнеспособности альвеолярных макрофагов [Миррахимов М.М. и др., 1987; Н. Н. Бримкулов и др., 1993]. Сдвиги ССЛ сопоставлены с электронно-микроскопическими признаками обострения и ремиссии БА, в частности с числом и электронной плотностью тучных клеток в подслизистой долевых бронхов [Н. Н. Бримкулов и др., 1991]. Описана динамика изменений ПА КВВ при высокогорной климатотерапии бронхиальной астмы на перевале Тоо-Ашу, к концу курса лечения, индекс стабильности КВВ достоверно возрастает по сравнению с исходным уровнем [Н. Н. Бримкулов, Г.В. Белов, 1989]. Определение ПА КВВ использовано для оценки эффективности лечения БА при различных схемах сочетанного применения климатотерапии и лекарственных средств, в частности стимулятора синтеза и секреции сурфактанта – амброксола (ласольвана, мукосольвана), а также ингаляционных стероидов. Этому была посвящена докторская диссертация Н.Н. Бримкулова [1993], и кандидатская Н.Э. Давлеталиевой [1994]. Наряду с определением ПА сурфактанта, в этих работах исследованы биохимические сдвиги фосфолипидного состава ССЛ и состояния ПОЛ в ЖБАЛ и КВВ, показана активация процессов ПОЛ в этих субстратах при БА. Результаты ученых Кыргызстана совпадают с данными других авторов, исследовавшими биохимический состав ЖБАЛ при БА [Лисица А.В. и др.,2007; Ларюшкина Р.М. и др., 2010].

Изучение изменений сурфактанта легких были продолжены сотрудниками Кыргызского НИИ курортологии и восстановительного лечения привысоко-

горной спелеотерапии БА в спелеолечебнице Чон-Туз [Тойчиева Ф.М. и др., 1996]. Очень интересные данные о динамике изменений ПА КВВ у больных БА при метеопатической реакции на вторжение ветра, и отличие ее от таковой у больных ХОБЛ [Поважной Е.Л. и др., 2004]. Также изменения ПА КВВ отмечены при метеопатической реакции у детей больных БА [Поважной Е.Л. и др., 1996]. Сдвиги ПА сурфактанта легких имели сильные и умеренные корреляционные связи с изменениями показателей ФВД.

Бронхиальная астма развивается постепенно, часто с детского возраста. Ее развитию могут предшествовать часто повторяющиеся воспалительные заболевания верхних дыхательных путей, слизистых носа, носоглотки и придаточных полостей, различные аллергозы [Noutsios G.T., Floros J., 2014]. Высокий риск заболеть бронхиальной астмой имеется у «часто болеющих детей», под этим термином подразумеваются дети каждый год, болевающие по несколько раз острыми респираторными инфекциями, заболеваниями ЛОР-органов [Казюкова Т.В., 2012].

Следует отметить, что дефекты ССЛ и конкретно СП выявлены у часто болеющих детей, которые потом переходят в контингент астматиков, если им не проводится комплексная реабилитация. Ниязбекова Э.А. и др., 2007, отмечали снижение поверхностной активности сурфактанта легких в конденсате выдыхаемого воздуха у детей, часто болеющих острыми респираторными заболеваниями, по сравнению со здоровыми школьниками. Выявлено стимулирующее влияние ультрафиолетового облучения рефлекторно-сегментарных зон на синтез сурфактанта легких у ЧБД, что характеризовалось достоверным повышением поверхностной активности конденсата выдыхаемого воздуха. Выявлена связь полиморфизма СП-А у новорожденных с последующим развитием воспаления среднего уха и риском развития БА [Pettigrew M.M. et al., 2006]. Ряд авторов отмечали снижение сурфактанта в назофарингиальных смывах у больных отитом [Qiu L. et al., 1999]. Показана роль ослабления поверхностной активности сурфактанта в хронизации синуситов [Schlosser R.J., 2006]. При хронических синуситах выявлены нарушения содержания СП-А [Lee H.M. et al., 2006].

Предложено объединить перечисленные локальные заболевания слизистых и бронхиальную астму как заболевания, имеющие общий патогенез – недостаточность иммуномодулирующих белков сурфактанта [Winkler С., Hohlfeld J.M., 2013]. Современные авторы, рассматривая заболевания легких связанных с эозинофилами (Eosinophil-associated lung diseases), подчеркивают патогенетическую роль СП-А и СП-Д [Ledford J.G. et al. 48]. В этих условиях, СП-А и СП-Д модулируют эозинофильный хемотаксис, ингибируют высвобождение медиаторов эозинофилов, макрофагов и способствуют выведению апоптотических эозинофилов. Нарушение регуляторной функции СП-А и СП-Д способствует эозинофилии слизистых дыхательных путей. Снижение в сыворотке крови уровней СП-А и СП-Д является показателем тяжести заболевания аллергического ринита и хронической обструктивной болезни легких. Кроме того, нарушения СП-А / -D могут сопровождаться появлением активных форм азота, которые как было отмечено выше являются маркерами БА.

Все чаще бронхиальную астму относят к болезням характеризующимся нарушениями гомеостаза сурфактанта [Hohlfeld J.M., 2002; Whitsett J.A. et al., 2015]. Важное значение нарушений сурфактанта легких в развитии и прогрессировании БА доказывается успешным применением препаратов сурфактанта для патогенетического лечения бронхиальной астмы и других аллергических заболеваний легких и дыхательных путей [Розенберг О.А., 2014; Erpenbeck V.J., 2009].

1.2 Патологические процессы в верхних дыхательных путях – общие представления об этиологии и патогенезе

В организме больного с заболеваниями верхних дыхательных путей в результате патологического процесса развиваются изменения на клеточном и молекулярном уровне, которые в норме практически отсутствуют [Мамонтова Т.В., Кайдашев Т.В., 2005; Semic-Jusufagic A. et al., 2014]. Такие изменения могут быть оценены с помощью лабораторного исследования биологических

образцов: жидкости, получаемой при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) или промывании носа, крови, проб ткани легкого и пр. Для определения специфических диагностических маркеров необходимо выявить ключевые звенья молекулярных механизмов, которые активируются непосредственно после сенсibilизации организма.

Признаки обострения аллергической бронхиальной астмы (эозинофильная инфильтрация, разрастание соединительной ткани, повышенная секреция и нарушение эвакуации слизи), являются неспецифическими и часто встречаются при другой патологии легких, например, при не аллергической астме или хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [Sanchez-Vidaurre S. et al., 2013; Zhao Y. et al., 2014].

В настоящее время общепризнанным является неблагоприятное влияние токсических факторов окружающей среды на иммунную систему человека. Установлено также и влияние такого рода факторов на биологические свойства бактерий микробиоты, являющейся основополагающим компонентом системы защиты макроорганизма [Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В., 2007; Карташова О.Л. и др., 2002]. Развивающиеся при этом негативные изменения состояния эубиоза и нарушения иммунного статуса приводят к сдвигам в эндоэкологии макроорганизма, являясь базисом для формирования целого ряда донозологических изменений, которые со временем могут трансформироваться в клинически выраженную патологию.

Исследования последних лет свидетельствуют и об актуальности изучения влияния на верхние дыхательные пути человека частиц дизельных выхлопов (ЧДВ), выделяющихся при сгорании дизельного топлива и составляющих значительную долю всех твердых частиц (ТЧ), загрязняющих воздух в городских районах. Известно, что ЧДВ состоят из углеродистого ядра, способного адсорбировать на своей поверхности органические и неорганические соединения, такие как полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) и их нитро- и кислородсодержащие производные, гетероциклические соединения, альдегиды, алифатические углеводороды и тяжелые металлы. Человек может под-

вергаться воздействию концентраций ЧДВ около 0,9 мг в определенных условиях, таких, как автобусные депо, гаражи и туннели [Cheng W.Y. et al., 2012]. С учетом того, что в перицилиарном слое объемом 50-500 мкл осаждаются 5% воздушных примесей, концентрация ЧДВ в этой зоне может составлять от 90 до 900 мкг/мл.

В эпидемиологических и экспериментальных исследованиях было показано, что вдыхание ЧДВ ассоциировано с повышенной восприимчивостью к респираторным инфекциям и увеличением частоты заболеваний дыхательной системы, включая пневмонию, рак легких, обострение бронхиальной астмы и хронических обструктивных болезней легких [Gowdy K. et al., 2008; Saxon A., Diaz-Sanchez D., 2005; Mc Creanor J. et al., 2007; Ris C., 2007]. Тем не менее, в литературе недостаточно подробно освещены механизмы, лежащие в основе заболеваний легких, индуцированных ЧДВ.

В основе патогенеза многих респираторных заболеваний лежит воспалительная реакция, индуцируемая медиаторами, которые выделяются клетками дыхательных путей и воспалительного инфильтрата [Raphael G.D., Metcalfe D.D., 1986]. Эпителий дыхательных путей представляет собой барьер между внешней средой и тканями организма [Crystal R.G. et al., 2008]. Поэтому продукция провоспалительных медиаторов клетками эпителия играет важнейшую роль в патогенезе легочных заболеваний [Holgate S.T., 2008].

Одним из важнейших показателей состояния механизмов локальной защиты верхних дыхательных путей (ВДП) является их колонизационная резистентность, которая зависит от характеристик нормофлоры биотопа, и состояния ряда факторов неспецифической резистентности организма, например, активности лизоцима, концентрации секреторного иммуноглобулина А.

Ключевым звеном патологического процесса при развитии этих заболеваний является хроническое воспаление, которое нередко связано со структурными изменениями в стенке дыхательных путей, которые объединяются термином «ремоделирование» [Holt P.G., Sly D., 2011; Klingbeil E.C. et al., 2014].

В настоящее время ряд исследователей склоняется к гипотезе, в соответствии с которой у больных с бронхиальной астмой в дистальных отделах дыхательной системы также имеет место привлечение воспалительных клеточных элементов, в частности эозинофилов и Т-лимфоцитов, в ткани бронхов [Minshall E.M. et al., 1998] и паренхиму легких [Kraft M. et al., 1996]. Кроме того, у пациентов с бронхиальной астмой наблюдается избыток хемокинов и цитокинов Т-хелперов 2 типа в дистальных отделах легких [Minshall E.M. et al., 1998; Taha R.A. et al., 1999], что представляет собой крайне важный феномен, поскольку общий объем и общая площадь поверхности дистальных отделов дыхательной системы значительно превышают общий объем и общую площадь поверхности крупных дыхательных путей [Weibel E.R., 1963]. Очевидно, эти данные позволяют предположить, что любые патологические изменения, развивающиеся на периферии бронхиального дерева и легочной паренхимы у пациентов с бронхиальной астмой, имеют критическое значение для патофизиологии и лечения заболевания.

1.3 Современные представления о патогенезе бронхиальной астмы

Бронхиальная астма представляет собой хроническое воспалительное заболевание дыхательной системы, которое характеризуется наличием эпизодов обструкции дыхательных путей и повышенной реактивностью бронхиального дерева. Главными патогенетическими и структурными особенностями бронхиальной астмы являются потеря бронхиального эпителия, увеличение массы гладкой мускулатуры бронхов (вследствие гипертрофии, гиперплазии или миграции гладкомышечных клеток), гиперплазия железистых клеток, субэпителиальный фиброз и инфильтрация бронхиальной стенки воспалительными клеточными элементами [Dunnill M.S., 1960].

Бронхиальная астма (БА) развивается как следствие взаимодействия раз-

личных патологических механизмов между собой, и ее патогенез включает множество факторов [Караулов А.В., 1999]. БА является комплексным гетерогенным заболеванием, для которого характерна вариабельность патологических и клинических форм, в зависимости от особенностей течения воспалительного процесса дыхательных путей в каждом отдельном случае [Гусев Е.Ю. и др., 2007]. Бронхиальная астма представляет собой хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, в основе которого лежит расстройство механизмов иммунного ответа. Для этого заболевания характерны воспалительные, структурные и функциональные изменения, ведущие к развитию гиперреактивности, при этом в большинстве случаев изменения при бронхиальной астме являются обратимыми [Чучалин А.Г., 2011; Anderson G.P., 2008; Holgate S.T. et al., 2010].

Ключевым звеном патогенеза БА является обратимая обструкция дыхательных путей, обусловленная хроническим воспалением и гиперреактивностью, которые возникают в результате контакта с провоцирующим агентом [Aoki H. et al., 2013; Hambly N., Nair P., 2014; Magrone T. et al., 2014]. Как известно, в развитии воспаления участвуют различные клетки иммунной системы: Т- и В-лимфоциты, тучные клетки, эозинофилы, базофилы, нейтрофилы и дендритные клетки – вместе со структурными клетками дыхательных путей, как эпителиальными, так и мезенхимальными [Хаитов Р.М. и др., 2000; Хаитов Р.М., 2002; He X. et al., 2014; Meyer N. et al., 2014]. Изменения, развивающиеся в организме больного БА, обусловлены локальной аккумуляцией клеток воспаления, в первую очередь эозинофилов, а также гиперплазией бокаловидных клеток с преобладанием фенотипа, продуцирующего вязкий секрет [Li Y., Hua S., 2014; Spann K.M. et al., 2014].

Многие специалисты сходятся во мнении, что триггером бронхиальной астмы является иммунновоспалительный ответ, опосредованный Т-хелперными лимфоцитами второго типа (Th2). Th2-опосредованная форма БА является результатом сложных взаимодействий между врожденным и приобретенным компонентами иммунитета [Murdoch J.R., Lloyd C.M., 2010; Hammad H. et al.,

2009].

К воздушным аллергенам, вызывающим БА, относятся пыльца растений, домашняя пыль, шерсть животных. Они зачастую обладают протеолитическими свойствами, а также содержат в следовых количествах бактериальные компоненты, например, липополисахарид (ЛПС) [Lloyd C.M., 2009; Woodruff P.G. et al., 2009]. Проникая в эпителий дыхательных путей, воздушные поллютанты могут активировать Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors – TLR), которые участвуют в распознавании антигенов в рамках реакций врожденного иммунитета [Gascon M. et al., 2014; Li J.J. et al., 2013].

Активация TLR индуцирует секрецию ряда цитокинов, например, тимусного стромального лимфопоэтина (tymic stromal lymphopoetin – TSLP), интерлейкин-25 (ИЛ-25) и -33 (ИЛ-33), которые способны вызывать Th2-опосредованный ответ (приобретенный иммунитет). Стимуляция TLR влечет за собой секрецию эпителием CC хемокиновых лигандов 2 и 20 (CC chemokine ligand 2 – CCL2 и CC chemokine ligand 20 – CCL20), которые способствуют вовлечению в процесс дендритных клеток и их созреванию [Кетлинский С.А. и др., 2008; Pelaia G. et al., 2005; Sathish V. et al., 2014]. Последние направляют в просвет дыхательных путей свои интраэпителиальные отростки и захватывают ими воздушные поллютанты. Этот процесс стимулируется иммуноглобулином E (IgE) через высокоаффинные рецепторы (FcεRI), расположенные на поверхности дендритной клетки [Khandaker G.M. et al., 2014; Motomura Y. et al., 2014].

Взаимодействие IgE с FcεRI-рецепторами, которые экспрессируются дендритными клетками, способствуя транспорту антигена в цитоплазму [Kitamura K. et al., 2007], где происходит их процессинг под воздействием катепсина S, в результате чего появляются пептидные фрагменты аллергена, которые затем в связи с HLA главного комплекса гистосовместимости II (major histocompatibility complex – MHC class II) экспрессируются на поверхности дендритной клетки, которая мигрирует в T-зону местных грудных лимфатических узлов, где происходит представление антигена T-клеткам [Hawkshaw C. et al., 2014].

Специфическое узнавание антигенных фрагментов рецепторами Т-клеток запускает реакцию сенсибилизации с последующим иммунным ответом. Антиген-опосредованная активация нативных Т-лимфоцитов требует взаимодействия их костимуляторных молекул (CD28, ICOS, и OX40) с соответствующими молекулами, экспрессируемыми дендритными клетками (CD80/B7.1, CD86/B7.2, ICOS-лиганд и OX40-лиганд) [Kallinich T. et al., 2007].

Хроническое воспаление при БА зачастую ассоциировано с динамическими структурными изменениями, которые затрагивают все слои стенки дыхательных путей и распространяются от крупных проксимальных до более мелких дистальных бронхов. Ремоделирование, наблюдающееся как при атопической, так и при неатопической форме заболевания [Turato G. et al., 2008], включает: сдувание эпителия, гиперплазию слизистых желез и бокаловидных клеток, отложение белков внеклеточного матрикса, ведущее к субэпителиальному фиброзу, разрастание сосудов и гипертрофию/гиперплазию гладкомышечных клеток с повышенной способностью к пролиферации, секреции и констрикции [Bergeron C. et al., 2009].

В настоящее время установлено, что тип дифференцировки Т-лимфоцитов, опосредованной представлением антигена дифференцировки Т-лимфоцитов, в значительной степени зависит от цитокинового профиля. В частности, ИЛ-12, продуцируемый дендритными клетками, стимулирует созревание Т-клеток в Th1, в то время как ИЛ-4, вероятно секретируемый тучными клетками, базофилами, эозинофилами и Т-клетками, – в Th2 [Kaiko G.E. et al., 2008]. В то же время, у пациентов, страдающих бронхиальной астмой, TSPL секретируется в значительных количествах клетками бронхиального эпителия и тучными клетками, что приводит к выбросу дендроцитами CCL17 и CCL22, которые стимулируют Th2 связываясь с их CCR4-рецептором [Lajoie S. et al., 2014; Liu Y.J., 2006]. После этого активированные Th2 покидают лимфоузлы и направляются в дыхательные пути, где продолжают депозицию аллергенов и представление антигена местными дендритными клетками. Вследствие этого Th2 клетка, экспрессирующая CCR4-рецептор, продуцирует большие количе-

ства хемокинов, синтез которых запрограммирован в кластере большого плеча пятой хромосомы (ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-13) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) [Huang F.Y. et al., 2014].

Вышеперечисленные цитокины и факторы роста стимулируют созревание и включение в патологический процесс других клеток иммунной системы, участвующих в аллергическом каскаде, например, эозинофилов и тучных клеток [Larchre M. et al., 2003; Staab E.V. et al., 2014]. В частности, дифференцировка эозинофилов в костном мозге стимулируется ИЛ-5, эффект которого суммируется с хемокинами, активирующими эозинофилы (например, эотаксин), которые выделяются как клетками воспаления, так и клетками, в норме присутствующими в дыхательных путях [Alevizos M. et al., 2013; Fulkerson P.C., Rothenberg M.E., 2013].

Основными клетками, участвующими в развитии эозинофильной формы воспалительного ответа (эозинофильная астма), являются Th2. Другие подтипы Т-лимфоцитов вызывают нейтрофильное воспаление дыхательных путей, которое, как правило, связано с самыми тяжелыми клиническими формами заболевания. В частности, специфическая линия CD4⁺ эффекторных Т-лимфоцитов, экспрессирующих ИЛ-17, (Th17) вероятно играет решающую роль в нейтрофильном воспалении дыхательных путей [Aujla S.J., Alcorn J.A., 2011; Cosmi L. et al., 2011]. Это подтверждает тот факт, что в препаратах легочной ткани больных БА наблюдаются признаки чрезмерной экспрессии ИЛ-17А и ИЛ-17F, уровни которых коррелируют с тяжестью течения заболевания, особенно у пациентов с нейтрофильной стероидорезистентной формой [Al-Ramli W. et al., 2009; Ma C.H. et al., 2014].

ИЛ-17А и/или ИЛ 17F стимулируют клеточные структурные элементы дыхательных путей (эпителий бронхов и субэпителиальные фибробласты) к секреции мощных хемоаттрактантов для нейтрофилов: ИЛ-8 и CXCL1/GRO- α [Al-Ramli W. et al., 2009; Durrant D.M., Metzger D.W., 2010].

Th17 могут участвовать в патогенезе аллергической астмы, отягощая ее течение [Zhao Y. et al., 2010]. Таким образом, есть основания предполагать, что преимущественно Th2 - опосредованное эозинофильное воспаление дыхательных путей обуславливает, вероятно, легкое и умеренное течение atopической астмы, в то время как одновременная активация Th2 и Th17 чаще всего ассоциированы с более тяжелым течением заболевания.

Другой цитокин, участвующий в патогенезе тяжелых форм нейтрофильной астмы – фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α), который продуцируется CD4⁺ Т-лимфоцитами, моноцитами и/или макрофагами, а также рядом других клеток, и оказывает плеiotропное действие на воспалительные и структурные клетки дыхательных путей [Amrani Y. et al., 1996; Lukacs N.M. et al., 1995].

Сочетание эозинофильной и нейтрофильной инфильтрации тканей дыхательных путей может способствовать развитию тяжелых обострений БА, которые характерны для персистирующей формы заболевания. Обострения могут быть спровоцированы контактом с аллергеном и, в особенности, с респираторной вирусной инфекцией, патогенность которой для дыхательных путей обусловлена снижением секреции противовирусных цитокинов, в частности, интерферона- β (ИФН- β) и интерферона- γ (ИФН- γ) [Contoli M. et al., 2006; Dougherty R.H., Fahy J., 2009].

Внешние раздражители, например, контакт с аллергеном, табачный дым, выхлопные газы, а также диета с высоким содержанием фолиевой кислоты, вызывают метилирование и, соответственно, инактивацию генов интерферона- γ (ИФН- γ), FoxP3, ИЛ-2, индуцируемой NO-синтазы и повышают уровень транскрипции генов ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ацилкофермента А (ацил-КоА) за счет гипометилирования, что, в свою очередь, индуцирует Th2-опосредованный ответ [Durham A. et al., 2011; Li Y. et al., 2014].

Ключевую роль в иницировании развития БА играют и сигнальные пути адипоцитов. В их реализации участвуют ACSL₃ (КоА-лигаза длинноцепочечных жирных кислот), ИЛ-13, ИЛ-9, ИЛ-4, ИЛ-2, ИЛ-10, ИФН- α 1, SOCS-1 (супрессор цитокинового сигналинга-1), PON1 (парооксоназа-1), аполипопро-

теин-В, SOCS3 (супрессор цитокинового сигналинга-3), SCD (стеароил-КоА десатураза) и NR1D1, которые также ассоциированы с развитием заболевания [Diego D. et al., 2012; Tilg H., Moschen A.R., 2006].

1.4 Цитологические механизмы ремоделирования дыхательных путей

Главным с клинической точки зрения последствием ремоделирования дыхательных путей является утолщение стенок бронхов и бронхиол, что приводит к уменьшению их просвета и снижению проходимости, степень выраженности которых коррелируют с нарушениями дыхательной функции. На сегодняшний день существует представление, что ремоделирование происходит из-за ряда сложных взаимодействий между эпителием бронхов и подлежащим слоем мезенхимы, что обозначают как механизм активации EMTU (developmental epithelial-mesenchymal trophic unit), ответственный за развитие легких во внутриутробном периоде [Holgate S.T. et al., 2004]. В рамках EMTU ключевую роль играет TGF- β [Hackett T.L. et al., 2009], фиброгенный фактор роста, уровень которого возрастает в дыхательных путях при БА за счет более активной его секреции клетками воспаления, а также поврежденными клетками эпителия и активированными мезенхимальными клетками.

Другими факторами роста, участвующими в процессе ремоделирования при бронхиальной астме, являются: эндотелин-1 (ET-1), эпидермальный фактор роста (EGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [D'Agostino B. et al., 1999; 2001; Gallelli L. et al., 2005; Pelaia G. et al., 2007; Rossi F. et al., 2000].

Предположение о том, что дистальные отделы дыхательных путей и паренхима легких также могут играть роль в патогенезе бронхиальной астмы, было сделано в ходе экспериментов по изучению физиологических процессов в легких [Levine G. et al., 1970; Despas P.J. et al., 1972]. Со временем был разработан ряд новых технологий, позволивших более полно оценить роль дистальных отделов бронхиального дерева в патогенезе данного заболевания. По результа-

там данных исследований было установлено, что преимущественной локализацией бронхообструкции у большинства больных с астмой являются именно мелкие дыхательные пути [Yanai M. et al., 1992; Ohruï T. et al., 1992; Kuwano K. et al., 1993; Wagner E.M. et al., 1998].

Внедрение в медицинскую практику оптоволоконных технологий и введение в применение оптоволоконной бронхоскопии дало возможность исследователям выполнять процедуры эндобронхиальной и трансbronхиальной биопсии тканей мелких и крупных бронхов у больных с БА.

Результаты исследования последних лет, направленных на применение молекулярных методов в гистологии, в том числе с применением методов иммуногистохимии и гибридизации *insitu*, используемых при исследовании биоптатов, полученных из бронхов, и жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже, усовершенствование техники выполнения биопсии позволили достичь значительного прогресса в понимании патогенеза бронхиальной астмы [Djukanovic R. et al., 1991; Bentley A.M. et al., 1993]. Показано, что у пациентов с бронхиальной астмой сходные, однако более выраженные воспалительные явления и структурные изменения также развиваются в дистальных отделах дыхательной системы, распространяясь на паренхиму легких [Faul J.L. et al., 1997; Synek M. et al., 1996].

Как было указано выше, течение бронхиальной астмы сопровождается инфильтрацией центральных отделов дыхательных путей воспалительными клеточными элементами и поддерживается цитокинами Т-хелперов 2 типа, в частности ИЛ-5, ИЛ-4, ИЛ-9 и ИЛ-13. Установлено, что в патогенез БА вовлечено все бронхиальное дерево, а не только его центральные отделы, как полагали в начале [Haley K.J. et al., 1998].

Carroll N. et al. (1997) изучили распределение воспалительных клеточных элементов в различных участках бронхиального дерева как у больных, умерших от приступа БА, так и у пациентов с астмой, а также у тех, кто скончался от других причин. Было установлено, что в тканях как крупных, так и мелких дыхательных путей количество лимфоцитов и эозинофилов повышено, однако эти

клетки распределены равномерно во всех участках бронхиального дерева у пациентов как со среднетяжелой, так и с тяжелой бронхиальной астмой по сравнению с пациентами, не страдающими от данного заболевания.

Аналогичная инфильтрация Т-лимфоцитами, макрофагами и эозинофилами тканей проксимальных и дистальных отделов бронхиального дерева также выявляется в редких случаях, когда приступ БА явился причиной внезапной смерти пациента (смерть в течение одного часа после появления симптомов) [Faul J.L. et al., 1997], а также тех случаях, когда был четко установлен неиммунологический характер астмы (например, вызванная соевой пылью) [Synek M. et al., 1996].

При изучении гистологических препаратов легочной ткани пациентов с бронхиальной астмой и без БА было также установлено, что воспалительный ответ при астме не ограничивается локализацией в проксимальных отделах дыхательных путей [Hamid Q. et al., 1997]. Большое количество активированных эозинофилов было обнаружено в дыхательных путях с внутренним диаметром менее 2 мм по сравнению с дыхательными путями с внутренним диаметром более 2 мм, что позволило предположить развитие в дистальных отделах бронхиального дерева схожего, однако более выраженного воспалительного процесса, чем в проксимальных отделах [Hamid Q.A., 1997]. Показано, что у больных с бронхиальной астмой в периферических участках дыхательных путей регистрируются более высокие уровни клеток, положительных по мРНК ИЛ-5 и ИЛ-4, чем в аналогичных участках дыхательных путей пациентов, не страдающих от бронхиальной астмы [Minshall E.M. et al., 1998].

Haley K.J. et al. (1998) оценили распределение CD45+ клеток в составе субэпителиальных участков бронхиальной стенки и показали, что в дистальных отделах бронхиального дерева больных большая часть CD45+ лейкоцитов и эозинофилов содержится во «внешней» части бронхиальной стенки (под «внешней» частью в данном случае понимается область между гладкомышечным слоем и тканями альвеол), в то время как максимальная плотность эозинофилов в бронхах крупного калибра у пациентов с БА наблюдалась во «внутрен-

ней» части бронхиальной стенки (под «внутренней» частью бронхиальной стенки понимается область между гладкомышечными клетками и базальной мембраной бронхиального эпителия).

Эти различия указывают на вариабельность распределения воспалительных клеточных элементов в стенке бронхиального дерева у больных с бронхиальной астмой, причем эти различия, вероятно, являются характерным проявлением данного заболевания, так как подобные различия не были обнаружены у больных с муковисцидозом [Haley K.J. et al., 1998].

Различное распределение клеток воспаления в участках бронхиальной стенки по ходу трахеобронхиального дерева может быть связано с различиями в механизмах привлечения воспалительных клеточных элементов и/или с различиями в продукции хемокинов и цитокинов в разных областях дыхательных путей. В поддержку этой гипотезы говорит тот факт, что у больных с бронхиальной астмой в эпителиальном слое бронхиальной стенки в периферических отделах дыхательных путей регистрируются повышенные уровни экспрессии эотаксина - потенциального хемоаттрактанта эозинофилов [Taha R.A. et al., 1999]. Предполагается, что гладкомышечные клетки дистальных отделов бронхиального дерева способны непосредственно продуцировать хемокины [Haley K.J. et al., 1998].

Показано, что у пациентов, погибших непосредственно от бронхиальной астмы, воспалительный процесс в дыхательной системе выходит далеко за рамки гладкомышечного слоя бронхиальной стенки, и подобные явления обнаруживаются в непосредственной близости от легочных артериол [Saetta M. et al., 1991]. Так, Kraft M. et al. (1996) продемонстрировали, что для пациентов с ночной астмой характерно наличие более выраженного альвеолярного воспаления по сравнению с больными с астмой любого другого вида. В этом исследовании пациентам дважды выполнялись процедуры эндобронхиальной биопсии проксимальных отделов бронхиальной стенки и трансbronхиальной биопсии альвеолярной ткани дистальных отделов бронхиального дерева с разницей в 12 ч. У пациентов с ночной астмой уровень эозинофилов в легочной паренхиме, рас-

считанный на единицу объема легочной ткани, в 4:00 был выше по сравнению с таковым у остальных больных с бронхиальной астмой. В дополнение к этому, уровень эозинофилов у больных с ночной бронхиальной астмой не только в альвеолярных участках, но и в центральных отделах бронхиального дерева коррелировал с общим снижением дыхательной функции в ночное время суток, а также был связан с повышением количества CD4+ Т-лимфоцитов в альвеолярных тканях пациентов с ночной астмой в отличие от прочих пациентов с бронхиальной астмой [Kraft M., 1999]. Хотя количество CD4+ Т-лимфоцитов в эндобронхиальной lamina propria было выше, чем в альвеолярной ткани, только уровень альвеолярных CD4+ Т-лимфоцитов коррелировал с функцией легких в 4:00 ($r = -0,68$), а также с количеством активированных альвеолярных эозинофилов (EG2+, $r = 0,66$) [Kraft M. et al., 1999]. В той же самой группе пациентов развитие ночной бронхиальной астмы было ассоциировано со снижением связывающей способности глюкокортикоидных рецепторов, со снижением пролиферативной активности мононуклеаров периферической крови, а также со снижением уровня ответа на введение кортикостероидных препаратов по сравнению с прочими больными, страдающими от бронхиальной астмы [Kraft M., 1999]. В этих исследованиях также было показано, что повышение количества CD4+ Т-лимфоцитов в альвеолярной ткани пациентов с ночной астмой, равно как и снижение связывающей способности глюкокортикоидных рецепторов, а также снижение ответа на введение кортикостероидов, может быть обусловливать массивный приток эозинофилов и значительное усиление симптомов у пациентов с ночной бронхиальной астмой.

Одним из гипотетических механизмов, отвечающих за данный феномен, является стимуляция экспрессии рецепторов глюкокортикоидов типа β , которая была обнаружена недавно у пациентов с тяжелой астмой, резистентных к терапии кортикостероидами [Christodoulopoulos P. et al., 2000]. Christodoulopoulos P. et al. (2000) охарактеризовали экспрессию глюкокортикоидных рецепторов типа β в различных участках периферических отделов дыхательных путей у пациентов, скончавшихся от приступа тяжелой бронхиальной астмы. Исследователи

показали, что основным типом клеток, экспрессирующим глюкокортикоидные рецепторы типа β , являются CD3+ Т-лимфоциты, а также, в меньшей степени, эозинофилы, нейтрофилы и макрофаги. Эти данные позволяют предположить, что у пациентов с фатальной БА повышение в дистальных отделах дыхательных путей количества клеток, иммунореактивных по отношению к глюкокортикоидным рецепторам типа β , может быть связано с резистентностью к терапии кортикостероидными препаратами, что потенциально вносит вклад в смертность от бронхиальной астмы.

Проявления воспалительного процесса в дистальных отделах дыхательных путей также обнаруживаются у пациентов с тяжелым симптоматическим течением бронхиальной астмы, резистентным к терапии кортикостероидами [Wenzel S.E. et al., 1997]. С применением методик эндобронхиальной и трансbronхиальной биопсии Wenzel S. et al. (1997) описали персистирующий воспалительный процесс как в проксимальных, так и в дистальных отделах дыхательных путей у таких больных. Хотя уровни эозинофилов у пациентов с тяжелой астмой были сходными с таковыми у здоровых представителей контрольной группы, у больных с тяжелым течением БА выявлялось как абсолютное, так и относительное повышение уровня нейтрофилов в жидкости, полученной с помощью бронхоальвеолярного лаважа, а также в образцах тканей, полученных при эндобронхиальной и трансbronхиальной биопсии, по сравнению с пациентами с легким или среднетяжелым течением заболевания, несмотря на наличие агрессивной терапии кортикостероидными препаратами.

В тех случаях, когда заболевание заканчивалось смертельным приступом, в экссудате, окклюдившем просвет мелких дыхательных путей, воспалительные клеточные элементы содержались в большем количестве, чем в экссудате из крупных бронхов [Kuiper L.M. et al., 2003]. Исходя из этого, была выдвинута гипотеза о том, что плотность распределения воспалительных клеточных элементов в периферических отделах бронхиального дерева у пациентов с тяжелой астмой может быть связана с особенностями обструкции дистальных отделов дыхательных путей при данном заболевании.

Воспалительный процесс в мелких дыхательных путях может вызывать разобщение легочной паренхимы и периферических отделов бронхиального дерева посредством механического взаимодействия между этими двумя компартаментами, которое приводит к изменениям общей механики дыхательной системы у пациентов с бронхиальной астмой. Степень выраженности и характер воспалительного процесса на различных уровнях дыхательных путей могут быть непосредственно сопоставлены с соответствующими характеристиками воспалительного процесса в бронхах с использованием инвазивных техник, таких как эндобронхиальная и трансbronхиальная биопсия [Boulet L.P., 2002].

Установлено, что количество тучных клеток в дистальных отделах бронхиального дерева выше, чем в проксимальных [Andersson C.K. et al., 2011; Balzar S. et al., 2005]. Региональные различия в содержании тучных клеток в дыхательных путях не были обнаружены у здоровых представителей контрольной группы, кроме того, было установлено, что для тучных клеток у больных БА характерен более высокий уровень экспрессии высокоаффинного рецептора Ig E FcεRI, а также более высокий уровень поверхностного Ig E. Авторы этих исследований считают пониженную плотность тучных клеток в крупных дыхательных путях следствием лечения кортикостероидными препаратами [Bentley A.M. et al., 1996; Booth H. et al., 1995].

Pechkovsky D.V. et al. (2010) описали региональную вариабельность фенотипа структурных клеточных единиц в легких. В данном исследовании нормальные первичные фибробласты проксимальных и дистальных отделов дыхательных путей оценивались по ответу на введение ТРФ-β (трансформирующего ростового фактора β). Авторы выявили, что фибробласты дистальных отделов бронхиального дерева характеризуются более высоким базальным уровнем ответа на введение ТРФ-β и обладают более миофибробластоподобным фенотипом с более высоким базальным уровнем экспрессии α-гладкомышечного актина.

Показано, что у пациентов, скончавшихся от приступа БА, обнаруживаются изменения во внеклеточном матриксе во всех отделах легких. Данные из-

менения во внеклеточном матриксе у тех больных, у которых астма привела к летальному исходу, были особенно выражены во внешних слоях бронхиальной стенки мелких дыхательных путей и включали в себя повышение депозиции фибронектина, коллагена I и III типов, а также повышение экспрессии некоторых типов металлопротеиназ (ММР-1, ММР-2 и ММР-9). Полагают, что эти механизмы обуславливают разобщение воздухоносных путей и паренхимы легких. Хотя непосредственный эффект, оказываемый ремоделированием мелких дыхательных путей на функцию легких, пока не изучен, следует отметить, что ремоделирование в периферических отделах бронхиального дерева может плохо подвергаться медикаментозному лечению, вследствие плохой доставки в дистальные отделы бронхиального дерева большинства применяемых в настоящее время ингаляционных кортикостероидных препаратов.

1.5 Цитохимическая характеристика верхних дыхательных путей при воздействии токсических веществ на организм человека

Известно, что работники ряда профессий подвергаются воздействию широкого спектра веществ, потенциально оказывающих негативное влияние на состояние здоровья. Однако данные об особенностях состояния слизистых оболочек ВДП и связи с иммунным статусом организма у представителей этих контингентов в доступной литературе практически отсутствуют. Одной из наиболее распространенных групп веществ, воздействию которых подвергаются работники ряда профессий - технические жидкости (metal working fluids, ТЖ), которые используются в процессе металлообработки для охлаждения, в качестве смазки, а также для предотвращения коррозии и для удаления из рабочей области металлических опилок и стружки, образующихся при производстве деталей. Большинство ТЖ, за исключением масла и воды, чаще всего содержат различные присадки: биоциды, антиокислители, антикоррозионные и поверхностно-активные вещества. При этом каждая присадка сама по себе может оказывать негативное воздействие на состояние здоровья. В процессе металлооб-

работки рабочие контактируют со взвесью этих веществ в воздухе, что может приводить к формированию ряда нарушений со стороны дыхательной системы, проявляющихся в частности кашлем и ринитом. У лиц, имеющих контакт с ТЖ, также чаще выявляются бронхиальная астма, аллергический пневмонит и хронический бронхит [Rosenman K.D., 2009; Jaakkola M.S. et al., 2009]. Помимо патологии ВДП сравнительно часто у работников металлообрабатывающей промышленности наблюдаются кожные заболевания, поскольку ТЖ способны вызывать профессиональный аллергический контактный дерматит [Gruvberger V. et al., 2003].

Известно, что при выполнении боевых задач пожарные подвергаются воздействию комплекса неблагоприятных факторов: высоких концентраций токсических веществ (превышение максимально-разовых предельно допустимых концентраций углерода оксида, азота оксида, серы диоксида, формальдегида, винилхлорида и других от 1,4 до 117,6 раза), интенсивной физической и нервно-эмоциональной нагрузке. По показателям заболеваемости с ВУТ чаще всего временная нетрудоспособность у пожарных связана с болезнями органов дыхания [Колычева И.В., Рукавишников В.С., 2005]. Подтверждено, что наиболее распространенными заболеваниями у пожарных наряду с болезнями кровообращения являются заболевания органов дыхания (хронический ринит, фарингит, хронический бронхит, при этом с увеличением стажа работы пожарных возрастает и уровень трудопотерь [Колычева И.В., Рукавишников В.С., 2005]).

Качественный и количественный состав воздушной взвеси, которая формируется при работе станков, где используются ТЖ, обусловлен наличием в ней целого ряда факторов. Несмотря на то, что большинство обладающих раздражающим действием веществ, которые так или иначе связаны с работой с ТЖ известны, достоверно причину патологических состояний работников металлообрабатывающей промышленности установить чаще всего не представляется возможным. Воздушная взвесь может состоять из частиц малого для вдыхания размера, и, в зависимости от состава ТЖ, включать различные химические со-

единения, в частности формальдегид, алканол амины, триазолы и летучие органические вещества [Graff P. et al., 2008; Chen M.R. et al., 2007; Lillienberg L. et al., 2008; Suuronen K. et al., 2008].

Наряду с оценкой распространенности в металлообрабатывающей промышленности ТЖ на основе воды все больше внимания специалисты стали уделять микроорганизмам и микробным провоспалительным факторам, одним из которых является микробный эндотоксин [Gordon T., 2004]. Показано, что несмотря на добавления в ТЖ биоцидных веществ, через определенный промежуток времени эти жидкости обсеменены микроорганизмами [Marchand G. et al., 2010; Trafny E.A., 2013]. В развитии такого заболевания, как аллергический пневмонит была доказана роль *Pseudomonas rods*, а также некоторых микобактерий, обнаруживаемых в ТЖ [Trafny E.A., 2013].

В одном из исследований было изучено состояние здоровья работников ряда предприятий Швеции. В общей сложности было опрошено более полутора тысяч рабочих двадцати девяти производств. В воздухе цехов металлообработки обследованных предприятий были обнаружены формальдегид, этаноламин, морфолин, масляная взвесь и другие связанные с ТЖ факторы, способные оказывать раздражающее действие на верхние дыхательные пути. Тем не менее, все эти вещества регистрировались в низких концентрациях, соответственно каждое из них само по себе не могло бы вызвать наблюдаемые симптомы со стороны дыхательных путей. Тем не менее, действуя совокупно, эти вещества потенцируют эффект воздействия [Gilliland F.D. et al., 2004].

Установлено, что 70% персонала, работающего на заводах, страдают заболеваниями кожи и верхних дыхательных путей, которые, предположительно связаны с влиянием ТЖ, как на водной, так и на масляной основе. После внедрения фильтров-маслоуловителей в цехах и перехода на ТЖ на водной основе, было зарегистрировано учащение жалоб со стороны персонала, связанных с патологическими состояниями со стороны дыхательной системы. При этом патология была выявлена даже у тех сотрудников, которые не были связаны по

характеру деятельности с работой на станках с использованием ТЖ. В то же время снизилась частота жалоб, связанных с кожными заболеваниями.

Авторами была показана широкая распространенность симптомов поражения слизистой оболочки ВДП среди работников металлообрабатывающей промышленности, контактирующих с ТЖ. Была показана высокая распространенность симптомов (в частности, заложенности носа, насморка и болей в горле), характерных для острого риносинусита и аллергического ринита [Fokkens W.J. et al., 2012]. Признаки раздражения слизистой, вызванные присутствием на рабочем месте, были отмечены у 37% рабочих, непосредственно контактирующих с ТЖ, а также у 21% лиц, работающих в том же помещении, но не взаимодействующих с оборудованием, в котором используется ТЖ, и у 8% работающих в другом здании и не контактирующих с ТЖ. Сходные результаты были получены Greaves I.A. et al. (1997), которые обнаружили двукратное увеличение риска развития патологических состояний ВДП у лиц, работающих с синтетическими ТЖ по сравнению с работниками монтажного цеха.

Согласно результатам опроса, заболевания ВДП у лиц, контактирующих с ТЖ, не были связаны с неблагоприятными психологическими условиями на рабочем месте.

Некоторые авторы в качестве причины воспалительного ответа, возникающего в дыхательных путях, рассматривают эндотоксины, присутствующие в ТЖ [DeLorme M.P. et al., 2003]. Сравнительно недавно было показано, что рекомбинантный SPLUNC1 снижает высвобождение фактора некроза опухоли α -активированными макрофагами [Di Y.P. et al., 2013] и может играть важную роль в предотвращении обезвоживания слизистой оболочки дыхательных путей [Garland A.L. et al., 2013]. Таким образом, логично предположить, что низкий уровень SPLUNC1, обнаруженный у работников с симптомами со стороны дыхательных путей, может быть одним из элементов механизма воспалительной реакции при контакте с ТЖ.

Переходя к рассмотрению цитохимических и молекулярных механизмов влияния ЧДВ на верхние дыхательные пути, следует отметить, что воздействие

этих частиц, загрязняющих воздух, вызывает продукцию эпителиальными клетками дыхательных путей медиаторов воспаления [Devalia J.L. et al., 1997; Krishna M.T. et al., 1998, Takizawa H. et al., 2000].

Степень выраженности этого провоспалительного эффекта зависит от многих факторов, таких, как размер частиц, их концентрация, состав и длительность воздействия [Aust A.E. et al., 2002]. По данным ряда исследований, в развитии пневмоний, вызванных частицами загрязнения воздуха, важную роль могут играть также факторы восприимчивости организма пациента [Annesi-Maesano I. et al., 2003; Kleeberger S.R., 2005]. Наиболее вероятно, что индивидуальная предрасположенность является генетически обусловленной [Gilliland F.D. et al., 2004]. В исследованиях на животных было показано, что выраженность воспалительного ответа при длительном воздействии низких доз ЧДВ значительно различалась в группах мышей с разной генетической основой оксидативного стресса [Li Y.J. et al., 2008].

Российскими исследователями были описаны особенности микробиоценозов слизистых оболочек респираторного тракта у лиц, контактирующих с токсическими факторами производственной деятельности, в том числе у пожарных [Несмеянова Н.Н., 2005]. На слизистых оболочках ВДП авторами было отмечено большое количество вегетирующей аутофлоры, причем в большей степени – у пожарных. У всех обследованных лиц микробный пейзаж слизистых оболочек зева был идентичный. Вместе с тем условно-патогенные бактерии: пневмококки, энтерококки, бранхамеллы, гемофилы, α -гемолитический стрептококк, коагулазоположительные и гемолизирующие стафилококки – у пожарных выделялись с биотопов слизистых оболочек зева статистически значимо чаще в сравнении с контрольной группой, чем у лиц, не имеющих контакта с неблагоприятными факторами профессиональной деятельности. Исследователи считают, что вышеперечисленные микроорганизмы при воздействии токсикантов могут стать причиной развития воспалительных процессов респираторного тракта.

1.6 Роль механизмов свободнорадикального окисления в патогенезе локального поражения верхних дыхательных путей

1.6.1 Общие представления о роли оксидантной и антиоксидантной систем в генезе нарушений гомеостаза

В настоящее время известно, что изменения процессов свободнорадикального окисления и нарушения функции антиоксидантной системы вносят существенный вклад в развитие ряда заболеваний, сопровождающихся изменением цитохимических характеристик верхних дыхательных путей. Так, активные формы кислорода играют важнейшую роль в патогенезе бронхиальной астмы.

Молекулярный кислород является составным элементом метаболизма человека. Его реакция четырехэлектронного восстановления до воды составляет основу биоэнергетики клеток. Наряду с окислительным фосфорилированием, в организме постоянно самопроизвольно протекают реакции его неполного, одно-, двух- или трехэлектронного восстановления, в ходе которых образуются активные формы кислорода: супероксиданион-радикал (O_2^-), гидроксильный радикал (HO), перекись водорода (H_2O_2), синглетный кислород (1O_2) и другие, а также их вторичные метаболиты: гипогалоиды (HOCl и HOBr), пероксинитрил (ONOO-), альдегиды, кетоны и продукты перекисного окисления липидов [Беляков Н.А. и др., 1987; Ерюхин И.А., 1996; Зенков Н.К., 2001; Иванов К.П., 2004].

Активные формы кислорода образуются в процессе транспорта электронов по дыхательной цепи. В норме на это расходуется от 1 до 5% потребляемого кислорода. Однако при критических состояниях и развитии гипоксии эта величина может существенно изменяться [Арутюнян А.В. и др., 2000].

Супероксиданион-радикал является пусковым звеном каскада свободнорадикальных реакций, приводящих к образованию большинства активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов. Он участвует в синтезе хемотаксических пептидов, усиливает митогенстимулированную пролифера-

цию лимфоцитов, ингибирует действие эндотелиального фактора расслабления сосудов, может повреждать мембраны эритроцитов, ингибировать синтез РНК и белка эндотелиальных клеток, окислять белки и сыворотки, в то же время непосредственно его цитотоксичность относительно невелика [Мороз В.В. и др., 2006; Moncada S. et al., 1991].

Гидроксильный радикал (НО) является наиболее токсичным из всех активных форм кислорода, вследствие своей высокой реакционной способности. Основным источником образования гидроксильного радикала является реакция Фентона, которая протекает с участием металлов переменной валентности, в основном Fe^{2+} .

Гидроксильный радикал участвует в реализации микробицидного и цитотоксического действия гранулоцитов, моноцитов и Т-лимфоцитов, вызывает повреждения нуклеиновых кислот, белков, а также других клеточных структур, ингибирует ряд фракций комплемента. Гидроксильный радикал индуцирует образование органических радикалов и таким образом запускает процессы перекисного окисления липидов [Abraham E. et al., 1995; Menges T., Engel J., 1999].

В организме отсутствуют специализированные ферментные системы, способные инактивировать гидроксильный радикал. Низкомолекулярные соединения (урацил, мочева кислота, салицилаты, глюкоза, диметилсульфоксид) могут ингибировать гидроксильный радикал только в очень высоких концентрациях [Зенков Н.К. и др., 2001; Иванов К.П., 2004]. Следовательно, при развитии патологических процессов, сопровождающихся избыточным образованием активных форм кислорода, организм не в состоянии справиться с высокими концентрациями гидроксильного радикала и устоять перед его повреждающим действием. Предотвратить повреждение клеток возможно только, снизив концентрацию радикалов его предшественников - супероксиданион-радикала и перекиси водорода, с помощью супероксиддисмутазы и каталазы.

Перекись водорода (H_2O_2) является окислителем средней силы. При определенных условиях сохранения ее стабильности, она может мигрировать в клетки. Перекись водорода оказывает ограниченное повреждающее действие, в

частности, вызывает нарушение гомеостаза кальция в клетке [Brochner A.C., Toft P., 2009]. В организме ее источником являются реакции с участием оксидаз, которые переносят два электрона на молекулу кислорода, а также реакция дисмутации супероксиданион-радикала, катализируемая супероксиддисмутазой [Малышев И.Ю., Манухин Е.Б., 1999].

В обычных условиях клетки достаточно устойчивы к воздействию перекиси водорода, которая разлагается ферментами глутатионпероксидазой и каталазой. Каталаза - гемсодержащий фермент, расположенный в пероксисомах клетки, катализирует реакцию разложения двух молекул перекиси водорода до двух молекул воды и кислорода. Глутатионпероксидаза находится в цитозоле и митохондриях клеток, разлагает перекись водорода посредством окисления глутатиона.

Процессы свободнорадикального окисления с участием активных форм кислорода при достаточно низкой интенсивности относятся к нормальным метаболическим процессам. Радикалы кислорода индуцируют процессы перекисного окисления липидов, необходимые для процессов обновления фосфолипидов и регуляции проницаемости клеточных мембран. Важнейшей физиологической функцией активных форм кислорода является активация ряда мембранных белков и иммуноглобулинов, а также ферментов, регулирующих переключение метаболических путей и синтез макроэргических соединений в клетке. Метаболиты кислорода участвуют в реакциях клеточного и гуморального иммунитета, а именно, радикалы кислорода, генерируемые оксидазами нейтрофильных гранулоцитов и мононуклеарных фагоцитов, играют важную роль в реализации микробицидного, цитотоксического и иммунорегуляторного действия этих клеток [Ерюхин И.А., 1997; Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., 1997; Menges P. et al., 2012].

Активные формы кислорода стимулируют пролиферацию иммунокомпетентных клеток. Доказано прямое их участие в образовании факторов, вызывающих активацию и миграцию лейкоцитов в очаг воспаления [Menges P. et al., 2012]. Процессы генерации активных форм кислорода лежат в основе большин-

ства реакций фагоцитоза, обеспечивая роль неспецифических регуляторов фагоцитоза и пиноцитоза [Ерюхин И.А., 1997; Edwards J.D., 1991; Zhang, Q.G., 2012].

Таким образом, радикалы кислорода, несмотря на свою реакционную активность и потенциальную токсичность, в малых концентрациях являются нормальными метаболитами множества биохимических реакций в клетке. Если концентрация активных форм кислорода увеличивается, это приводит к развитию целого ряда разнообразных патологических процессов. Основной причиной накопления активных форм кислорода являются нарушения нормального окислительного метаболизма клеток при патологии [Fishman J.E. et al., 2013]. В концентрациях, превышающих физиологические, все эти соединения являются высокотоксичными для биологических систем всех уровней. Окислительная деструкция компонентов биологических систем, обусловленная активными формами кислорода, получила обозначение – «токсичность кислорода» [Владимиров Ю.А., 1972; Зарубина И.В., 2004].

Продукция активных форм кислорода и как следствие активация процессов перекисного окисления липидов в клетках резко возрастают при воздействии на организм различных стрессорных факторов. В дальнейшем это приводит к декомпенсации системы антиоксидантной защиты организма и развитию окислительного стресса. Для всех патологических состояний, течение которых сопровождается увеличением концентрации активных форм кислорода, характерно развитие окислительного стресса. Основным механизмом развития окислительного стресса связан со свободнорадикальным повреждением плазматических, митохондриальных и ядерных мембран, ядерного и митохондриального генома, липопротеинов крови, что приводит к повреждению сосудов и гистогематических барьеров [Рябов Г.А., 1988]. Избыточная выработка активных форм кислорода приводит к активации перекисного окисления липидов, разрушению лизосом, повреждению биомембран, эндотелия и нарушению микроциркуляции.

В настоящее время, изучению роли активных форм кислорода при различных патологических процессах, посвящено много работ обзорного и экспериментального характера, это свидетельствует о признании фундаментального значения активных форм кислорода в патогенезе различных заболеваний [Fiddian-Green R.G. et al., 1993; Yamada K.H. et al., 2012].

Защита организма от активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов является одной из важнейших задач по поддержанию гомеостаза. Роль физиологической антиоксидантной системы организма заключается в формировании механизмов, регулирующих доставку кислорода и его поступление в клетки. Биохимическую антиоксидантную систему представляют химические соединения, снижающие активность радикальных окислительных процессов. Физиологический компонент антиоксидантной защиты организма обеспечивает равновесие между интенсивностью транспорта кислорода к клеткам и метаболическими процессами по его безопасной утилизации. Эти механизмы обеспечиваются за счет наличия каскада уровней парциального давления кислорода, понижающегося от альвеол к клеткам в 10 - 13 раз [Ерьюхин И.А., 1997; Шанин В.Ю., 1993].

Специфическая антиоксидантная система представлена рядом ферментов, а именно, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионзависимые пероксидазы и трансферазы. Эти ферменты находятся преимущественно внутри клетки и обладают высокой избирательностью действия. Концентрация антиоксидантных ферментов в различных органах и тканях существенно варьирует. Так, их уровень в клетках соединительной ткани в несколько раз ниже, чем в паренхиматозных органах [Владимиров Ю.А., 1972; Ерьюхин И.А., 1997]. Основным ферментом антиоксидантной защиты является супероксиддисмутаза, которая относится к классу окислительно-восстановительных ферментов. В организме человека супероксиддисмутаза находится во всех органах и тканях, но особенно высока ее концентрация внутри клетки [Hatwalne M.S., 2012]. В крови фермент находится в очень малом количестве и при экзогенном введении быстро выводится в неизменном виде почками. Основной функцией супероксиддисмута-

зы является ускорение реакции дисмутации супероксидных радикалов, образующихся в ходе биологического окисления. Фермент обеспечивает превращение супероксидного анион-радикала в менее активный окислитель - перекись водорода, которая элиминируется каталазой до двух молекул воды и молекулы кислорода [McCord J.M., 1985].

Таким образом, организм человека достаточно обеспечен защитными механизмами, позволяющими предотвращать и подавлять развитие свободнорадикального повреждения клеток и тканей. Эти защитные механизмы образуют сбалансированную систему, функционирующую по принципу обратной связи и обеспечивающую постоянство естественной антиоксидантной активности крови и тканей организма, что является одной из основных доминант гомеостаза [Семиголовский М.Ю. и др., 2004].

1.6.2 Нарушения процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты при заболеваниях дыхательных путей, бронхиальной астме и действии токсических веществ

Как известно, свободные радикалы активно образуются из молекулярного кислорода в клетках, участвующих в развитии воспаления. Этот процесс ассоциирован с изменением функции митохондрий, его активация приводит к повышению реактивности верхних дыхательных путей, тканевым повреждениям, усилению продукции вязкого слизистого секрета и ряду других изменений [Mathias L.J. et al., 2013; Zuo L., Clanton T.L., 2005].

Клинические и экспериментальные данные последних лет убедительно свидетельствуют, что хроническое воспаление дыхательных путей и оксидативный стресс играют ключевую роль в патогенезе развития и прогрессирования БА и других заболеваний респираторного тракта, таких как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), муковисцидоз, интерстициальные заболевания легких, бронхиты [Болевич С., 2006; Величковский Т.Б., 2001]. Окси-

дательный стресс является общей магистралью, ведущей к повреждению эпителия бронхов.

Активные формы кислорода (АФК) при физиологических условиях реализуют целый ряд регуляторных и метаболических функций в организме. Свободнорадикальные реакции необходимы для образования многих жизненно необходимых ферментов, для нормального функционирования иммунной системы, в том числе клеточного компонента иммунного ответа. Они абсолютно необходимы для активации транскрипционных факторов, участвующих в экспрессии генов, осуществляют трансдукцию клеточных и гормональных сигналов, регулируют биоэнергетические процессы, окислении ксенобиотиков, размножение клеток и апоптоз [Forman H., Torres M., 2002; Psarras S., 2005].

Свободнорадикальное окисление (СРО) лежит в основе синтеза многих биологически активных соединений - лейкотриенов, пуриновых дезоксирибонуклеотидов, мочевой кислоты, макроэргических соединений – изменений концентраций которых в тканях могут способствовать развитию целого ряда патологических состояний [Wagner P.D., 2008]. АФК и свободные радикалы образуются в основном при последовательном присоединении электронов к кислороду, в процессе перекисного окисления липидов (ПОЛ). ПОЛ является одним из путей утилизации кислорода в клетке, на мембранах ПОЛ представляет собой защитную реакцию, которая способствует обновлению фосфолипидов мембран [Андриевская И.А., 2007; Бондаренко А.Л., 2004; Федосеев Г.Б., 1995].

Особое значение реакции ПОЛ и состояние антиоксидантной системы (АОС) имеют для органов дыхания [Хрипач Л.В. и др., 2004; Pohl W., 2005], поскольку легкие и верхние дыхательные пути в этом отношении наиболее уязвимы и подвержены оксидативному стрессу, что обусловлено целым рядом факторов.

В респираторном тракте возможность течения СРО повышена, поскольку в отличие от иных органов, легкие и дыхательные пути непосредственно подвергаются воздействию кислорода, являющегося инициатором окисления, а

также оксидантов загрязненного воздуха - озона, диоксидов азота и серы и др. Морфологические и функциональные особенности дыхательной системы обуславливают также и возможность эндогенной гиперпродукции оксидантов, поскольку ненасыщенные жирные кислоты (ЖК) легких являются субстратом ПОЛ, а различные аллергены, поллютанты, микроорганизмы способствуют развитию реакций клеток - лимфоцитов, эозинофилов, нейтрофилов, макрофагов, продуцирующих АФК в свою очередь инициирующие процессы перекисного окисления [Wood L.G. et al., 2003].

Источники активных форм кислорода в легких и ВДП весьма многообразны. В качестве таковых выступают фагоцитирующие клетки, обладающие мощными системами генерации АФК. Контакт фагоцитов с чужеродными частицами вызывают активацию клеток с образованием АФК – так называемый «супероксидный» или «респираторный» взрыв.

Бактерицидный эффект фагоцитов осуществляется действием АФК внутри фаголизосом, а цитотоксический - действием на объекты, расположенные вне фагоцита, и осуществляется посредством выброса АФК из клетки в ее микроокружение [Абдрахманова М. и др., 2001]. Активация фагоцитов связана не только с бактериальной агрессией, но и другими видами воздействий (ксенобиотики, аллергены, поллютанты).

Гидроперекиси и радикалы кислорода активируют фосфолипазу А₂ в легких, цитокина, хемотаксические пептиды, вызывающие миграцию и активацию фагоцитирующих клеток. Супероксид-анион и перекись водорода постоянно образуются во внутриклеточных метаболических процессах - при окислительном фосфорилировании в митохондриях, микросомальном окислении или работе оксидаз в пероксисомах.

В условиях гипероксии или воздействия атмосферных поллютантов, аллергенов клеточные органеллы митохондрии и микросомы становятся источниками активных кислородных метаболитов. В эпителиальных клетках легких отмечается высокое содержание ксантиндегидрогеназы. При действии на легкие мощных прооксидантов (например, озоне), происходит окисление

сульфгидрильных групп фермента, а ксантиндегидрогеназа трансформируется в оксидазную форму, которая также выступает в качестве мощного источника активных кислородных метаболитов.

Эозинофилия периферической крови идентифицируется как фактор риска развития обструкции дыхательных путей. При ХОБЛ обнаруживается увеличение числа эозинофилов в биоптатах бронхов и уровня эозинофильного катионного протеина. Обратимость обструкции у больных с тяжелой дыхательной недостаточностью и эмфиземой коррелирует с эозинофилией бронхов. Эти данные подтверждают существенный вклад эозинофилов в развитие оксидативного стресса в дыхательных путях и легких. АФК в эозинофилах образуются при посредстве эозинофильной пероксидазы, высвобождаемой из гранул при воздействии оксидантов. Поддержание концентрации АФК на физиологическом уровне ответственна система антиоксидантная защита, состоящая из ряда барьеров: первый из них - смесь трахеобронхиальной слизи и гликопротеидов - способен инактивировать перекись водорода и гидроксильный радикал.

Второй барьер представляет собой сурфактант, в его поверхностно-активной фракции обнаружен ряд антиоксидантов (глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и СОД).

Третьим барьером являются собственно антиоксиданты, которые разделяют на 3 группы: ферменты, обладающие антиоксидантным действием (СОД, каталаза, система глутатионпероксидаза-глутатионредуктаза), антиоксиданты неферментативного действия (жирорастворимые – токоферол, полифенолы, убихинол, тканевые липиды, витамины К, А, водорастворимые – аскорбиновая кислота, мочевины, глутатион, цистеин, никотинамид, бензойная кислота), синергисты, которые потенцируют действие других антиоксидантов (аскорбиновая, глутаминовая и лимонная кислота) [Зенков Н.К. и др., 2000; Соодаева С.К., 2006; Forsberg L.T. et al., 2001]. Основная часть АОС легких сконцентрирована в жидкости, выстилающей эпителий респираторного тракта.

В норме в системе «СРО – АОС» поддерживается равновесие, а нарушение баланса в сторону оксидантов приводит к развитию так называемого ок-

сидативного стресса [Forsberg L.T. et al., 2001; Montushi P.R. et al., 2004]. Он выражается в избыточной продукции АФК и недостаточности антиоксидантной защиты. Неконтролируемая генерация АФК и их производных вызывает развитие оксидативного стресса, приводит к повреждению важнейших полимеров – белков, нуклеиновых кислот, липидов, а также возникновению клеточных мутаций, приводящих к гибели, либо злокачественному перерождению клеток [Rahman I., Adcock I., 2006].

Рассматривая в этом аспекте цитохимические основы влияния токсических веществ на органы дыхания, можно отметить, что, например, реакция на воздействие частиц дизельных выхлопов регулируется за счет баланса антиоксидантной защиты и провоспалительного ответа [Takizawa H., 2004]. В легких существует несколько механизмов антиоксидантной защиты, реализуемых с помощью глутатион S-трансфераз (GST) [Rahman I. et al., 2006]. Глутатион S-трансферазы представляют собой семейство ферментов II фазы метаболизма ксенобиотиков, состоящее из нескольких подклассов, таких как GSTM1 и GSTP1. GST катализируют реакцию конъюгации восстановленного глутатиона с гидрофобными электрофилами и активными формами кислорода [Hayes J.D., Pulford D.J., 1995].

Генетические вариации, обуславливающие уровень экспрессии и функциональность глутатион S-трансфераз, определяют степень выраженности оксидативных реакций в дыхательных путях и связанных с ними патологических изменений [Islam T. et al., 2009]. Генетические полиморфизмы GST, в частности, нулевой генотип GSTM1, часто встречаются в популяции: их распространенность составляет от 18 до 66% в различных этнических группах [Carlsten C. et al., 2008]. Наличие делеционных вариантов или нулевых аллелей, существующих для гена GSTM1, проявляется в невозможности синтеза данного белка [Carlsten C. et al., 2008]. Таким образом, у пациентов с нулевым аллелем GSTM1 полностью отсутствует активность этого фермента, что клинически выражается в увеличении индивидуальной предрасположенности к бронхиальной астме и

другим заболеваниями легких [Gilliland F.D. et al., 2002; Tamer L. et al., 2004; Hanene C. et al., 2007].

В ранее проведенных исследованиях было показано, что наличие нулевого генотипа GSTM1 ассоциировано с более выраженным воспалением дыхательных путей у пациентов, подвергшихся воздействию токсических веществ, загрязняющих воздух, таких, как озон, эндотоксины, ЧДВ и вещества, вдыхаемые при пассивном курении [Dillon M.A. et al., 2011; Alexis N.E. et al., 2009; Gilliland F.D. et al., 2006].

Полагают, что дефицит ферментной активности GSTM1 является фактором риска развития респираторных заболеваний, индуцированных веществами, загрязняющими воздух. Это не исключает влияния и других генетических факторов на модуляцию процессов, возникающих в ответ на воздействие загрязняющих веществ.

Были проведены исследования по оценке влияния недостаточности фермента GSTM1 на модуляцию воспалительного ответа и экспрессию интерлейкина-8 (ИЛ-8) и ИЛ-1 β при воздействии ЧДВ [Strieter R.M., 2002; Standiford T.J. et al., 1993; Edwards M.R. et al., 2005]. Известно, что при воспалительных заболеваниях легких наблюдается повышенный уровень ИЛ-8 и ИЛ-1 β [Chung K.F., 2005; Berger M., 2002].

Воспалительные реакции, инициируемые различными внешними стимулирующими сигналами, как правило, регулируются с помощью внутриклеточных киназ [Lee M., Goodbourn S., 2001]. Быстрое нарастание сигнала коррелирует с числом вырабатываемых протеинкиназ. Было показано, что протеинкиназы играют важную роль в регуляции продукции медиаторов воспаления в дыхательных путях [Adcock I.M. et al., 2006]. Согласно результатам предшествующих исследований, участие митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), в том числе внеклеточно регулируемой киназы (ERK), с-JunNH2-киназы (JNK) и киназы p38, а также сигнального каскада PI3K/Akt в регуляции ЧДВ-индуцированной экспрессии генов воспалительных медиаторов является специфичным для разных типов клеток, а также в значительной степени зави-

сит от рассматриваемых провоспалительных медиаторов. Так, Takizava H. et al. (2000) показали, что воздействие ЧДВ усиливало экспрессию внутриклеточных молекул адгезии-1 посредством p38, а не за счет ERK, в трансформированных клетках бронхиального эпителия BEAS-2B.

В свою очередь, Boland S. et al. (2000) продемонстрировали, что ЧДВ стимулировали продукцию гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, главным образом, посредством ERK, и в меньшей степени, через p38 в клетках бронхиального эпителия линии 16-HBe [Boland S. et al., 2000]. Li N. et al. (2002) обнаружили, что экстракты ЧДВ могут активировать JNK в макрофагах клеток линии THP-1. В клетках эпидермиса мышей при воздействии ЧДВ наблюдались умеренная активация JNK и слабое влияние на ERK и p38 [Ma C. et al., 2004].

Было выдвинуто предположение, что экспрессия генов воспалительного ответа может регулироваться на транскрипционном и посттранскрипционном уровне [Fan J. et al., 2005; Holtmann H. et al., 1999]. Однако, остается неясным, каким именно образом ERK и сигнальный путь PI3K/Akt осуществляют регуляцию ЧДВ-индуцированной экспрессии IL-8 и IL-1 β . Также неизученными остаются механизмы, лежащие в основе модулируемого GSTM1 воспалительного процесса в легких. Фермент GSTM1 инактивирует электрофильные соединения, катализируя реакцию связывания с восстановленным GSH. Предполагают, что промежуточные электрофильные метаболиты, появляющиеся в первой фазе детоксикации, не метаболизируются у больных бронхиальной астмой с нулевым генотипом GSTM1 и не выводятся из организма. Эти соединения могут приводить к повреждению клеток и способствовать развитию оксидативного стресса, тем самым внося свой вклад в патогенез бронхиальной астмы [Wu W. et al., 2012; McIlwain C.C. et al., 2006].

Согласно одной из недавних гипотез, GSTM1 способен контролировать оксидативный стресс и воспаление путем воздействия на внутриклеточные сигнальные пути посредством влияния на некоторые малые молекулы или белок-белковых взаимодействий с киназами. Лиганд-связывающая активность GSTM1

приводит к негативной регуляции сигнальных путей через секвестрацию сигнальных киназ [Wu W. et al., 2012; McIlwain C.C. et al., 2006].

Установлено, что GSTM1, ERK и Akt участвуют в регуляции ЧДВ-индуцированной экспрессии ИЛ-8 и ИЛ-1 β в КБЭ. Была предложена гипотеза о том, что усиление ЧДВ-индуцированной экспрессии ИЛ-8 и ИЛ-1 β при дефиците GSTM1 может достигаться путем изменения активности ERK и Akt.

Учитывая окислительную собственность многих загрязнителей воздуха и роль АФК в качестве вторичных посредников внутриклеточной сигнальной сети [Cienciewicki J. et al., 2008; Savaraj N. et al., 2005], было сделано предположение о том, что анти-оксидант GSTM1 способен влиять на активность ERK и Akt посредством регуляции внутриклеточной продукции АФК в КБЭ при воздействии ЧДВ. Было показано, что два основных вида органических соединений, адсорбированных на ЧДВ, - ПАУ и хиноны – способны усиливать продукцию АФК посредством ферментативных и неферментативных реакций [Baulig A. et al., 2003; Ng D. et al., 1998; Park J.Y et al., 1996; Sagai M. et al., 1993; Kumagai Y. et al., 1997]. Показано, что активные формы кислорода играют важную роль в ЧДВ-индуцированной активации ERK и Akt и последующей экспрессии ИЛ-8 и ИЛ-1 β .

Таким образом, полученные к настоящему времени данные о противовоспалительной эффективности глутатион-S-трансферазы подтверждают роль свободнорадикального окисления и активности антиоксидантной в развитии окислительных и провоспалительных эффектов различных токсикантов, которые воздействуют на легкие и дыхательные пути.

1.7 Основные направления совершенствования диагностики патологии верхних дыхательных путей

1.7.1 Потенциальные биомаркеры поражения верхних дыхательных путей и бронхиальной астмы

К настоящему времени накоплен большой объем данных о потенциальных биомаркерах бронхиальной астмы. Определены 15 веществ, которые вклю-

чены в «Базу данных биомаркеров аллергии и бронхиальной астмы» (Database of Allergy and Asthma Biomarkers – DAAB). Исследования показали, что среди биомолекул, гены которых подвергаются значительной индукции при бронхиальной астме, в качестве такого рода факторов обращают на себя внимание и СС-хемокины (CCL8, CCL5, CCL11, CCL24), серпины (B2, B4, A1), карбокси-пептидаза А3. Эти группы молекул также рассматриваются как потенциальные биомаркеры БА. ССL – мощные аттрактанты Th2, в значительной мере отвечающие за миграцию Th2 в воспалительный очаг при atopической БА [Lukacs N.W., 2001; Mahmutovic-Persson I. et al., 2014]. Серпины, принадлежащие к группе ингибиторов сериновых протеаз, блокируют катепсин G и химазу тучных клеток, защищают нижние отделы дыхательных путей от повреждения протеолитическими ферментами, следовательно, серпины могут рассматриваться как маркеры приступа бронхиальной астмы [Zou et Y. et al., 2002].

Карбоксипептидаза А3 – ассоциированная с развитием астмы протеаза, обнаруженная в легочном эпителии, уровень которой повышен у некурящих пациентов с бронхиальной астмой [Woodruff P.G. et al., 2007]. Белок Retnla (resistin like α), также известный как Fizz (found in inflammatory zone) – продукт эпителия бронхов – считается маркером альтернативной активации макрофагов и Th2-опосредованного воспалительного ответа [Sagar S. et al., 2014]. У мышей с недостаточностью Retnla развивается гораздо более тяжелая атопия. В то же время, Retnla подавляет обусловленные ИЛ-13 процессы при гиперреактивности дыхательных путей [Martinez-Nunez R.T. et al., 2011].

В качестве других факторов, играющих роль в патогенезе заболевания, и являющимся биомаркерами развития БА, рассматриваются, в частности, кислая хитиназа млекопитающих (Chia, Chi3l3, Chi3l4, Chi3l1 и ChiT1), кальций-связывающий белок (S100A8 и S100A9), аргиназа (Arg1 и Arg2) – вместе с кодирующими их генами требуют дальнейшего исследования [Zoratti E. et al., 2014]. Кислая хитиназа млекопитающих – фермент, присутствующий в организме человека, способный расщеплять хитин и индуцируемый Th2-специфичным каскадом, запускаемым ИЛ-13 в качестве защитного механизма в

ответ на контакт эпителия легкого и макрофагов со вдыхаемым аллергеном. Th2-опосредованное воспаление при БА может быть купировано таргетной нейтрализацией этих ферментов [Zhu Z. et al., 2004]. Некоторые глюкокортикостероиды и антагонисты лейкотриеновых рецепторов демонстрируют способность подавлять повышенную секрецию этих ферментов в легких [Jalali S. et al., 2013].

При БА в ткани легкого повышается экспрессия аргиназы через Th2-опосредованный механизм [Zimmermann N. et al., 2003]. Эти процессы оказывают влияние на обмен аргинина и участвуют в патогенезе астмы через ингибирование синтеза NO и нарушение роста клеток и структуры коллагена [Huiling L. et al., 2006].

Белок BPIFA1 (shortpalate, lung, and nasal epithelial clone-1 – SPLUNC) активно экспрессируется в верхних дыхательных путях и в области носоглотки. Предполагается, что этот белок участвует в воспалительном ответе верхних дыхательных путей [Alexis N.E., 2014; Barnes P.J. et al., 2008; 2009]. Одна из форм BPIFA1 является посттрансляционной модификацией и преобладает в промывной жидкости из носа у страдающих аллергическим ринитом пациентов [Ghafouri B. et al., 2006].

В настоящее время известно, что промывная жидкость носа (ПЖН) содержит значительное количество белков, анализируя совокупность которых, можно получить ценный инструмент для диагностики биохимических изменений, вызванных патологией ВДП.

В частности, протеомный анализ обнаружил ряд значимых изменений в структуре распределения белков промывной жидкости у обследуемых работников с признаками патологических явлений со стороны дыхательной системы, к которым относятся: увеличение содержания белка S100-A9 (калгранулин В), снижение содержания SPLUNC1, Ig J и β 2-микроглобулина, каждый из которых участвует в механизмах реализации иммунного ответа.

Известно, что белок S100-A9 в больших количествах экспрессируется в цитоплазме нейтрофилов и обнаруживается в высоких концентрациях во вне-

клеточной жидкости при воспалительных заболеваниях различной природы (хронические воспалительные заболевания кишечника, ревматоидный артрит и проч.), чаще всего в комплексе с родственным белком S100-A8 (кальпротектин) [Foell D. et al., 2004; Frosch M. et al., 2005]. S100-A8 и S100-A9 входят в группу эндогенных риск-ассоциированных молекулярных паттернов (danger associated molecular pattern — DAMP), усиливающих врожденный иммунный ответ, и играют важную роль в защите слизистой от микроорганизмов [Chamraiboon C. et al., 2009; Foell D. et al., 2007]. Предположительно эти белки регулируют сложный комплекс про- и противовоспалительных эффектов [Halayko A.J., Ghavami S., 2009; Goyette J., Geczy C.L., 2010].

S100-A8 и S100-A9 в определенных случаях имеют различные функции, например, в организме мыши S100-A8 активирует Toll-like рецептор 4, стимулируя эндотоксин-индуцированный воспалительный процесс, в то время как S100-A9, согласно имеющимся данным, выполняет в большей степени регуляторную роль [Vogl T. et al., 2007]. Необходимо отметить, что уровень S100-A8 у пациентов с поражением ВДП практически не изменялся, хотя недавно было обнаружено незначительное снижение уровня S100-A8 при неизменном уровне S100-A9 у сотрудников плавательного бассейна с симптомами патологии ВДП, сходными с таковыми у работников металлообрабатывающей промышленности, имеющих контакт с ТЖ [Fornander L. et al., 2013]. Этот факт, возможно, указывает на то, что нарушение баланса между двумя S100-белками является частым признаком воспалительного процесса верхних дыхательных путей.

SPLUNC1 представляет собой эндотоксин-связывающий белок (также известный как первый член семейства А белков, BPI fold-containing family A member 1 — BPIFA1) — в большом количестве экспрессируется в ВДП. Изначально он рассматривался как потенциальный биомаркер экзогенного раздражения дыхательных путей [Lindahl M. et al., 2001]. Снижение уровня SPLUNC1 было выявлено у работников эпоксидных производств, контактирующих с химическими реактивами, и курильщиков [Ghafouri B. et al., 2002; Ghafouri B. et

al., 2004]. Дальнейшие исследования в этом направлении показали, что SPLUNC1 является важнейшим компонентом врожденного иммунного ответа, который препятствует бактериальному росту и образованию биопленок в ВДП, выступая в том числе в качестве сурфактанта [Lukinskiene L. et al., 2011; Gakhar L. et al., 2010]. SPLUNC1 присутствует в ВДП в значительных количествах.

Роль этого белка подчеркивает и продемонстрированная в недавнем исследовании, необходимость присутствия SPLUNC1 для снижения активности и разрешения длительного воспаления дыхательных путей у лабораторных мышей, контактировавших с углеродными нанотрубками [Di Y.P. et al., 2013].

Цистатин SN относится к надсемейству цистатинов, которые обильно присутствуют в составе слюны и ингибируют цистеиновые пептидазы [Isemura S. et al., 1986]. Соответственно, данный белок выступает как противовирулентный фактор дыхательных путей и препятствует чрезмерному повреждению тканей при развитии воспалительного процесса [Fietta A. et al., 2006; Turk V. et al., 2008]. Было показано, что уровень цистатина S, другого белка из семейства цистатинов, экспрессируемого в ВДП, изменяется у курильщиков [Ghafouri B. et al., 2002]. Наконец, IgJ и β 2-микроглобулин являются компонентами приобретенной иммунной системы, так как они необходимы для синтеза IgM и IgA соответственно, которые, в свою очередь, задействованы в процессе представления антигена [Frutiger S. et al., 1992; Rosano C. et al., 2005].

Учитывая все вышеперечисленное, можно предположить, какие именно изменения иммунной системы могут возникать у работников, контактирующих с ТЖ, в связи с развитием воспалительного процесса в ВДП. В то же время необходимо отметить, что такие результаты были получены в эксперименте со сравнительно небольшой выборкой и для подтверждения достоверности полученных данных необходимы повторные, более масштабные эксперименты. Кроме того, механизмы, лежащие в основе наблюдаемых явлений, пока до конца не изучены. Как цистатины, так и SPLUNC1 оказались мишенями для нейтрофил-эластазы [Jiang D. et al., 2013]. Таким образом, существует вероятность того, что снижение уровня вышеупомянутых белков вызвано более ин-

тенсивным их разрушением, обусловленным активацией нейтрофилов, подтверждается повышенным выбросом S100-A9.

Уровень миелопероксидазы (МПО), фермента, преимущественно обнаруживаемого в азурофильных гранулах и принятого в качестве маркера нейтрофилов, на фоне наличия симптомов патологии ВДП, был несколько повышен, хотя значимых отличий его уровня у работников в зависимости от наличия признаков ВДП обнаружено не было. Кроме того, не было выявлено корреляции между уровнем МПО и уровнями SPLUNC1, цистатина SN, S100-A9, IgJ и β 2-микроглобулина. Соответственно, вопрос о том, может ли контакт с ТЖ, содержащим смесь химически активных и провоспалительных агентов, вызывать токсический ответ в эпителии ВДП, приводящий к угнетению синтеза различных защитных белков, в норме участвующих в иммунном ответе, остается открытым.

Снижение сурфактантных протеидов А и D в плазме крови является критерием тяжести течения БА [Emmanouil P., 2015]. Определение сурфактантных протеидов А, В, С и D в слизи и промывных водах носоглотки предлагается считать диагностическим тестом БА [Gaunsbaek MQ., 2014].

1.7.2 Определение биомаркеров сурфактанта и оксидативного стресса в конденсате выдыхаемого воздуха

Безусловно, для ранней диагностики патологии и определения тяжести ее течения, а также эффективности противовоспалительной терапии заболеваний органов дыхания, в том числе БА, необходимо совершенствовать подходы с учетом современных представлений о молекулярно-клеточных основах патологии легких и верхних дыхательных путей. Нередко симптомы заболевания не отражают выраженность воспаления вследствие различного их влияния на организм и «маскирующего» эффекта бронхолитиков.

Спирометрия и пикфлоуметрия основаны на обнаружении нарушений бронхиальной проходимости и оценивают только функциональные нарушения.

Непосредственное исследование клеток и медиаторов воспаления дыхательных путей может быть проведено с использованием бронхоскопии с лаважем и биопсией, принимаемым как «золотой стандарт» оценки воспаления. Однако метод является инвазивным, травматичным для пациентов, что ограничивает его повторное использование. Анализ индуцированной мокроты - трудоемкий метод, не предоставляющий достаточного объема информации о состоянии дистальных отделов респираторного тракта.

В 1980 году Сидоренко Г.И., Зборовский З.И., и Левина Д.И. предложили использовать для оценки состояния сурфактантной системы легких (ССЛ) исследования конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ). Такой субстрат имел преимуществом атравматичность получения и возможность динамического наблюдения за больным. Неудивительно, что многие исследователи попытались использовать преимущества исследований ССЛ этим способом.

В восьмидесятые года появилось много отечественных работ, в которых, как правило, косвенными (полярографическим или колориметрическим) методами выявлены изменения липидов в КВВ при различных заболеваниях и экстремальных воздействиях [С.В. Бестужева, 1983, 1995, Г.Н. Пичхая, 1990, Н.С. Пилипчук и соавт., 1985]. Были выданы авторские свидетельства, в которых сдвиги показателей КВВ предлагалось использовать как индивидуальные диагностические критерии оценки форм, стадий заболеваний [А.С.№1124918 / Г.Н. Сидоренко, З.К. Зборовский, Д.И. Левина; А.С.№1644064 / Н.С. Пилипчук, В.И. Гремин, Р.Г. Процюк, С. Бульба; А.С. №1684669 / В.А. Березовский, В.Ю. Горчаков] и эффективности их лечения [А.С.№1650140) / Р.Г. Процюк, В.Н. Пилипчук, С.А. Гречин, А.С. №1812492 / Е.В. Клименкова, С.Б. Горелик].

В зарубежной печати к исследованиям КВВ в то время относились критически. Мнение ученых СНГ разделилось. Вышло много статей явных приверженцев метода, однако с точки доказательной медицины, эти работы желали лучшего. Другие ученые, доказывая, что концентрация анализируемых, варьируя от единиц до сотен нанограмм, лежит, как правило, за пределами чувствительности используемых методов и приборов [Александров О.В.,1992], не при-

нимали метод. Третьи [О.А. Яковлева, 1991, 1993, Иванова И.Л., 1992], используя только некоторые показатели, наиболее бесспорные, как, например: влаговыделительная функция, продолжали работать над усовершенствованием метода.

Разработка в конце девяностых годов стандартизированных методик сбора [Н.Е. Давлеталиева, 1993, С.В. Бестужева, 1995, А.Л. Потапов, 1998, М.Н. Прохорова и соавт., 1998.] и анализа биохимического состава КВВ на высокоточных приборах (газовой и жидкостной хроматографии) [Nowaketal., 1996, Antczaket. al. 1997] позволила сделать качественный скачок в теоретической и практической пульмонологии. Метод нашел признание и у зарубежных ученых. В КВВ стали определять почти все классы веществ: полный спектр фосфолипидов, жирных кислот, холестерин, биогенные амины, различные вещества, характеризующие состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, протеолитические и липолитические ферменты и многие др. Исследования изменений ССЛ при различных стадиях и формах болезней, при различных схемах лечения стали проводиться с позиций доказательной медицины [Т.М. Бектурсунов, 2004, В.А. Добрых, И.Е. Мун, 2005].

Если говорить о высокоточном исследовании биофизических свойств КВВ, то пионерами в этом направлении были ученые Кыргызстана. В восьмидесятых-девяностых годах были опубликованы статьи по исследованию поверхностной активности ЖБЛ и КВВ с использованием техники монослоев [Г.В. Белов, А.А.Арбузов, 1886, Г.В. Белов, Н.Н. Бримкулов, 1988, 1989, Г.В. Белов, Н.Н. Бримкулов и соавт., 1988, 1989, 1991, Н.Н. Бримкулов, Г.В. Белов, 1988, 1989, Н.Н. Бримкулов, Г.В. Белов и соавт., 1990-1995]. Затем они продолжали усовершенствовать аппаратуру и методику определения ПН биологических жидкостей, а также стали определять продукты ПОЛ и фосфолипидный спектр КВВ.

В связи с возросшим интересом к исследованиям КВВ мы посчитали целесообразным в данной работе обобщить методические аспекты наших многолетних исследований.

В начале двухтысячных годов многие ученые продолжили поиск неинвазивных методов, которые могут быть использованы в пульмонологической практике, при этом увеличивается интерес к использованию выдыхаемого воздуха как к простому неинвазивному методу для получения образцов из нижних отделов дыхательных путей [Kharitonov S.A., Barnes P.J., 2001]. Бронхиальный секрет дистальных отделов респираторного тракта содержит несколько нелетучих и более 200 летучих соединений, которые составляют первую линию защиты от оксидантов, поступающих с вдыхаемым воздухом (табачный дым, озон, окислы азота), аллергенов, микробной и бактериальной инфекции. Качественные и количественные характеристики этих соединений отражают степень повреждения дыхательных путей, воспалительных изменений и эффективность лечения и могут быть использованы для контроля динамики заболеваний легких и верхних дыхательных путей [Таганович А.Д., 2002].

В последние годы проводились исследования по определению нелетучих макромолекулярных соединений, присутствующих в выдыхаемом воздухе - протеинов, липидов, оксидантов и нуклеотидов. Данные макромолекулы могут выступать в качестве биомаркеров различных патологических процессов, происходящих в ВДП и легких. Для анализа нелетучих субстанций следует осуществлять конденсацию выдыхаемого воздуха путем его охлаждения. В последние годы усилия исследователей были сконцентрированы на определении окиси азота, цитокинов, эйкозаноидов в КВВ, продуктов ПОЛ и АФК в КВВ [Horvath I. et al., 2005; Van Hoydonck P.G. et al., 2004]. При этом выдыхаемый воздух насыщается водяными парами, которые могут быть конденсированы при охлаждении. Хотя большая часть конденсата состоит из водяного пара, он также содержит различные частицы из дыхательных путей. Необходимо выявить источник происхождения аэрозольных частиц (дыхательные пути или альвеолы), которые несут в себе протеины.

Показано, что крупные дыхательные пути являются источником большей части выдыхаемой перекиси водорода (H_2O_2), что основывается на зависимости концентрации H_2O_2 от воздушного потока [Schleiss M.B. et al., 2000]. Количе-

ство аэрозолей, формирующихся в дыхательных путях, зависит от скорости воздушного потока и поверхностного натяжения внеклеточной выстилки. Чем выше скорость потока и меньше поверхностное натяжение, тем больше продукция аэрозолей. Баланс между низкой скоростью и высоким поверхностным натяжением, который обнаруживается на уровне альвеол, определяет продукцию аэрозоля. Кроме того, турбулентные потоки облегчают формирование аэрозоля. Прохождение воздуха через систему охлаждения приводит к конденсации влаги, что делает возможным сбор выдыхаемого воздуха в жидкой или твердой форме.

Количество конденсата, получаемого при выдохе, различается в зависимости от минутной вентиляции. Концентрация H_2O_2 в выдыхаемом воздухе является величиной, зависящей от потока воздуха [Schleiss M.V. et al., 2000]. В настоящее время анализ КВВ является областью активных исследований. В КВВ присутствует большое количество различных маркеров воспаления, которые исследуются как возможные биомаркеры активности патологического процесса. Наиболее часто исследуют H_2O_2 . Пероксид водорода получается путем реакции супероксиданиона O_2 при воздействии супероксиддисмутазы в некоторых клетках [Conner G.E. et al., 2002]. В дыхательных путях пероксид водорода, являясь летучей молекулой, высвобождается при воспалении, его источником являются нейтрофилы, эозинофилы, макрофаги и эпителиальные клетки [Horvath I. et al., 1998]. Обнаружено увеличение уровня H_2O_2 у больных БА, коррелирующее с тяжестью заболевания [Antczak A. et al., 2000], а также при ХОБЛ, бронхоэктазах, муковисцидозе, респираторном дистресс-синдроме, аллергическом рините, общем переохлаждении, системном склерозе [Loukides S. et al., 2002; Sandrini A. et al., 2003].

Отмечено повышение уровня кислотнореактивных соединений тиобарбитуровой кислоты (маркера ПОЛ), снижение уровня глутатиона у пациентов с БА по сравнению со здоровыми людьми. После курса терапии глюкокортикостероидами отмечается снижение концентрации H_2O_2 , МДА и повышение уровня глутатиона [Antczak A. et al., 2000]. Отмечена взаимосвязь между кон-

центрацией выдыхаемой H_2O_2 и количеством эозинофилов в мокроте, гиперреактивностью дыхательных путей при астме различной степени тяжести [Horvath I. et al., 1998]. Также зафиксирована высокая положительная корреляция между уровнями H_2O_2 и соединениями тиобарбитуровой кислоты, в частности МДА. Важно отметить, что увеличение уровня H_2O_2 и МДА у больных БА и ХОБЛ связано со снижением значения объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) [Corradi M. et al., 2004]. В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании продемонстрировано значительное уменьшение уровня H_2O_2 в выдыхаемом воздухе пациентов с БА, которые получали лечение ингаляционными кортикостероидами, по сравнению с плацебо [Antczak A. et al., 2000]. По данным Horvath I. et al. (1998), концентрация H_2O_2 сохраняется повышенной у астматиков с тяжелым нестабильным течением этого заболевания, в то время как уровень выдыхаемого NO у таких больных после лечения кортикостероидами снижался. В качестве причины выявленной закономерности предполагается, что нейтрофилы, которые преобладают в бронхах, особенно при тяжелой астме, продуцируют увеличенное количество супероксидных радикалов.

Другие медиаторы воспаления, уровни которых выявляются при повышенной оксидантной и пероксидазной активности в организме, также привлекли внимание исследователей в качестве полезных биомаркеров у пациентов с БА. Уровень нитрита - стабильного конечного продукта метаболизма NO - у больных БА был выше по сравнению со здоровыми [Ganas K. et al, 2001; Kharitonov S.A. et al., 2002]. Ganas K. et al. (2001) также показали, что уровень нитритов/нитратов в КВВ достоверно повышен у больных атопической БА по сравнению со здоровыми и позитивно коррелировал с концентрацией H_2O_2 .

В последнее время в качестве маркеров воспаления в КВВ у больных БА также изучались изопростаны, продукты перекисного окисления арахидоновой кислоты в результате неэнзиматического действия активных форм кислорода. Эти вещества относительно стабильны и специфичны в отношении процесса пероксидации липидов, что делает их потенциально убедительными биомарке-

рами оксидативного стресса. Наиболее часто исследуется 8-изопростан, принадлежащий к классу изопростанов F₂.

Исследование с участием пациентов с легкой, среднетяжелой или тяжелой БА, выявило увеличение уровня 8-изопростана в КВВ по сравнению со здоровыми людьми [Baraldi E. et al., 2003]. Даже у пациентов с легкой БА уровень 8-изопростана был в 2 раза больше по сравнению со здоровыми, а у больных с тяжелой степенью заболевания, был еще выше, независимо от дозы используемых кортикостероидов.

Исследования, проведенные в последние годы, продемонстрировали увеличение уровня цистеиновых лейкотриенов (ЛТ) и ЛТВ₄ в КВВ у пациентов с БА по сравнению со здоровыми [Bodini A. et al., 2004]. При этом установлено, что лейкотриены высвобождаются из воспалительных клеток дыхательных путей, частично из тучных клеток и эозинофилов, и играют определенную роль при астматическом воспалении дыхательных путей. ЛТВ₄ формируется из арахидоновой кислоты в результате ферментативного гидролиза ЛТА₄, потенциального активатора нейтрофилов и провоспалительных медиаторов. Лейкотриены играют важную роль в патогенезе БА, вызывая сокращение гладкой мускулатуры, повышение сосудистой проницаемости и гиперсекрецию слизи. Показано, что уровень лейкотриенов повышается с утяжелением БА. Blankenburg T. et al. (2000) показали, что концентрация ЛТВ₄ у больных атопической БА достоверно выше, чем у здоровых. В других исследованиях было продемонстрировано, что уровень ЛТВ₄ в КВВ увеличивался с нарастанием тяжести БА у взрослых и детей [Csoma Z. et al., 2001].

В качестве еще одного из параметров может быть использован показатель рН дыхательных путей, который поддерживается с помощью баланса различных буферных систем, продукции и высвобождения кислот и оснований. J.Hunt et al. (2000) использовали КВВ для определения рН в выдыхаемом воздухе у пациентов с БА и в контрольной группе. Было показано, что у больных БА значение рН было сравнимо с тем, которое определяется в мокроте и было сходно с уровнем рН в бронхоальвеолярном лаваже. Предполагают, что увели-

чение кислотности в просвете дыхательных путей может объяснить увеличение уровня выдыхаемого NO [Effros R., 2001].

Показано, что уровни малонового диальдегида (МДА), NO, 8-изопростана, тиобарбитуровой кислоты и других метаболитов, выявляемых в слизи и выдыхаемом воздухе, дают возможность оценить тяжесть БА, особенности ее течения [Zuo L. et al., 2013].

Показано, что гены таких ферментов, как миелопероксидаза, супероксид-дисмутаза, а также гены β -цепи цитохрома B245 и другие влияют на формирование ответа клеток при бронхиальной астме с выработкой активных форм кислорода [Tang W. et al., 2014]. С этими механизмами связан метаболический путь мочевины и аргинина, в котором участвуют индуцируемая NO-синтаза и аргиназа 1, играющие важнейшую роль в патогенезе заболевания [Breton C.V. et al., 2011; Cloots R.H. et al., 2013; North M.L. et al., 2009]. При БА индуцированная NO-синтаза в клетках дыхательных путей участвует в синтезе NO из L-аргинина, обеспечивая субстрат для образования активных форм азота, изменяющих функции белков нитрированием тирозиновых остатков. Все эти реакции способствуют усилению воспаления и повреждению клеток и тканей [Chini L. et al., 2013; Schofield M.L., 2014]. Активация аргиназы снижает количество доступного для индуцируемой NO-синтазы L-аргинина, она увеличивает уровень L-орнитина, способствующего ремоделированию дыхательных путей, обусловленному отложением коллагена и выраженной пролиферации клеток [Ghosh S., Erzurum S.C., 2011].

Наиболее часто с использованием этих методов измерялась парциальная концентрация оксида азота (NO) в выдыхаемом воздухе, и было показано, что уровень данного показателя может быть использован как маркер эозинофилии мокроты.

Установлено, что относительное содержание эозинофилов в составе мокроты более 3% ассоциировано с большей величиной ответа на терапию кортикостероидами, в то время как больные с неэозинофильной астмой (при относительном содержании эозинофилов в мокроте менее 3%) хуже реагируют на та-

кое лечение [Pavord I.D. et al., 1999]. Недавно было показано, что такой клинически значимый пороговый уровень эозинофилии мокроты связан с пороговым значением парциальной концентрации NO в выдыхаемом воздухе 42 миллиардных доли (ppb, partsperbillion). Эти данные могут быть применены в клинической практике для дифференциальной диагностики эозинофильной и неэозинофильной бронхиальной астмы, а также для безопасной, быстрой и неинвазивной оценки эффективности противовоспалительной терапии [Schleich F.N. et al., 2010].

Метод был подвергнут дальнейшему усовершенствованию, в результате чего стала возможна оценка вклада центральной и периферической составляющих в общую парциальную концентрацию NO в выдыхаемом воздухе с учетом вентиляционной гетерогенности [Verbanck S. et al., 2010]. В то же время Williamson P.A. et al. (2011) предложили новый метод коррекции уровня продукции NO в дыхательных путях, который позволяет более точно оценить уровень альвеолярной продукции NO, а также уровень эозинофилии. Помимо оценки парциальной концентрации NO в выдыхаемом воздухе и эозинофилии важна концентрация N ϵ -лизина (карбоксиметиллизина, КМЛ), маркера хронического воспаления и оксидативного стресса в альвеолярных эпителиальных клетках, которая может быть измерена в индуцированной мокроте. Уровень этого маркера был в значительной мере повышен у больных БА [Kanazawa H. et al., 2010]. Кроме того, в последнее время также было обнаружено несколько новых биомаркеров, выявляемых в выдыхаемом воздухе, уровни которых связаны с воспалением, в том числе эндотелин-1 [Zietkowski Z. et al., 2010], эотаксин-1 [Zietkowski Z. et al., 2010], RANTES [Zietkowski Z. et al., 2011] и пероксид водорода. Sethi J.M. et al. (2010) показали, что уровни выдыхаемых оксида углерода (II) (CO) и NO изменяются в зависимости от типа используемой бронхопровокационной ингаляционной пробы (проба с метахолином или проба с аллергеном), а именно: воспалительный стимул, то есть воздействие аллергена, оказывает прямой положительный эффект на уровень NO, однако не влияет на уровень CO.

Вышеприведенные данные свидетельствуют о том, что в последние годы в качестве методов клинической оценки воспаления и оксидативного стресса в дистальных отделах респираторного тракта при различных заболеваниях дыхательной системы, в том числе при бронхиальной астме, предложены неинвазивные методы исследования состава индуцированной мокроты, состава выдыхаемого воздуха и состава дыхательного конденсата (конденсата выдыхаемого воздуха).

Заключение по главе

Анализ литературных данных показал, что к настоящему времени обнаружен целый ряд новых молекул, играющих роль в развитии локальных проявлений заболеваний верхних дыхательных путей и бронхиальной астмы. Фундаментальные и клинические исследования выявили ряд факторов, потенциально пригодных в качестве мишеней для таргетной терапии [Hansbro P.M. et al., 2013; Katoh S. et al., 2013; Pelaia G. et al., 2012]. Безусловно, эти достижения в изучении патофизиологии заболевания, в особенности клеточных и молекулярных механизмов, которые лежат в основе патогенеза резистентной формы заболевания, в перспективе могут быть использованы для обоснования новых направлений терапии БА, заболеваний легких и ВДП.

Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют, о повышенном уровне заболеваемости болезнями дыхательных путей у лиц, подвергающихся влиянию неблагоприятных факторов профессиональной деятельности, в частности, у работающих в непосредственном контакте с ТЖ, у пожарных, у лиц, подвергающихся воздействию частиц дизельных выхлопов. Показана повышенная частота симптомов со стороны дыхательной системы у работников металлообрабатывающей промышленности, что, по мнению авторов, в значительной мере обусловлено изменениями профиля ряда факторов защиты, «иммунных белков».

Многие авторы сходятся в том, что профилактические меры могут эффективно улучшить условия на рабочем месте и, соответственно, состояние здоровья работников. Так, для снижения вероятности развития производствен-

но-обусловленной патологии органов дыхания при воздействии комплекса токсических веществ на медицинских осмотрах рекомендуется оценивать вероятность риска развития донозологических нарушений состояния эндоекологии верхних дыхательных путей. Лицам с донозологическими нарушениями могут быть рекомендованы различные ингаляции, санирующие полоскания и промывания ВДП отварами противовоспалительных трав.

Одним из определяющих аспектов снижения риска неблагоприятных последствий влияния профессиональных факторов на организм лиц с заболеваниями ВДП, БА и подвергающихся воздействию токсических веществ, является раннее выявление донозологических нарушений. В связи с особенностями применения и отсутствием нарушений психологического комфорта для обследуемых все больше специалистов отдают предпочтение использованию неинвазивных методов исследования. Исследователи сходятся в том, что с помощью будущих исследований необходимо уточнить механизмы развития воспаления для конкретных компонентов этих веществ, оценить физиологические и патологические сдвиги, развивающиеся в организме при воздействии микроорганизмов, аллергенов, токсикантов, и сопутствующие им биомаркеры. Выявление ранних изменений на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях позволит получить информацию о направленности действия изучаемых факторов, позволит наметить пути их патогенетически обоснованной коррекции и даст возможность научно обосновать прогностические критерии риска развития воспалительных, профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний органов дыхания.

Накопленные данные позволяют предположить, что воспалительный процесс может развиваться во всех отделах дыхательных путей. Несмотря на то, что клиническая значимость патологических процессов в мелких дыхательных путях и легочной паренхиме у пациентов с заболеваниями ВДП и бронхиальной астмой недостаточно изучена, существует вероятность того, что плохо контролируемое воспаление в дистальных отделах дыхательных путей, куда затруднена доставка обычных ингаляционных кортикостероидных препаратов,

может вносить значительный вклад в ускоренное снижение функции легких и ремоделирование воздухоносных путей. Хотя природа процесса ремоделирования стенки бронхиального дерева в проксимальных его отделах изучена достаточно хорошо, доступно весьма ограниченное количество информации о структурном ремоделировании бронхиальной стенки в дистальных отделах дыхательных путей.

Существует необходимость дальнейшего изучения воспалительного процесса в периферических отделах бронхиального дерева и легочной паренхиме у больных различного возраста и с астмой различной степени тяжести. Выявление и ранняя диагностика дисфункции дыхательных путей являются критически важными, так как лечение заболевания на ранних стадиях может позволить эффективно обратить ремоделирование дыхательных путей и остановить прогрессирование фиброза и развитие необратимого повреждения дыхательных путей у больных с бронхиальной астмой легкой и средней степени тяжести. Анализ литературных данных свидетельствует о потребности в разработке точного неинвазивного метода оценки воспалительного процесса в дистальных отделах дыхательной системы.

Таким образом, изучение такой социально значимой группы болезней, как заболевания дыхательных путей, с точки зрения системной биологии позволяет по-новому взглянуть на патогенез заболевания за счет более детального подхода к анализу каждого компонента в динамике, а также предоставляет широкие возможности для разработки и совершенствования эффективных способов диагностики и терапии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование включала экспериментальную и клиническую часть.

2.1 Экспериментальная часть

2.1.1 Характеристика экспериментальных моделей

Экспериментальная часть решала задачу разработки методики определения поверхностной активности сурфактанта слизистых глаза, полости носа, среднего уха, влагалища у экспериментальных животных и оценить их адекватность при моделировании токсического и аллергического конъюнктивита и синуситов. Эксперименты поставлены на 30 кроликах породы шиншилла массой 1,5-2 кг.

Животным контрольной группы (n-6) ни каких воздействий не проводили. Другой группе кроликов воздействовали на шерсть мордочки формалином (10 мл) и оставляли на 1 час в тесной не проветриваемой камере. Третью группу животных сенсибилизировали введением внутрибрюшино 0,3 мг сухого яичного белка и 30 мг гидроксида алюминия, растворенных в 2 мл физиологического раствора. На 15-19 день после этого закапывали в каждую ноздрю раствор яичного белка, и на 5 день получали модель аллергического воспаления, подтвержденного цитологически и гистологически. Кроликам 4 группы в течение 5 дней вводили ежедневно внутрибрюшинно амброксол из расчета 30 мг/кг. Кроликов 5 группы сенсибилизировали введением внутрибрюшино 0,3 мг сухого яичного белка и 30 мг гидроксида алюминия, растворенных в 2 мл физиологического раствора. На 15-19 день после этого закапывали в каждую ноздрю раствор яичного белка на фоне ежедневных внутрибрюшинных инъекций амброксола из расчета 30 мг/кг.

Прижизненно собирался смыв конъюнктивы, путем закапывания физраствора пипеткой в конъюнктивальный мешок и последующего отсасывания, а также конденсат выдыхаемого воздуха.

Смывы внутреннего уха, полости носа и влагалища собирали посмертно, вводя физиологический раствор порциями до получения 1 мл жидкости. Смыв внутреннего уха получали путем прокола барабанной перепонки. Возможность исследования ПА сурфактанта легких и перекисного окисления липидов в КВВ у экспериментальных животных (кроликах) была впервые показана Беловым Г.В. и соавт., 1992. КВВ собирался при помощи резиновой маски с клапаном и выпускником в нижней части. Кроликов фиксировали на животе. Воздух из выпускника через полимерную трубку направлялся в конденсатор, помещенный в сосуд со льдом. В течение 10-15 минут удается собрать 1-2 мл конденсата. Кроликов забивали кровопусканием из яремной вены под гексеналовым наркозом с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

2.1.2 Методы исследования в эксперименте

В эксперименте применен комплекс исследований включающий биофизические, биохимические, гистологические и гистохимические методы.

Для биофизических исследований использовано измерение динамического изменения поверхностного натяжения (ПН) при моделировании дыхательного цикла по методу Clements, которое является наиболее информативным методом определения поверхностной активности жидкостей. Поверхностную липидную пленку сжимают в кювете поверхностных весов изменении от 100% площади поверхности к 20% и обратно, фиксируя величину ПН максимального и минимального, и на их основе рассчитывая индекс стабильности (ИС).

При классическом исследовании требуется 100 мл анализируемой жидкости – смыва, экстракта. Возможно разбавление 10 мл субстрата до 100 мл.

Ранее Белов Г.В. и соавт., 1988 предложил использовать метод монослоев с изопропиловым спиртом, требующий около 1 мл субстрата для анализа. При этом к анализируемой жидкости добавляется равное количество изопропилового спирта, смесь встряхивается и анализируется на тензиоспектрометре.

Добившись того, чтобы величина ПН физиологического раствора равнялась 71-73 мН/м и при сжатии поверхностного слоя не менялась более чем на 1 мН/м, на поверхность физиологического раствора при помощи пастеровской пипетки с оттянутым носиком наслаивается анализируемая смесь каплями, следя, чтобы ПН субфазы снизилось до 50 мН/м и далее не возрастало.

Количество капель может быть дополнительным показателем, указывающим на концентрацию ПАВ в анализируемом субстрате.

Затем включается движение барьеров и регистрируется ПН мин при площади поверхности монослоя в кювете равном 20 см² и ПН макс – при площади 100 см². При повторном цикле величина ПН мин и ПН макс не должна разниться от первоначального результата более 1 мН/м. На основе этих показателей высчитывается ИС по формуле Clements.

$$ИС = \frac{2 \text{ (ПН макс} - \text{ПН мин)}}{\text{ПН макс} + \text{ПН мин}}$$

Биохимические методы включали: определение концентрации общего белка и общих липидов в 1 мл субстрата на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «БИАЛАБ-100», определение суммарных липидов, гидроперекисей, диеновых конъюгат спектрофотометрически в единицах оптической плотности по Гаврилову Мишкорудной, 1987. Окислительный индекс рассчитывался как отношение гидроперекисей к суммарным липидам.

Из кусочков слизистых с подлежащими тканями готовились замороженные срезы, окрашиваемые суданом черным и кофеин-бензпиреном по Бергу, и парафиновые срезы, окрашиваемые гематоксилином-эозином.

2. 2 Клиническая часть

Для решения поставленных задач в период с 2011 по 2014 гг. на базе Ошской межобластной детской клинической больницы проведено обследование 215 детей, которые были разделены на 3 группы:

- 58 здоровых детей (1 группа – контрольная);
- 74 ребенка (группа 2) – часто болеющие дети;
- 83 ребенка (группа 3) – дети с бронхиальной астмой.

Родители (законные представители) всех детей, включенных в исследование, подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Детям проводили стандартное клинико-anamнестическое исследование. Для сбора необходимой информации проводили собеседования с родителями и детьми, осуществляли изучение медицинской документации (медицинских карт развития детей, историй болезни, выписок из лечебных учреждений).

Проводили опрос, оценку жалоб, анамнеза заболевания, анамнеза жизни. Оценивали общее состояние больных, клинические проявления заболеваний и данные клинических, инструментальных и лабораторных исследований.

В процессе наблюдения за больными регистрировали частоту обострений БА, частоту острых респираторных вирусных заболеваний и связанных с ними госпитализаций.

Результаты обследования контрольной группы использовали в качестве референтных значений для сравнительной оценки при анализе данных клинико-лабораторных показателей больных БА и ЧБД.

На первом этапе было произведено полное клиническое обследование больных с оценкой общего состояния, изучением показателей функции внешнего дыхания, оценкой уровня контроля БА по АСТ у пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания. В дальнейшем в ходе проводимого лечения оценивали динамику клинических и лабораторных показателей в группах детей. Оценку проводили до начала лечения, сразу после его окончания (спустя 1 месяц), а также через 3 и 6 месяцев.

2.2.1 Характеристика обследуемых детей

Распределение пациентов по возрасту, полу, средней длительности заболевания приведено в таблице 2.1. Средний возраст детей контрольной группы составил $13,9 \pm 2,1$ лет, в группе ЧБД был практически таким же $-13,7 \pm 1,8$ лет, а у детей с БА несколько ниже $-12,8 \pm 2,6$ лет, но достоверно не отличался от значений в остальных группах. Доля мальчиков в контрольной группе составила 51,7 %, в группе ЧБД – 52,8 %. Несколько выше было значение этого показателя в группе детей с БА – 54,2 % мальчиков. Относительное количество девочек также существенно не различалось, составив от 45,8 % до 48,3 % в группах обследуемых детей.

Длительность заболевания в группе ЧБД составила $9,9 \pm 2,1$ лет, у детей с БА – $7,7 \pm 3,5$ лет.

Таблица 2.1 - Распределение пациентов по возрасту и полу и длительности заболевания

Параметр		Группа 1 (контрольная) (n=58)	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)	Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)
Возраст, лет		$13,9 \pm 2,1$	$13,7 \pm 1,8$	$12,8 \pm 2,6$
Пол	Мальчики	30 (51,7 %)	39 (52,8 %)	45 (54,2 %)
	Девочки	28 (48,3%)	35 (47,3%)	38 (45,8 %)
Длительность заболевания (лет)		-	$9,9 \pm 2,1$	$7,7 \pm 3,5$

Распределение детей с БА по длительности заболевания представлено в таблице 2.2.

Таблица 2.2 - Длительность бронхиальной астмы у обследованных детей

Длительность течения, годы	Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%
1 – 2	5	6,0
3 – 4	19	22,9
5 – 6	26	31,3
Более 6 лет	33	39,8

Как видно, меньше всего было детей с длительностью болезни 1-2 года - 5 человек (6,0 %), в течении 3-4 лет болели 19 детей (22,9 %). Максимальными были количества детей с длительностью заболевания 5-6 лет – 26 человек (31,3 %) и более 6 лет – 33 ребенка (39,8 %).

Частота различных жалоб у обследуемых детей представлена в таблице 2.3.

Таблица 2.3 - Жалобы обследуемых детей

Жалобы	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%
Затруднение дыхания, удушье, одышка	5	6,8	56	67,5*
Свистящее дыхание	-	-	24	28,9 *
Кашель	43	58,1	62	74,7*
Заложенность носа	30	40,5	26	31,3
Потребность в бронхо- литиках	-		6,5 вдоха в сут	

Примечание: * - различия достоверны (при $p < 0,05$) относительно значения в группе 2 (ЧБД) по критерию χ^2

Как видно, у них выявлялись затруднение дыхания, одышка и удушье (в первую очередь у детей с БА). Частота кашля была выше у детей с БА и составила 74,7 %, тогда как в группе ЧБД - 58,1 %.

Частота заложенности носа у больных группы 2 отмечена в 40,5 % случаев, тогда как у детей с БА – в 31,3 % случаях. Свистящее дыхание выявлялось только у детей с БА, частота этого признака составила 28,9 %.

Таким образом, оценка жалоб обследуемых больных при поступлении показала, что затруднение дыхания, одышка, удушье и кашель в группе пациентов, как правило, отмечаются у детей с БА, потребность в бронхолитиках, которая в среднем составила 6,5 вдоха в сутки, коррелировала с тяжестью заболевания у детей этой группы.

Результаты оценки распределения пациентов с БА по уровню контроля заболевания по шкале АСТ представлены в таблице 2.4.

Уровень АСТ 5-9 баллов был определен у 56,6 % детей, 10-14 - в 43,4 % случаях. Более высокие значения этого показателя не были выявлены ни у кого из обследуемых пациентов, таким образом, в обследуемой выборке не было больных с контролируемой БА

Таблица 2.4 - Уровень контроля БА у пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания в соответствии с оценкой по АСТ

Уровень АСТ, баллы	Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%
5 – 9	47	56,6
10 – 14	36	43,4
15 – 19	-	-

Сравнение частоты различных проявлений аллергии у обследуемых детей показала, что чаще всего в обеих группах отмечалась пищевая аллергия: в группе ЧБД – у 22 детей (29,7 %), а у детей с БА – достоверно чаще ($p < 0,05$) - в 52 случаях (62,7 %) (таблица 2.5).

Таблица 2.5 - Особенности аллергоанамнеза у обследованных детей

Виды аллергии	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%
Пищевая аллергия	22	29,7	52	62,7*
Поствакцинальная аллергия	16	21,6	35	42,2*
Лекарственная аллергия	5	6,8	21	25,3*

Примечание - * - различия достоверны (при $p < 0,05$) относительно значения в группе 2 (ЧБД) по критерию χ^2

Поствакцинальная аллергия была выявлена у 16 часто болеющих детей, что составило 21,6 %, и достоверно чаще у детей с бронхиальной астмой в 35 случаях (42,2 %). Лекарственная аллергия также чаще отмечалась у обследуемых с БА: если в группе ЧБД она была отмечена у 5 детей (6,8 %), то в группе больных бронхиальной астмой – значимо чаще ($p < 0,05$) – у 21 ребенка (25,3 %).

Анализ частоты выявления микрофлоры носоглотки показал, что наиболее часто у обследуемых детей высевался *Staphylococcus aureus*: в группе ЧБД у 35 детей (47,3 %) и с такой же частотой у детей с БА – в 39 случаях (47,0 %) (таблица 2.6).

На втором месте по частоте был *Streptococcus pyogenes*, этот микроорганизм высевался у 22 часто болеющих детей (29,7 %) и несколько чаще – у детей с БА – в 28 случаях (33,7 %).

Enterococcus faecalis был определен в группе ЧБД у 16 детей (21,6 %), практически так же часто и в группе БА – у 19 детей (23,0 %).

У 11 часто болеющих детей была высеяна *Klebsiella pneumoniae*, что составило 14,9 %, в группе детей с БА значение этого показателя было несколько ниже – 17 случаев (10,8 %).

Таблица 2.6 - Микрофлора носоглотки у обследованных детей

Микроорганизмы	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	47,3	39	47,0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	22	29,7	28	33,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	16	21,6	19	23,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	14,9	9	10,8
<i>Candida albicans</i>	4	5,4	8	9,6

Candida albicans высевался у 4 детей из группы ЧБД, что составило 5,4 %, а у больных БА чаще – в 8 случаях (9,6 %). Однако сравнение не выявило значимых межгрупповых различий по частоте выявления тех или иных микроорганизмов в слизистой носоглотки.

Оценка частоты наличия различных сопутствующих заболеваний показала, что группы детей были сопоставимы по этим характеристикам, значимых межгрупповых отличий выявлено не было. Так, дискинезия желчевыводящих путей была выявлена у 21 ребенка из группы ЧБД (28,4 %), а в группе детей с БА – у 25 пациентов (30,1 %) (таблица 2.7).

Дисбактериоз наблюдался у 30 часто болеющих детей (40,5 %), а больных с астмой несколько чаще – в 37 случаях (44,6 %).

Гастродуоденит был выявлен у 18 детей группы ЧБД (24,3 %), в группе детей с БА – у 27 обследуемых, что составило 32,5 %.

У 3-х часто болеющих детей был выявлен лямблиоз (4,1 %), тогда как у детей с БА эта патология отмечена в 7 случаях (8,4 %).

Дисплазия соединительной ткани диагностирована в 4 случаях в группе ЧБД (5,4 %), и у 6 детей с бронхиальной астмой (7,2 %).

Таблица 2.7 - Структура сопутствующих заболеваний у обследованных детей

Заболевания	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%
Дискинезия желчных путей	21	28,4	25	30,1
Дисбактериоз	30	40,5	37	44,6
Гастродуоденит	18	24,3	27	32,5
Лямблиоз	3	4,1	7	8,4
Дисплазия соединитель- ной ткани	4	5,4	6	7,2

Отягощенная по аллергии наследственность закономерно чаще наблюда-лась у детей с БА. Так, в группе ЧБД ее частота составила 36,5 % (27 случаев), в то время как в группе детей с БА значение этого показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) – отягощенная по аллергии наследственность была выявлена у 65 пациентов (78,3 %) (таблица 2.8).

Однако семейная предрасположенность к ЛОР-заболеваниям чаще отме-чалась в группе ЧБД – у 25 детей (33,8 %), тогда как в группе у детей с БА было 16 таких пациентов (19,3 %), при этом достоверных межгрупповых разли-чий выявлено не было.

Рецидивирующие респираторные заболевания были в анамнезе всех ча-сто болеющих детей - 74 ребенка (100 %), в то время как в группе обследуемых с БА значение этого показателя было в 3 раза ниже ($p < 0,05$) - 31,3 % (26 де-тей).

Аномалии конституции наблюдались чаще у детей группы ЧБД – в 28 случаях (37,8 %), тогда как у больных астмой несколько реже ($p > 0,05$) – у 17 детей (20,5 %).

Таблица 2.8 - Особенности анамнеза обследованных детей

Анамнестические данные	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%
Отягощенная по аллергии наследственность	27	36,5	65	78,3*
Семейная отягощенность по ЛОР-заболеваниям	25	33,8	16	19,3
Рецидивирующие респиратор- ные заболевания	74	100	26	31,3*
Аномалии конституции	28	37,8	17	20,5

Примечание - * - различия достоверны (при $p < 0,05$) относительно значения в группе 2 (ЧБД) по критерию χ^2

Результаты анализа факторов риска у обследуемых детей представлены в таблице 2.9.

Изучение течение беременности и родов у матерей обследуемых детей показало, что гестоз отмечался в 34 случаях (46,0 %) у матерей часто болеющих детей и с такой же частотой у матерей детей с БА – в 39 случаях (47,0 %).

Угроза прерывания беременности была в анамнезе у 14 матерей группы ЧБД (18,9 %) и в 10 случаях (12,1 %) в группе БА. Преждевременное излитие околоплодных вод было отмечено во время беременности матерей группы ЧБД в 5 случаях (6,8 %), тогда как у матерей детей с БА – в 4 случаях (4,8 %).

Кесарево сечение было выполнено в 7 случаях в группе ЧБД (9,5 %) и у 9 матерей в группе детей с БА – 9 детей (10,8 %).

Частота заболеваний ОРВИ, а также обострения болезней ЛОР-органов существенно не различалась в группах обследуемых детей.

Следует отметить, что очаги инфекции в ротовой полости несколько чаще были выявлены у матерей ЧБД, чем в группе детей с БА, хотя значимых межгрупповых отличий при этом выявлено не было.

Таблица 2.9 - Патология беременности и родов у матерей обследованных детей

Характеристики	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%
Гестоз	34	46,0	39	47,0
Угроза прерывания беременности	14	18,9	10	12,1
Преждевременное излитие околоплодных вод	5	6,8	4	4,8
Кесарево сечение	7	9,5	9	10,8
ОРВИ	9	12,2	5	6,0
Очаги инфекции в ротовой полости	19	25,7	12	14,5
Злоупотребление аллергенами	25	33,8	42	50,6*
Асфиксия	4	5,4	2	2,4
Интракраниальная травма	8	10,8	12	14,5
Недоношенность	5	6,8	6	7,2
Низкая масса при рождении	6	8,1	5	6,0
Высокая масса при рождении	7	9,5	10	12,1
Позднее прикладывание к груди	8	10,8	9	10,8
Раннее искусственное вскармливание	43	58,1	52	62,7
Атопический статус	45	60,8	65	78,3
Экопатогенные факторы	59	79,7	57	68,7
Пассивное курение	30	40,5	26	31,3

Примечание - * - различия достоверны (при $p < 0,05$) относительно значения в группе 2 (ЧБД) по критерию χ^2

Злоупотребление аллергенами было выявлено в 25 случаях (33,8 %) у матерей группы ЧБД, тогда как в группе детей с БА значение этого показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) - 42 случая (50,6 %).

Не было отмечено существенных различий в группах обследуемых по частоте таких факторов риска в период беременности и родов, как интракраниальная травма, недоношенность, низкая и высокая масса при рождении.

Позднее прикладывание и раннее искусственное вскармливание несколько чаще отмечались в группе детей с астмой, чем в группе ЧБД, хотя значимых различий по этим показателям выявлено не было ($p > 0,05$).

Атопический статус у матерей закономерно с высокой частотой был отмечен в группе детей с БА - в 65 случаях (78,3 %), хотя и в группе ЧБД частота этого фактора риска у матерей также была достаточно высокой – 45 случаев (60,8 %). Экопатогенные факторы риска, которые могли действовать на матерей обследуемых детей во время беременности, были отмечены несколько чаще в группе ЧБД – в 59 случаях (79,7 %) , тогда как в группе с БА – в 57 случаях (68,7 %). Пассивное курение отмечалось в анамнезе матерей 30 часто болеющих детей (40,5 %), а в группе детей с БА – в 26 случаях (31,3 %).

В целом, за исключением более частого злоупотребления аллергенами у матерей детей обследуемых групп значимых отличий по частоте различных факторов риска во время беременности и родов выявлено не было.

2.2.2 Методы исследования в клинике

2.2.2.1 Клиническое обследование

Пациенты, включенные в исследование, прошли стандартное клиническое обследование в первый день госпитализации. В частности, изучали аллергоанамнез больных, выполняли кожные пробы для выявления аллергенов.

Для выявления степени нарушения бронхиальной проходимости изучали функцию внешнего дыхания (ФВД) с определением показателей жизненной емкости легких (ЖЕЛ), объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), пиковой скорости выдоха (ПСВ), МОС25% МОС50% МОС75% с помощью спирографии и пикфлоуметрии. Оценку показателей проводили по системе должных величин.

Все пациенты были опрошены с помощью теста контроля астмы – Asthma Control Test (ACT). ACT был разработан в 2002 году компанией Quality

Metric Incorporated, в 2003 г. представлен на Международном конгрессе по алергологии и иммунологии, а в 2004 г. появилась валидизированная русскоязычная версия [Белевский А.С., 2005].

Тест состоит из 5 вопросов, ответы на которые, оцениваются в баллах от 1 до 5. Опросник отражает изменение состояния пациента за последние 4 недели: нарушение качества жизни, дневные и ночные приступы, потребность в применении препаратов «скорой помощи», а также оценивается контроль над астмой самим пациентом.

Интерпретация результатов АСТ проводится по сумме баллов: сумма 25 баллов означает полный контроль; 20–24 балла – астма контролируется хорошо, но не полностью; 19 баллов и меньше – неконтролируемая астма, 14 – критический уровень.

2.2.2.2 Биохимические исследования

У детей, включенных в исследование, был выполнен сбор конденсата выдыхаемого воздуха по методу Белова Г.В. и др. (2005), а также назальных смывов общепринятым методом. В этих биологических средах определяли показатели поверхностного натяжения, а также концентрации ряда веществ и показатели: уровни суммарных липидов, гидроперекисей, диеновых конъюгат, оценивали окислительный индекс.

Определение поверхностной активности (ПА) эндоназальных смывов (ЭНС) и конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) на тензиоспектрометре ТСМ-001, спектрофотометрическое определение продуктов перекисного окисления липидов ПОЛ, каталазы в ЭНС и КВВ.

Эндоназальные смывы получали введением по очереди в одну ноздрю и отсасыванием из другой ноздри медицинским вакуумным отсосом физиологического раствора. Детям вводили по 100 мл физраствора. Исследование проводилось в первой порции промывных вод (20 мл), так как в некоторых случаях затем использовался физраствор с добавлением лекарственных препаратов.

КВВ получали утром натощак в условиях основного обмена, химически чистую стеклянную колбу помещали в емкость со льдом, и ребенок в течение 10 минут выдыхал в нее через загубник и соединительную трубку воздух, не форсируя дыхание, собирали 2-5 мл конденсата.

Также оценивали оценку активности процессов свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы у обследуемых пациентов в плазме крови. При этом определяли концентрации диеновых конъюгат, малонового диальдегида, активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД).

Определение малонового диальдегида в крови проводили флуориметрическим методом, основанном на том, что тиобарбитуровая кислота в кислой среде взаимодействует с низкомолекулярными диальдегидами (главным образом с малоновым) с образованием окрашенного в розовый цвет комплекса [Меньшиков В.В. и др., 1987].

Определение диеновых конъюгат в плазме крови осуществляли по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов, который основан на измерении интенсивности поглощения в области 232-234 нм, обусловленной конъюгированными диеновыми структурами (предварительно экстрагированными из плазмы), возникающими при образовании гидроперекисей полиненасыщенных жирных кислот [Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И., 1987]. Окислительный индекс (ОИ) вычисляли по отношению оптической плотности гидроперекисей к оптической плотности суммарных липидов.

Активность каталазы оценивали методом, основанным на определении скорости разложения перекиси водорода мМ/мин спектрофотометрически при длине волны 230 нм. Для стабилизации гемолизата и разложения комплекса каталаза - H_2O_2 добавляли этанол [Меньшиков В.В. и др., 1987].

Определение активности супероксиддисмутазы осуществляли методом, предложенным Костюк В.А. и др. (1990), основанным на реакции окисления кверцетина.

2.2.2.3 Иммунологические исследования

Показатели Т и В –лимфоцитов и иммунорегуляторных субпопуляций Т-клеток (Т-хелперы и Т- супрессоры) определяли методом непрямой иммунофлуоресценции по Р.М.Халитову с соавторами (1995) с помощью моноклональных антител [М.И.Китаев и К.А.Собуров, 2009].

При изучении иммунного статуса наряду со стандартным определением содержания в крови эритроцитов и лейкоцитов, подсчета лейкоцитарной формулы, исследованы следующие показатели: определяли количество лимфоцитов, несущих детерминанты CD 3, 4, 8, 16, 22, 25, с помощью моноклональных антител («МедБиоСпектр», Москва) в лимфоцитотоксическом тесте.

Содержание иммуноглобулинов изотипов А, М и G определяли с помощью ИФА методом двойных антител.

Определение количества общего IgE в сыворотке крови выполняли методом ИФА с использованием наборов реактивов производства «Алкор Био» (Санкт-Петербург). Измерение осуществляли в Международных единицах общего IgE (1 Международная единица =2,4 нг IgE по стандартной кривой калиброванной против второго IgE Международного референс препарата (ВОЗ 75/502).

Определение концентраций цитокинов ФНО-альфа и ИФН-гамма было выполнено методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем производства компании «Вектор-Бест» (Россия).

Исследование функциональности нейтрофилов проводили с помощью теста спонтанного и активированного восстановления нитросинеготетразолия (НСТ-тест).

Функциональную переваривающую активность нейтрофилов оценивали также по активности миелопероксидазы и лизосомальных катионных белков.

2.2.2.4 Цитологические исследования

В ходе наблюдения за детьми, включенными в исследование, анализировали цитологическую картину отделяемого слизистой оболочки полости носа. Мазки-отпечатки готовили нанесением отделяемого, собранного с помощью ватных туфферов, на предметное стекло с последующей фиксацией смесью Никифорова. Мазки окрашивали по Романовскому-Гимзе, оценивали процентное содержание в них фагоцитирующих клеток: нейтрофилов и макрофагов.

2.2.2.5 Микробиологические исследования

С учетом наличия хронических очагов инфекции в слизистой носоглотки у обследуемых детей изучали микрофлору слизистой носа и зева до лечения и после лечения. Взятие материала производили утром натошак со слизистой оболочки носа и зева, материал помещали в стерильную пробирку, направляли на исследование в лабораторию, где его засевали на дифференциально-диагностические среды для выявления условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

2.2.3 Методы лечения больных

Часто болеющим детям проводили комплекс лечебно-оздоровительных мероприятий в условиях низкогорья, включающий лечебную физкультуру, санацию внелегочных очагов инфекции с применением физических факторов (ингаляции 3% раствором кочкорской соли, электромагнитное поле ультравысокой частоты, сверхвысокой частоты сантиметрового), а также УФО в эритемных дозах рефлекторно-сегментарных зон тремя полями вдоль позвоночника. Кроме того часто болеющие дети получали 2 мл аброксола для ингаляций через небулайзер в течение 10 дней.

В настоящее время общепризнанно, что основная цель терапии БА - достижение устойчивой ремиссии и высокого качества жизни пациентов. Основой лечения бронхиальной астмы является базисная противовоспалительная терапия, под которой понимают регулярное длительное применение препаратов, купирующих аллергическое воспаление в слизистой оболочке дыхательных путей. Все дети, включенные в наше исследование, регулярно получали базисную терапию бронхиальной астмы в зависимости от степени тяжести.

Лечение больных осуществляли в соответствии с консенсусом «Глобальная инициатива по бронхиальной астме, 2014 (GINA 2014) [Ненашева Н.М., 2014]. У больных БА при обострении применяли в/в капельно глюкокортикостероиды (дексаметазон в среднем в дозе 16–20 мг/сутки), эуфиллин 5–10 мл/сутки, ингаляционно (небулайзерная терапия) – будесонид 1000 мкг/сутки (буденит стеринеб, пульмикорт), беродуал - 20 капель

Базисная терапия вне обострения у пациентов с легкой БА включала применение: монтелукаста (сингуляра) 10 мг/сутки – на ночь, или ингаляционно - интала по 2 вдоха 4 раза в день или пульмикорта туробхаллера 200 – 400 мкг в сутки или беклазон 200-500 мкг/сутки или серетид (тевакомб) сальметерол+флутиказон в максимальной суточной дозе 100 – 250 мкг по флутиказону или симбикорт формотерол+будесонид в максимальной суточной дозе 160- 320 по будесониду.

У пациентов со средне-тяжелой БА применяли: серетид (тевакомб) сальметерол+флутиказон в максимальной суточной дозе 250–500 мкг по флутиказону либо симбикорт - формотерол+будесонид в максимальной суточной дозе 320- 640 мкг по будесониду.

У пациентов с тяжелой бронхиальной астмой использовали: серетид (тевакомб) сальметерол+флутиказон в максимальной суточной дозе 500 – 1000 мкг по флутиказону либо симбикорт формотерол+будесонид в максимальной суточной дозе более 640 мкг по будесониду.

В связи с тем, что некоторые фармацевтические препараты, рекомендуемые GINA 2014, не прошли регистрацию на территории Кыргызстана, мы заменяли их доступными аналогами.

2.3 Статистическая обработка полученных данных

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2007. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics 20.

Вычислялось среднее значение (M), ошибка средней величины (m). Разницу средних величин оценивали по t -критерию Стьюдента и вероятности p , которую признавали статистически значимой при $p < 0,05$. Для проверки различий между двумя сравниваемыми парными выборками в случае распределения, отличного от нормального, применялся W -критерий Уилкоксона. Для оценки связи признаков применяли коэффициент корреляции (r) Спирмена. Различия между сравниваемыми величинами считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Графические иллюстрации построены при помощи компьютерных программных пакетов Microsoft Excel.

Глава 3. ПОВЕРХНОСТНАЯ АКТИВНОСТЬ СМЫВОВ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК У КРОЛИКОВ В НОРМЕ И ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

3.1. Показатели поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов

Показатели поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов контрольной группы представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1 - Показатели поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов контрольной группы

Субстрат	Число капель	ПН мин	ПН макс	ИС
Бронхоальвеолярный смыв	5,3±1,2	21,1±0,93	55,3±1,3	0,895±0,039
Эндонозальный смыв	24,2±2,2	31,9±0,6	57,2±1,2	0,569±0,03
Смыв внутреннего уха	27,3±2,5	36,4±1,2	59,2±1,5	0,477±0,031
Смыв влагалища	32,3±2,8	41,4±0,9	62,1±0,9	0,4±0,028
Конъюнктивальный смыв	38,1±3,1	39,2±0,7	58,1±1,2	0,388±0,041
КВВ	38,7±2,1	49,9±0,7	61,4±1,6	0,21±0,022

На рисунке 3.1. наглядно показано, что значение минимальной поверхностной активности были наименьшими в бронхоальвеолярных смывах - 21,1±0,93 мН/м и росли по направлению конъюнктивальный смыв > смыв влагалища > смыв внутреннего уха > эндонозальный смыв > бронхоальвеолярный смыв с достоверной разницей по субстратам.

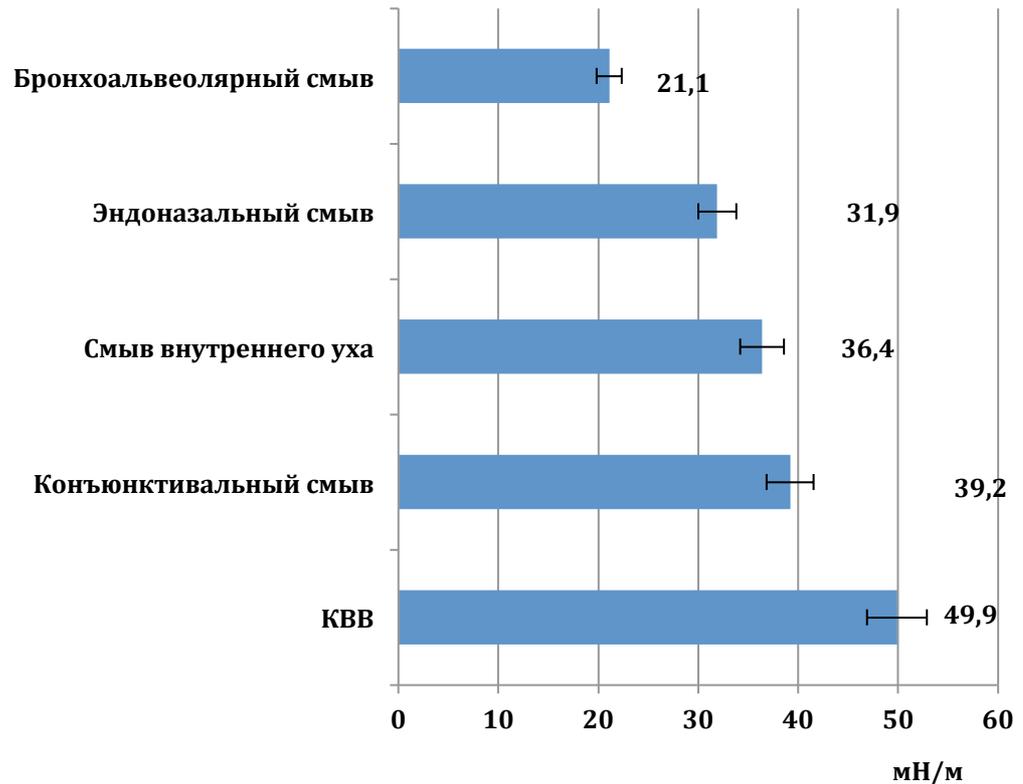


Рис. 3.1. Минимальная поверхностная активность в различных анализируемых субстратах у кроликов контрольной группы

Смывы всех исследуемых слизистых обладают определенной поверхностной активностью сравнимой с таковой для бронхоальвеолярного смыва, но менее выраженной.

В эндоназальных смывах и смывах внутреннего уха уровни этого показателя были выше, соответственно, $31,9 \pm 0,6$ и $36,4 \pm 1,2$ мН/м. Минимальная поверхностная активность в конъюнктивальных смывах составила $39,2 \pm 0,7$ мН/м, наибольшим было значение этого параметра в конденсате выдыхаемого воздуха кроликов - $49,9 \pm 0,7$ мН/м.

Различия значений максимального показателя поверхностного натяжения были менее выраженными. Тем не менее, как видно из рисунка 3.2, минимальным было значение данного параметра в бронхоальвеолярных смывах кроликов, которое составило $55,3 \pm 1,3$ мН/м. Уровни максимального ПН в эндоназальных и конъюнктивальных смывах были примерно одинаковыми, соот-

ответственно $57,2 \pm 1,2$ и $58,1 \pm 1,2$ мН/м, в смывах внутреннего уха и КВВ несколько выше, соответственно $62,1 \pm 1,5$ и $61,4 \pm 1,6$ мН/м.

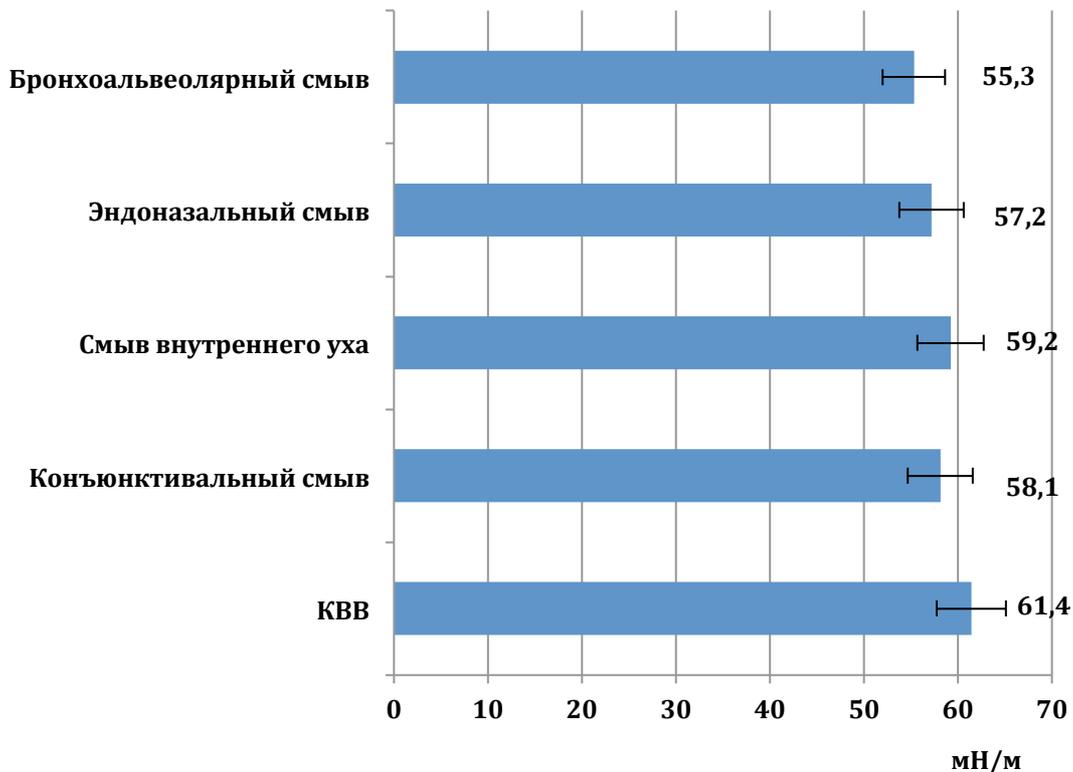


Рис. 3.2. Максимальная поверхностная активность в различных анализируемых субстратах у кроликов контрольной группы

Сдвиги показателя ПН макс по мнению Белова Г.В., 2005, вообще являются малоинформативными в диагностическом плане при любой патологии.

Анализ уровней показателя ИС в смывах слизистых интактных кроликов показал, что в бронхоальвеолярных смывах значение данного параметра было максимальным - $0,895 \pm 0,039$ (рис. 3.3). Снижение ИС шло по направлению конъюнктивальный смыв < смыв влагалища < смыв внутреннего уха < эндоназальный смыв < бронхоальвеолярный смыв.

Существенно ниже были уровни этого показателя ИС в эндоназальных смывах $0,569 \pm 0,030$, а также смывах внутреннего уха и конъюнктивальных смывах, соответственно $0,477 \pm 0,031$ и $0,388 \pm 0,041$. Минимальным было значение данного показателя в конденсате выдыхаемого воздуха - $0,210 \pm 0,020$.

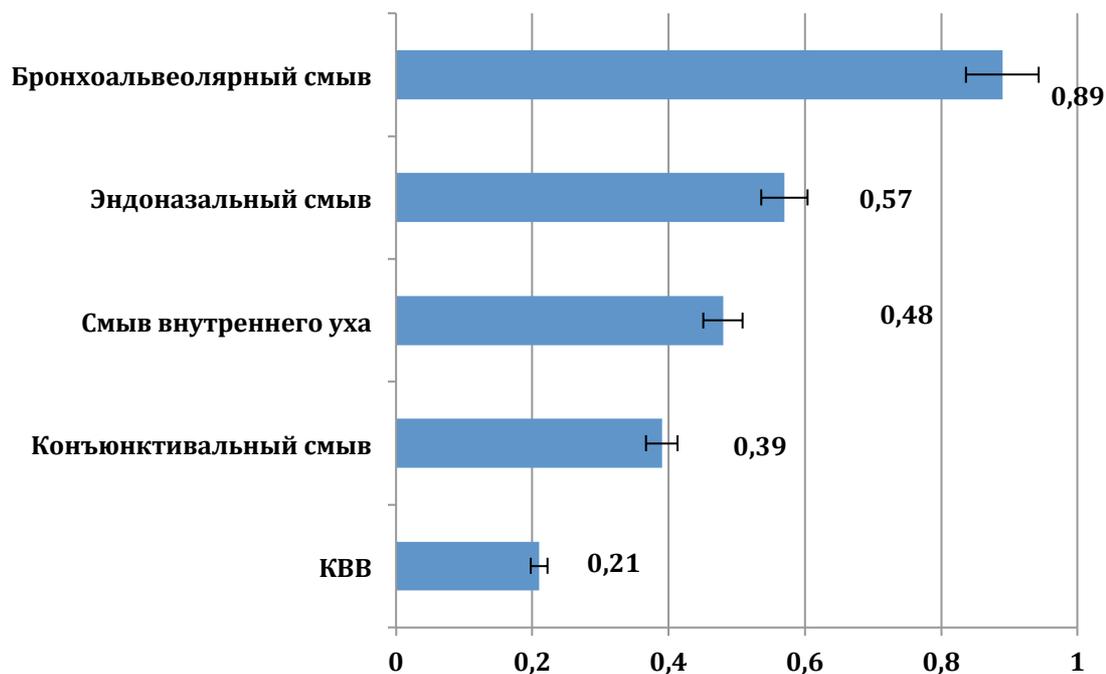


Рис. 3.3. Значения показателя ИС в различных анализируемых субстратах у кроликов контрольной группы

Общие липиды и общий белок определялись в каждом из исследованных субстратов (табл.3.2).

Таблица 3.2 – Содержание общих липидов и общего белка в различных анализируемых субстратах у кроликов контрольной группы

Субстрат	Стат. величина	Общие липиды (г/л)	Общий белок (г/л)
Бронхоальвеолярный смыв	$M \pm m$	$2,3 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,3$
Эндоназальный смыв	$M \pm m$	$1,6 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,6$
Смыв внутреннего уха	$M \pm m$	$0,9 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$
Смыв влагалища	$M \pm m$	$0,5 \pm 0,08$	$1,2 \pm 0,9$
Конъюнктивальный смыв	$M \pm m$	$0,2 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,1$
КВВ	$M \pm m$	$0,07 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$

Направленность снижения общих липидов следующая: конъюнктивальный смыв <смыв влагалища< смыв внутреннего уха <эндоnazальный смыв < бронхоальвеолярный смыв, то есть такая же как и ИС. Содержание общего белка в различных исследованных жидкостях не коррелировало с их поверхностной активностью.

При окраске замороженных срезов слизистой капельки липидов обнаруживались в альвеолярных макрофагах бронхоальвеолярного смыва, в нейтрофилах и макрофагах эндоnazального смыва, пылевидное свечение липидов наблюдалось в клетках слизистой внутреннего уха, влагалища и глаз.

Показатели ПОЛ в смывах слизистых различных органов имели схожее соотношение общих липидов и гидроперекисей (табл.3.3).

Таблица 3.3 – Показатели перекисного окисления липидов в различных анализируемых субстратах у кроликов контрольной группы

Субстрат		Общие липиды (ед. опт.плот.)	Гидроперекиси (ед. опт.плот.)	ОИ
Бронхоальвеолярный смыв	$M \pm m$	$0,186 \pm 0,021$	$0,12 \pm 0,09$	$0,64 \pm 0,02$
Эндоnazальный смыв	$M \pm m$	$0,155 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,06$	$0,71 \pm 0,03$
Смыв внутреннего уха	$M \pm m$	$0,093 \pm 0,015$	$0,060 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,02$
Смыв влагалища	$M \pm m$	$0,052 \pm 0,010$	$0,034 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,02$
Конъюнктивальный смыв	$M \pm m$	$0,029 \pm 0,006$	$0,02 \pm 0,01$	$0,69 \pm 0,02$
КВВ	$M \pm m$	$0,010 \pm 0,002$	$0,006 \pm 0,001$	$0,6 \pm 0,02$

Выше всего оптическая плотность суммарных липидов была в бронхоальвеолярном смыве, однако и количество гидроперекисей в БАС было выше, меньше всего суммарные липиды и гидроперекиси определялись в КВВ – на

границ чувствительности метода, но изменения ОИ в различных субстратах у интактных животных оказались статистически не значимыми.

3.2 Показатели поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов при моделировании банального воспаления

При затравке животных формалином через 1 час морфологически отмечался катаральный синусит, трахеит, бронхит, конъюнктивит с повышенным выделением слез и серозной жидкости из носа.

В смывах слизистой конъюнктивы, полости носа, бронхоальвеолярном смыве достоверно снижалось количество общих липидов, белок наоборот имел тенденцию к повышению.

Поверхностная активность бронхоальвеолярного, эндоназального и конъюнктивального смыва достоверно снижается, что коррелирует с изменениями общих липидов.

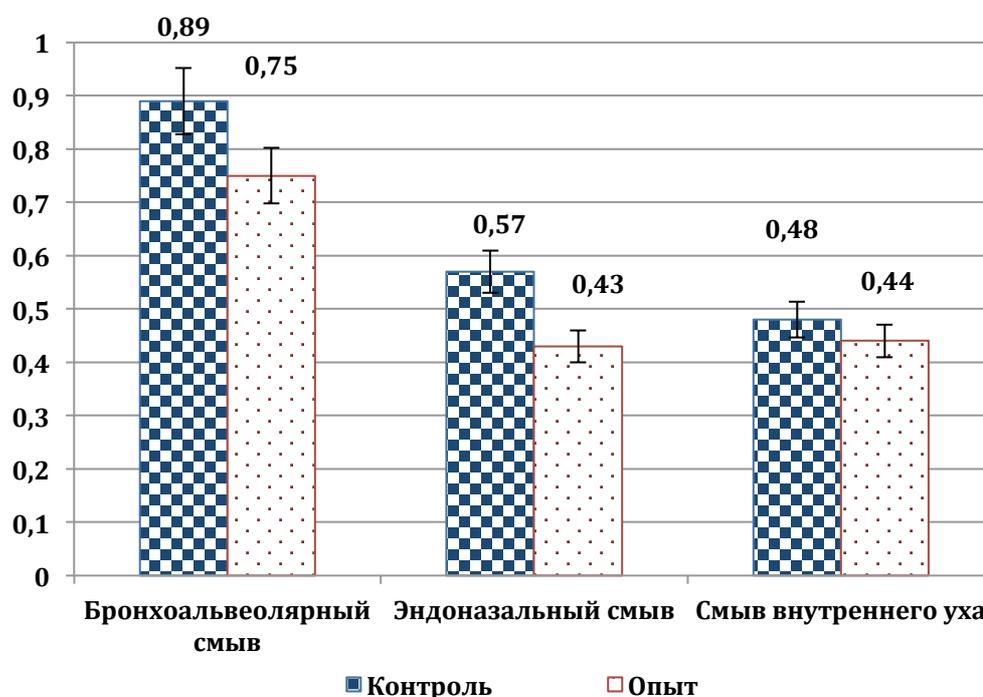


Рис.3.4. Показатели индекса стабильности в БАС, ЭНС и смыве внутреннего уха у кроликов в норме и при затравке формалином.

Оценка динамики показателя ИС показала достоверное снижение ($p < 0,05$) его уровня в бронхоальвеолярных смывах кроликов с $0,895 \pm 0,039$ в контрольной группе и до $0,745 \pm 0,032$ в основной группе (рис. 3.4). Также установлено уменьшение этого показателя в эндоназальных смывах, если значение этого параметра в контрольной группе составило $0,569 \pm 0,030$, то в основной – значимо ниже ($p < 0,05$) - $0,434 \pm 0,044$. Несколько ниже было значение этого параметра и в смывах внутреннего уха при моделировании банального воспаления с помощью формалина у экспериментальных животных – в контрольной группе - $0,477 \pm 0,031$, в основной - $0,442 \pm 0,031$, при этом значимых межгрупповых отличий выявлено не было.

Уровни показателя ИС существенно не различались в КВВ, составив в контрольной группе - $0,210 \pm 0,026$, в основной - $0,180 \pm 0,017$ (рис. 3.5). В конъюнктивальных смывах значение данного параметра составило в контрольной группе - $0,388 \pm 0,041$, в основной было достоверно ниже ($p < 0,05$) - $0,234 \pm 0,021$.

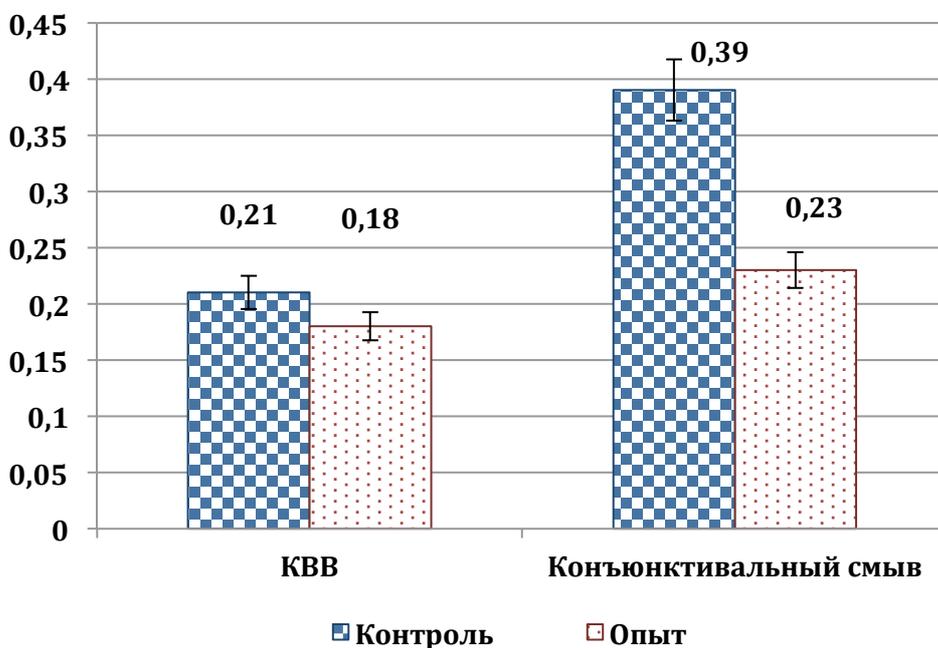


Рис. 3.5 Показатели индекса стабильности в КВВ и конъюнктивальном смыве при моделировании банального воспаления

Таким образом, при моделировании воспаления с помощью формалина отмечено значимое снижение поверхностной активности бронхоальвеолярных, эндоназальных и конъюнктивальных смывов у кроликов.

3.3 Изменения показателей поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов при моделировании аллергического воспаления

При моделировании аллергического воспаления закапыванием раствора яичного белка предварительно сенсibilизированным кроликам на 18 день эксперимента (пятый день закапывания аллергена) у кроликов наблюдалась резкая гиперемия слизистых оболочек носоглотки и конъюнктивы глаза, повышенное слезоотделение и выделение серозной жидкости из носа.

Микроскопически на пятый день закапывания аллергена отмечена резкая инфильтрация слизистых придаточных полостей носа, конъюнктивы эозинофильными и нейтрофильными лейкоцитами. Слизистая трахеи и бронхов резко полнокровна, местами десквамирована. Отмечается спазм мелких бронхов, дистелектазы респираторного отдела легких.

Показатели поверхностной активности в различных анализируемых субстратах у кроликов в норме и при аллергическом воспалении верхних дыхательных путей приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 - Показатели индекса активности в различных анализируемых субстратах у кроликов в норме и при аллергическом воспалении верхних дыхательных путей.

Субстрат	Контроль	Аллергическое воспаление ВДП
Бронхоальвеолярный смыв	0,895±0,039	0,714±0,025 *
Эндоназальный смыв	0,569±0,03	0,387±0,03 *

Смыв внутреннего уха	0,477±0,031	0,368±0,031 *
Конъюнктивальный смыв	0,388±0,041	0,222±0,021 *
Смыв влагалища	0,4±0,028	0,37±0,02
КВВ	0,21±0,026	0,14±0,015 *

Примечание: критерий различия с контролем $p < 0,05$

При сравнении изменений ИС во 2 и 3 группе животных видно, что при аллергическом воспалении снижение поверхностной активности происходит сильнее, нежели при банальном (рис. 3.6). При аллергическом воспалении достоверные сдвиги выявлены во всех изучаемых субстратах за исключением смывов влагалища, что на наш взгляд закономерно, так как половые органы отдалены от респираторной системы. При банальном воспалении, кроме смывов влагалища сдвиги ПА в смыве внутреннего уха и в КВВ оказались недостоверными.

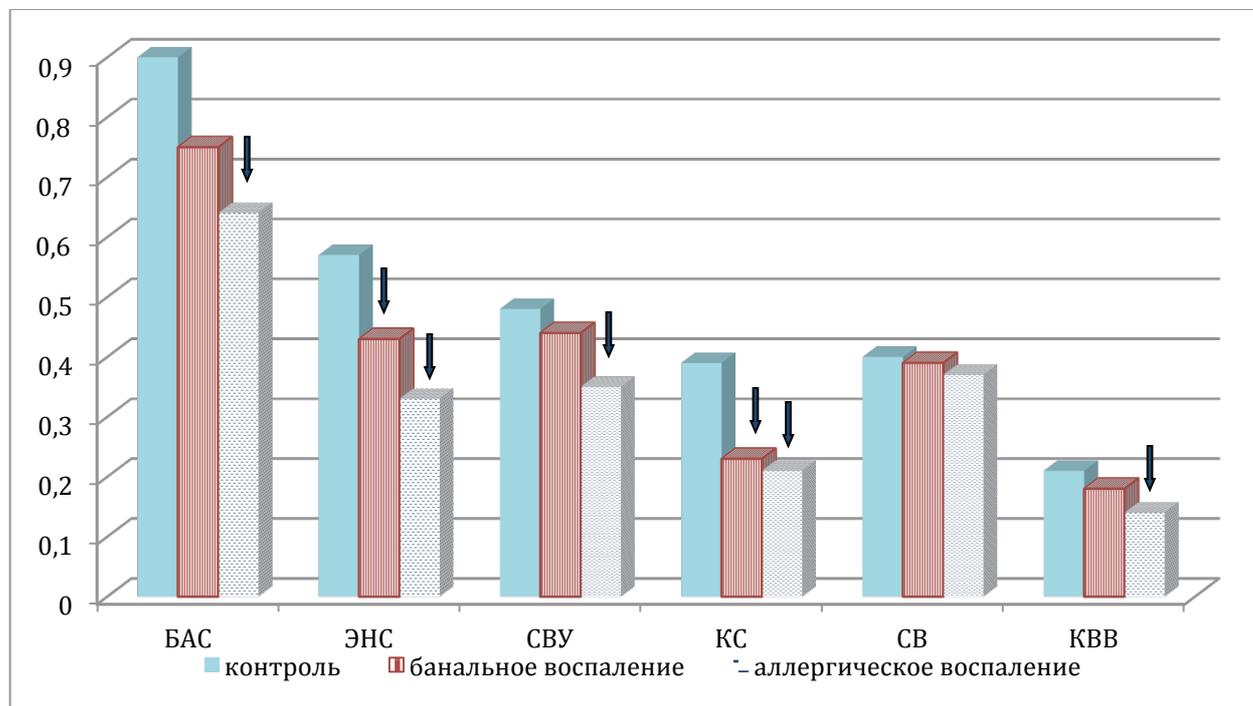


Рис. 3.6 Изменения ИС в различных субстратах при банальном и аллергическом воспалении.

Примечание: стрелка - достоверность критерия различия с контролем $p < 0,05$

3.4 Изменения показателей свободнорадикального окисления в различных анализируемых субстратах у кроликов при моделировании банального воспаления

Моделирование катарального воспаления путем затравки кроликов формалином показало, что спустя 1 час у животных наблюдались признаки катарального синусита, трахеита, бронхита, конъюнктивита с усиленным слезоотделением. Исследование показало, что при развитии банального воспаления активность процессов свободнорадикального окисления существенно увеличивается, о чем свидетельствовало повышение значений концентрации диеновых конъюгат.

Как видно из рисунка 3.7, значение этого показателя в бронхоальвеолярном смыве животных контрольной группы составило $0,022 \pm 0,003$ мг/мл, в то время как в основной группе было более чем в 2 раза выше ($p < 0,05$) - $0,045 \pm 0,013$ мг/мл. При развитии банального воспаления у экспериментальных животных был повышен и уровень диеновых конъюгат в эндоназальных смывах до $0,053 \pm 0,004$ мг/мл, что было значимо выше ($p < 0,05$), чем в группе контроля - $0,028 \pm 0,002$ мг/мл.

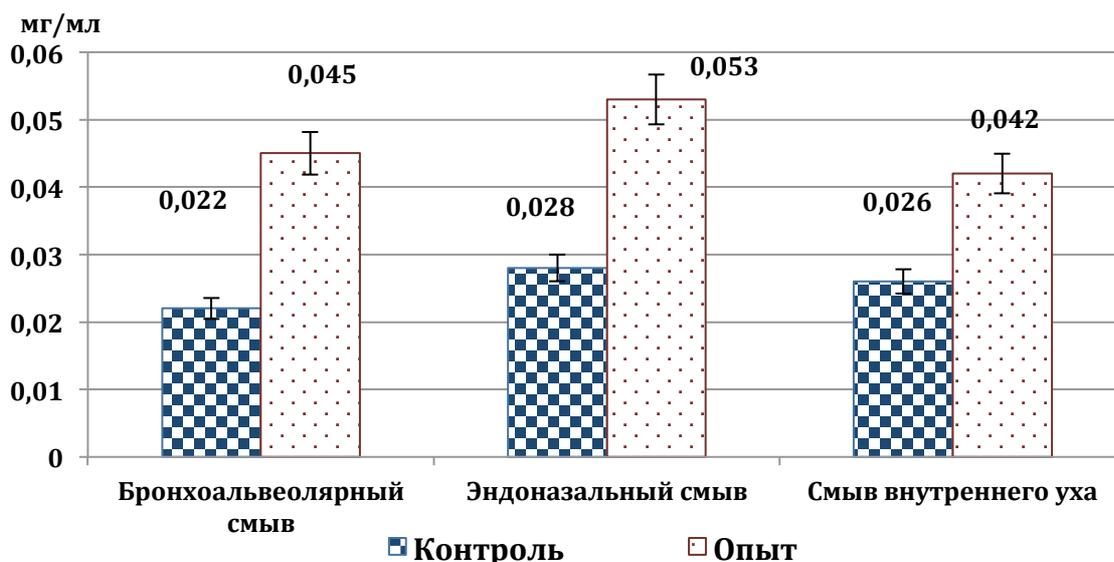


Рис. 3.7. Динамика уровня диеновых конъюгат в различных анализируемых субстратах при моделировании банального воспаления

Значение данного показателя в смыве внутреннего уха животных контрольной группы составило $0,026 \pm 0,005$, в то время как у кроликов основной группы уровень диеновых конъюгат был достоверно выше ($p < 0,05$) - $0,042 \pm 0,013$ мг/мл.

Уровень диеновых конъюгат в конъюнктивальных смывах животных контрольной группы составил $0,034 \pm 0,012$ мг/мл, в то время как у кроликов, на которых моделировали воспаление, значение этого показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) - $0,055 \pm 0,008$ мг/мл (рис. 3.8). У животных основной группы уровень ДК в конденсате выдыхаемого воздуха был также значимо выше ($p < 0,05$), чем в контроле, при этом значения данного параметра составили соответственно - $0,088 \pm 0,017$ мг/мл и $0,052 \pm 0,016$ мг/мл.

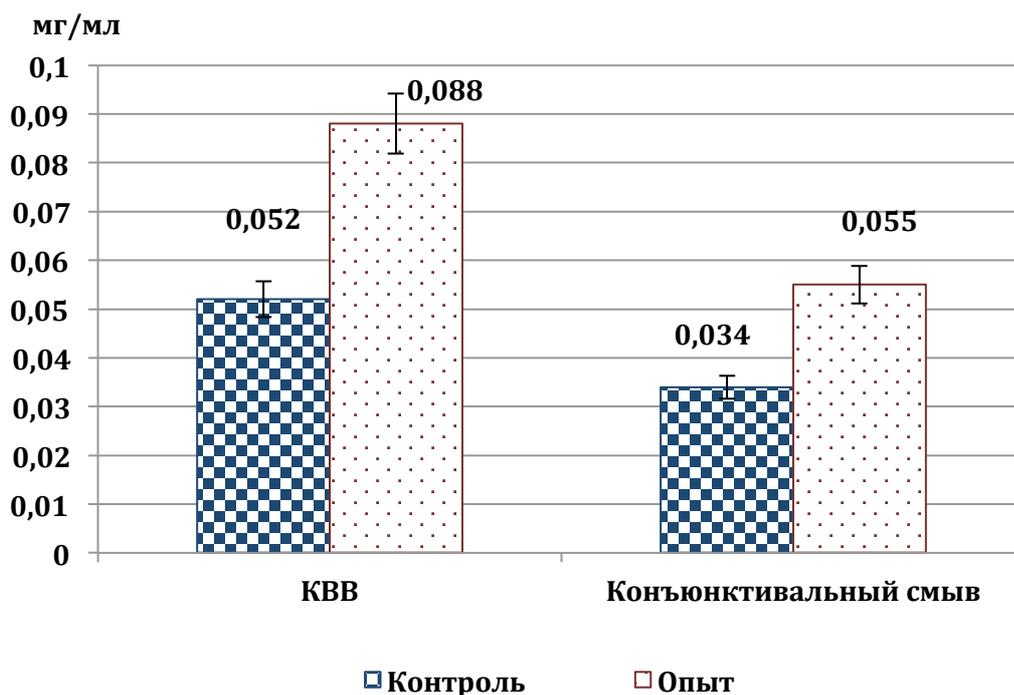


Рис.3.8. Динамика уровня диеновых конъюгат в различных анализируемых субстратах при моделировании банального воспаления

3.5 Изменения показателей свободнорадикального окисления в различных анализируемых субстратах у кроликов при моделировании аллергического воспаления

Изучение активности свободнорадикального окисления при моделировании аллергического воспаления путем закапыванием раствора яичного белка предварительно сенсibilизированным кроликам показало, что уровни диеновых конъюгат существенно различались в различных анализируемых субстратах кроликов в норме и при аллергическом воспалении верхних дыхательных путей.

Как видно из рисунка 3.9, значение этого показателя в бронхоальвеолярном смыве животных контрольной группы составило $0,022 \pm 0,003$ мг/мл, в то время как в основной группе было более чем в 3 раза выше ($p < 0,05$) - $0,074 \pm 0,012$ мг/мл. Также увеличенным при аллергическом воспалении был уровень диеновых конъюгат в эндоназальных смывах кроликов основной группы - $0,063 \pm 0,010$ мг/мл, что было значимо выше ($p < 0,05$) по сравнению с таковым в группе контроля - $0,028 \pm 0,002$ мг/мл.

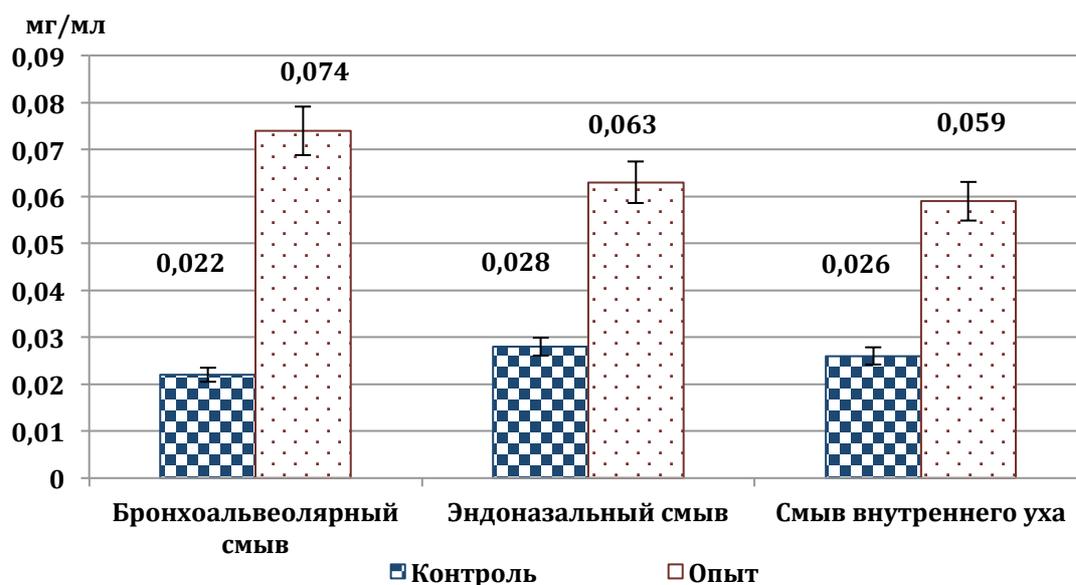


Рис.3.9 Динамика уровня диеновых конъюгат в различных анализируемых субстратах при моделировании аллергического воспаления

Значение данного параметра в смыве внутреннего уха животных контрольной группы составило $0,026 \pm 0,005$, тогда как у животных основной группы уровень диеновых конъюгат был более чем в 2 раза выше ($p < 0,05$) - $0,059 \pm 0,013$ мг/мл.

Уровень диеновых конъюгат в конъюнктивальных смывах животных контрольной группы составил $0,034 \pm 0,012$ мг/мл, а у кроликов, на которых моделировали аллергическое воспаление, значение этого показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) - $0,058 \pm 0,009$ мг/мл (рис. 3.10). У животных основной группы уровень ДК в конденсате выдыхаемого воздуха был также значимо выше ($p < 0,05$), чем в контроле, при этом значения данного параметра составили соответственно - $0,108 \pm 0,027$ мг/мл и $0,052 \pm 0,016$ мг/мл.

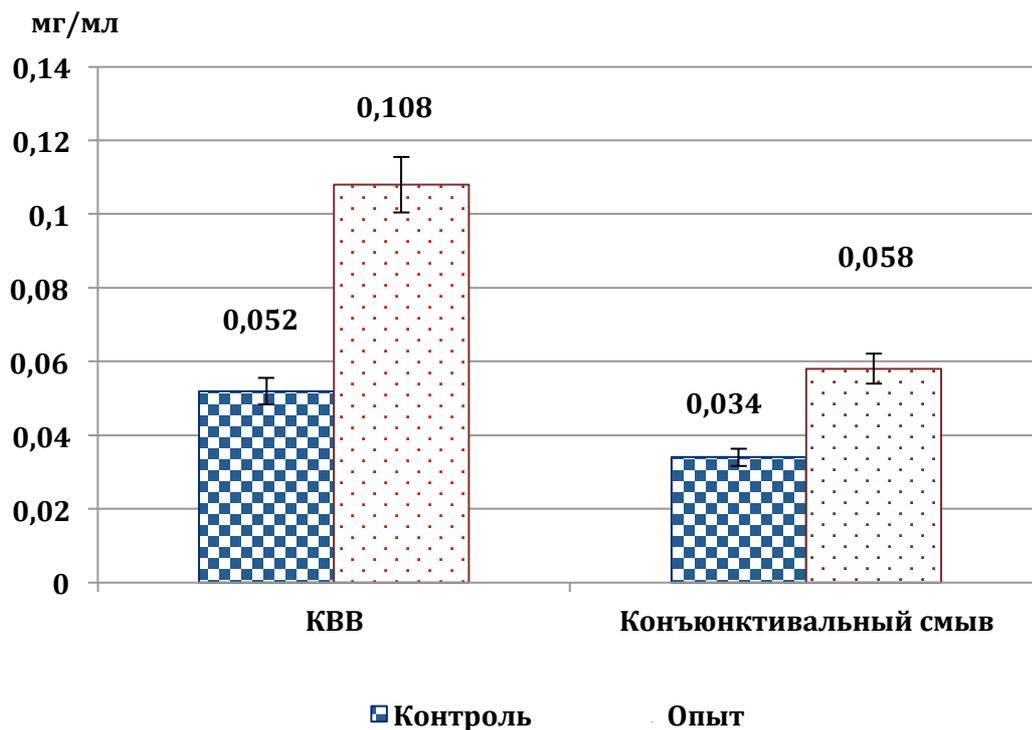


Рис.3.10 Динамика уровня диеновых конъюгат в различных анализируемых субстратах при моделировании аллергического воспаления

3.6 Протекторный эффект амброксола на состояние сурфактантов слизистых и свободнорадикального окисления при моделировании аллергического воспаления

Чтобы доказать наличие зависимости патологических изменений слизистых от саногенных факторов были поставлены эксперименты со стимуляцией сурфактанта амброксолом у интактных животных и антиаллергическим действием амброксола на кроликов с аллергическим воспалением ВДП.

Результаты изменений ПА смывов слизистых при этом приведены в таблице 3.5.

Таблица 3.5 - Влияние амброксола на Индекс стабильности (ИС) смывов разных слизистых оболочек при аллергическом воспалении верхних дыхательных путей

Субстрат	Стат. величина	Контроль	Аллергическое воспаление ВДП	Амброксол	Аллергическое воспаление + Амброксол
		1	2	3	4
Бронхоальвеолярный смыв	M±m	0,895 ±0,039	0,714 ±0,025 P ₂₋₁ <0,05	0,935 ±0,037	0,794 ±0,024 P ₂₋₁ <0,05 P ₄₋₂ <0,05
Эндоnazальный смыв	M±m	0,569 ±0,03	0,387 ±0,03 P ₂₋₁ <0,05	0,639 * ±0,031	0,504 ±0,034
Смыв внутреннего уха	M±m	0,477 ±0,031	0,368 ±0,031 P ₂₋₁ <0,05	0,483 ±0,025	0,436 ±0,026
Конъюнктивальный смыв	M±m	0,388 ±0,041	0,222 ±0,021 P ₂₋₁ <0,05	0,393 ±0,041	0,325 ±0,021 P ₄₋₂ <0,05
Смыв влагалища	M±m	0,4 ±0,028	0,37 ±0,02	0,411 ±0,028	0,37 ±0,02
КВВ	M±m	0,21 ±0,026	0,14 ±0,015 P ₂₋₁ <0,05	0,217 ±0,026	0,194 ±0,014 P ₄₋₂ <0,05

Введение кроликам внутривнутрибрюшинно амброксола в дозе из расчета 30 мг/кг не вызвало заметных изменений макроскопической и микроскопической структуры легких и слизистых других органов. Ранее в нашей кандидатской работе при инъекциях амброксола (мукогельвана) интактным белым крысам мы отмечали, что сдвиги можно выявить только электронно-микроскопически или биофизическими методами [Калматов Р.К., 2004].

Показатели ПА БАС при внутривнутрибрюшинном введении интактным кроликам амброксола в дозе из расчета 30 мг/кг достоверно не превышали контрольный уровень. В других анализируемых субстратах интактных кроликов сдвиги ПА также были статистически не значимы за исключение эндоназального смыва показавшего достоверный рост ИС ($p < 0,05$).

Введение амброксола кроликам во время развития аллергической реакции уменьшило выраженность возникающих сдвигов ИС конъюнктивального смывов, БАС и КВВ ($p < 0,05$).

Также амброксол оказал положительное влияние на состояние ПОЛ в изучаемых субстратах. Так выраженность сдвига диеновых конъюгат при аллергическом воспалении в сторону повышения при этом значительно уменьшалась до статистически значимых цифр (рис.3.11).

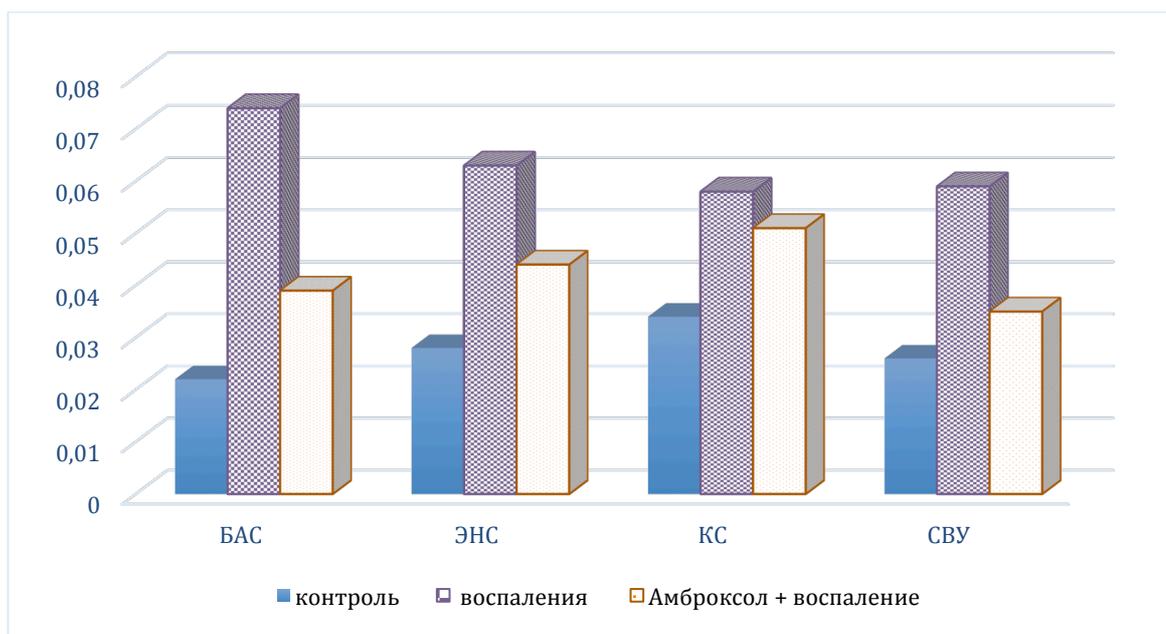


Рис. 3.11. Влияние амброксола на уровень диеновых конъюгат в различных анализируемых субстратах при моделировании аллергического воспаления

Заключение по главе

Предложенная методика позволяет определять через изменения поверхностной активности состояние сурфактанта слизистых глаза, полостей носа, внутреннего уха, влагалища, где до этого определяли только белки сурфактанта иммуногистохимически и хроматографическим методом. Определение биофизическим методом менее затратное и гораздо быстрее.

Эксперименты с моделированием катарального воспаления показали адекватность методики и характеризовались снижением функции сурфактанта слизистых глаза, полости носа, трахеи, бронхов, а также альвеолярного сурфактанта.

При этом было показано, что уровни показателей минимальной поверхностной активности были наименьшими в бронхоальвеолярных смывах, в эндоназальных смывах и смывах внутреннего уха их значения были несколько выше, а наибольшими были уровни этих физико-химических характеристик конденсата выдыхаемого воздуха. В целом было показано, что смывы всех исследуемых слизистых кроликов экспериментальных животных обладают определенной поверхностной активностью, которая изменяется при моделировании банального и аллергического воспаления, что проявлялось снижением показателя ИС в большей степени в бронхоальвеолярных, эндоназальных и конъюнктивальных смывов у кроликов.

При моделировании аллергического воспаления также были выявлены изменения показателей поверхностной активности большинства исследуемых субстратов, выраженные в большей степени, чем при моделировании банального воспаления.

Проведенные исследования показали возможности применения использованного метода оценки физико-химических характеристик смывов слизистых оболочек и конденсата выдыхаемого воздуха экспериментальных животных для изучения активности воспалительного процесса в клинической практике при различных заболеваниях, в первую очередь, инфекционных (ОРВИ) и аллергических.

В экспериментальных исследованиях также была оценена активность свободнорадикального окисления в различных анализируемых субстратах у кроликов. Было установлено возрастание изучаемых показателей - уровня гидроперекисей, диеновых конъюгат и значений окислительного индекса в эндоназальных смывах, смывах внутреннего уха и бронхоальвеолярных смывах. При этом моделирование различных типов воспаления у кроликов сопровождалось выраженным повышением концентрации диеновых конъюгат в различных биосубстратах кроликов, что свидетельствовало о повышении активности процессов свободнорадикального окисления.

В эксперименте доказан протекторный эффект амброксола на развитие аллергического воспаления. Выраженность сдвигов поверхностной активности и свободнорадикального окисления в смывах слизистых при одновременном введении с аллергеном достоверно снижалось, что является теоретическим обоснованием для его применения в клинике при аллергических заболеваниях ВДП.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ

4.1 Результаты исходного клинического обследования больных бронхиальной астмой

Характеристика обследованных детей представлена в таблице 4.1. Приведено распределение пациентов по возрасту, полу, средней длительности заболевания, а также доля пациентов каждой из групп, применявших по поводу заболевания глюкокортикостероидные препараты ингаляционно.

Таблица 4.1 - Распределение пациентов по возрасту и полу и длительности заболевания

Параметр		Группа 1 (контрольная) (n=58)	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)	Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)
Возраст		13,9±2,1	13,7±1,8	12,8±2,6
Пол	Мальчики	30 (51,7 %)	39 (52,8 %)	45 (54,2 %)
	Девочки	28 (48,3%)	35 (41,3%)	38 (45,8 %)
Длительность заболевания (лет)		-	9,9±2,1	5,7±3,5

Частота различных жалоб у обследуемых детей представлена в таблице 4.2. Как видно, у них выявлялись затруднение дыхания, одышка и удушье (в первую очередь у детей с БА).

Частота кашля была выше у детей с БА и составила 74,7 %, тогда как в группе ЧБД - 58,1 %.

Частота заложенности носа у больных группы 2 отмечена в 40,5 % случаев, тогда как у детей с БА – в 31,3 % случаях. Свистящее дыхание выявлялось только у детей с БА, частота этого признака составила 28,9 %.

Таким образом, оценка жалоб обследуемых больных при поступлении показала, что затруднение дыхания, одышка, удушье и кашель в группе пациентов, как правило, отмечаются у детей с БА, потребность в бронхолитиках, которая в среднем составила 6,5 вдоха в сутки, коррелировала с тяжестью заболевания у детей этой группы.

Таблица 4.2 - Жалобы у обследуемых детей

Жалобы	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%
Затруднение дыхания, удушье, одышка	5	6,8	56	67,5*
Свистящее дыхание	-	-	24	28,9 *
Кашель	43	58,1	62	74,7*
Заложенность носа	30	40,5	26	31,3
Потребность в бронхолитиках	-		6,5 вдоха в сут	

Примечание:* - различия достоверны (при $p < 0,05$) относительно значения в группе 2 (ЧБД) по критерию χ^2

Результаты оценки распределения пациентов с БА по уровню контроля заболевания по шкале АСТ представлены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 - Уровень контроля БА у пациентов в зависимости от степени тяжести заболевания в соответствии с оценкой по АСТ

Уровень АСТ, баллы	Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%
5 – 9	47	56,6
10 – 14	36	43,4
15 – 19	-	-

Уровень АСТ 5-9 баллов был определен у 56,6 % детей, 10-14 - в 43,4 % случаях. Более высокие значения этого показателя не были выявлены ни у кого из обследуемых пациентов, таким образом, в обследуемой выборке не было больных с контролируемой БА.

4.2. Динамика клинических признаков заболеваний у обследуемых детей после проведенного лечения

Оценка частоты жалоб больных БА после окончания лечения и до начала лечения показала, что у этих детей уменьшилась частота затруднений дыхания, удушья и одышки – до 48,2 %, а спустя 3 месяца – до 26,5 %. В группе ЧБД в эти сроки таких жалоб отмечено не было (табл. 4.4).

В обеих группах уменьшилась и частота кашля, соответственно до 40,5 % и 39,8 % в группах ЧБД и БА после проведенного лечения, спустя 3 месяца значения этих показателей продолжили тенденцию к снижению соответственно до 33,8 и 20,5 %.

Таблица 4.4 - Частота жалоб у больных БА до и после лечения

Уровень АСТ, баллы	После проведенного лечения				Через 3 месяца			
	Группа 2 ЧБД (n=74)		Группа 3 БА (n=83)		Группа 2 ЧБД (n=74)		Группа 3 БА (n=83)	
	Абс.	%.	Абс.	%.	Абс.	%.	Абс.	%.
Затруднение дыхания, удушье, одышка	-	-	40	48,2	-	-	22	26,5
Кашель	30	40,5	33	39,8	25	33,8	17	20,5
Заложенность носа	19	25,7	12	14,5	8	10,8	4	4,8

Примечание:

* - различия достоверны ($p < 0,05$) относительно значения до лечения по критерию χ^2

- различия достоверны ($p < 0,05$) показателя в группе ЧБД по критерию χ^2

Наконец, заложенность носа была отмечена после окончания лечения у 25,7 % детей группы ЧБД и в 14,5 % случаях у детей с БА. Через 3 месяца эта жалоба была выявлена лишь у 10,8 % пациентов группы 2 (ЧБД) и в 4,8 % случаев в группе 3 (БА).

Результаты исследования функции внешнего дыхания у здоровых детей, часто болеющих детей и больных бронхиальной астмой приведены в таблице 4.5.

Таблица 4.5 - Исходные показатели функции внешнего дыхания обследованных у детей в % от должных величин ($M \pm m$)

Показатели в %	Здоровые дети (n=58)	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)	Группа 3 (дети с бронхи- альной астмой) (n=83)
ЖЕЛ	89,62±2,06	87,67 ± 4,35 p2-1>0,05	82,29 ± 4,21 p3-1 0,05
ФЖЕЛ	83,69±1,50	74,41 ± 3,66 p2-1 0,05	82,8
ОФВ	1 89,65±1,76	74,64 ± 3,71 p2-10,05	81,16 ± 3,77 p3-1
ПСВ	80,29±2,15	73,54 ± 4,11 p2-1>0,05	76,76 ± 4,50 p3-1>0,05, p3-2>0,05
МОС25	108,52±2,17	90,14 ± 5,46 p2-1>0,05	126,48 ±14,25 p3-20,05
МОС50	92,95±1,64	77,04 ± 4,01 p2-10,05	81,43 ± 6,69 p3-1
МОС75	85,81±2,33	57,43 ± 5,41 p2-1	70,04 ± 4,89 p3-1

Сравнение количества обострений показало, что если до лечения у детей с бронхиальной астмой наблюдалось в среднем по 5,2 обострения в течении года, то после проведения курса терапии у этих больных значение данного показателя было почти в 2 раза ниже – 2,7 обострений в год (рис. 4.1).

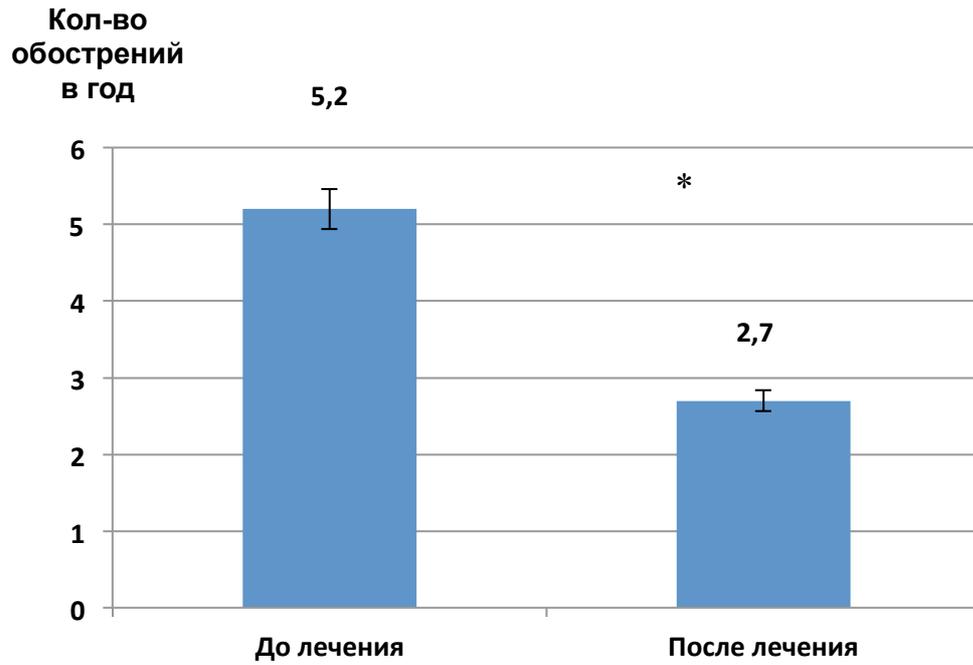


Рис. 4.1. Частота обострений бронхиальной астмы у обследуемых детей в течение года

Оценка частоты инфекционных заболеваний, в первую очередь ОРВИ у часто болеющих детей свидетельствовала о том, что уровень этого показателя был значимо ниже ($p < 0,05$) после проведенного лечения, чем до его начала (рис. 4.2).

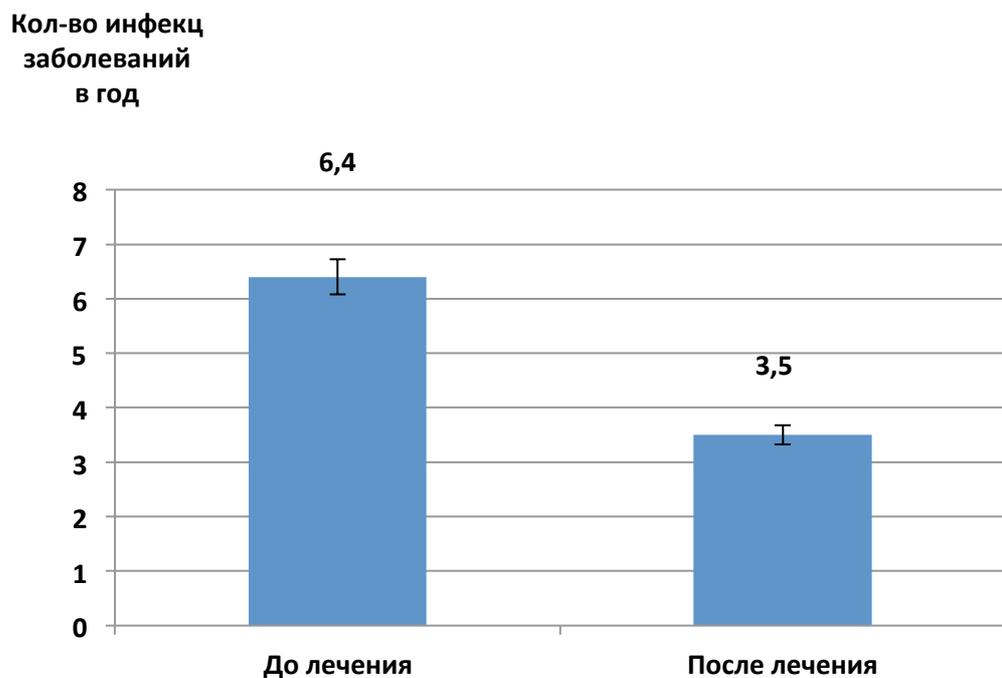


Рис. 4.2. Частота инфекционных заболеваний у обследуемых больных в течение года

Оценка распределения больных детей в группе 3 по уровню контроля астмы, выполненная через 3 месяца после проведенного лечения было 6,0 % пациентов с показателем теста АСТ 5-9 баллов, доля больных с уровнем 10-14 баллов снизилась до 9,6 %.

Количество больных с уровнем оценки в тесте АСТ 15-19 баллов составило 14,5 %, доля пациентов с уровнями оценки 20-24 и 25 баллов составила соответственно 33,7 % и 36,2 % (табл. 4.6).

Таблица 4.6 - Распределение детей с БА до и после лечения (n=83)

Уровень АСТ, баллы	Распределение пациентов до лечения		Распределение пациен- тов после лечения	
	Абс.	%	Абс.	%
5 – 9	47	56,6	5	6,0
10 – 14	36	43,4	8	9,6
15 – 19	-	-	12	14,5
20 – 24	-	-	28	33,7
25	-	-	30	36,2

Заключение к главе

В настоящее время общепризнанно, что сведения о состоянии иммунной системы, активности свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы у пациентов с инфекционно-аллергической патологией, в частности, бронхиальной астмой, крайне важны и могут существенно повлиять на разработку новых подходов к лечению и профилактике этих заболеваний. Если в настоящий момент основой терапии БА является применение ингаляционных кортикостероидов, подавляющих развитие воспаления, то, возможно, в дальнейшем необходимо будет сосредоточить внимание на терапии, усиливающей неспецифическую резистентность и/или специфическое звено иммунитета для снижения вероятности перехода заболевания в хроническую форму и усиления тяжести его течения.

Изучение статистических данных о случаях госпитализаций детей с лабораторной верификацией гриппа показало, что 32 % среди госпитализированных пациентов в 2003-2009 гг. составили дети с астмой, а в период пандемии гриппа H1N1 2009-2010 гг. доля таких детей среди помещенных в стационар увеличилась до 44 %, что в 4-5 превышает распространенность БА в популяции в целом [Dawood F.S. et al., 2011]. Показано, что во время пандемии гриппа риск развития пневмонии у астматиков был почти в два раза выше, чем в популяции в целом (50% против 27%), то же самое наблюдалось в отношении необходимости госпитализации в отделение интенсивной терапии (33% против 19%) [O’Riordan S. et al., 2010].

В последние годы в качестве методов клинической оценки воспаления в дистальных отделах респираторного тракта при различных заболеваниях дыхательной системы, в том числе при бронхиальной астме, предложены неинвазивные методы исследования состава индуцированной мокроты, состава выдыхаемого воздуха и состава дыхательного конденсата (конденсата выдыхаемого воздуха, КВВ) [Белов Г.В. и др., 1992; 2005; Бестужева С.В., 1983]. В полной мере такой подход может быть использован и для характеристики патологических процессов у детей с различной патологией дыхательной системы, в частности, при бронхиальной астме, а также у часто болеющих детей, которые периодически переносят острые респираторные заболевания.

По мнению ряда авторов, одним из звеньев патогенеза при этом являются сдвиги процессов свободнорадикального окисления и нарушения системы антиоксидантной защиты организма [Соодаева С.К., 2006; Wood L. et al., 2003]. Так, в ряде исследований показано, что у курящих лиц после выкуривания сигареты, а также у больных бронхиальной астмой и хроническим необструктивным бронхитом наблюдаются изменения показателей ПН КВВ [Белов Г.В. и др., 1992; Бримкулов Н.Н., Белов Г.В., 1989]. Имеются сообщения о сдвигах этих параметров у детей с бронхиальной астмой [Поважная Е.Л. и др., 1996] и у детей, часто болеющих простудными заболеваниями [Ниязбекова Э.А., Азимова М.Б., 1999].

На основании вышеизложенного целью проведенного исследования было патогенетическое обоснование путей оптимизации диагностики и лечения часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой.

Таким образом, проведенное обследование и динамическое наблюдение детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей, показало, что включение в комплекс лечения мероприятий по иммунокоррекции, и снижению активности свободнорадикального окисления в организме способствует выраженному уменьшению частоты жалоб у этих контингентов больных, улучшению их общего состояния, снижению частоты обострений бронхиальной астмы и острых респираторных вирусных инфекций. Все это, несомненно, способствует снижению общего ежегодного количества госпитализаций детей и трудопотерь у их родителей, улучшению качества жизни и социальной адаптации рассматриваемых категорий детей.

ГЛАВА 5. ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИТЕЛИЯ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ И ОЦЕНКА ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ У ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННОЙ И АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

5.1 Показатели поверхностной активности эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха

Исследование характеристик эндоназальных смывов обследованных детей показало ряд отличий показателей групп больных детей по сравнению с соответствующими уровнями в контрольной группе. Так, значение показателя минимальное ПН в контроле составило $33,4 \pm 1,2$ мН/м, тогда как в группе ЧБД его уровень был достоверно выше ($p < 0,05$) - $38,2 \pm 1,62$ мН/м (рис.5.1). Максимальным было значение данного показателя у детей с бронхиальной астмой - $39,7 \pm 2,3$ мН/м, что также достоверно превышало контрольное значение.

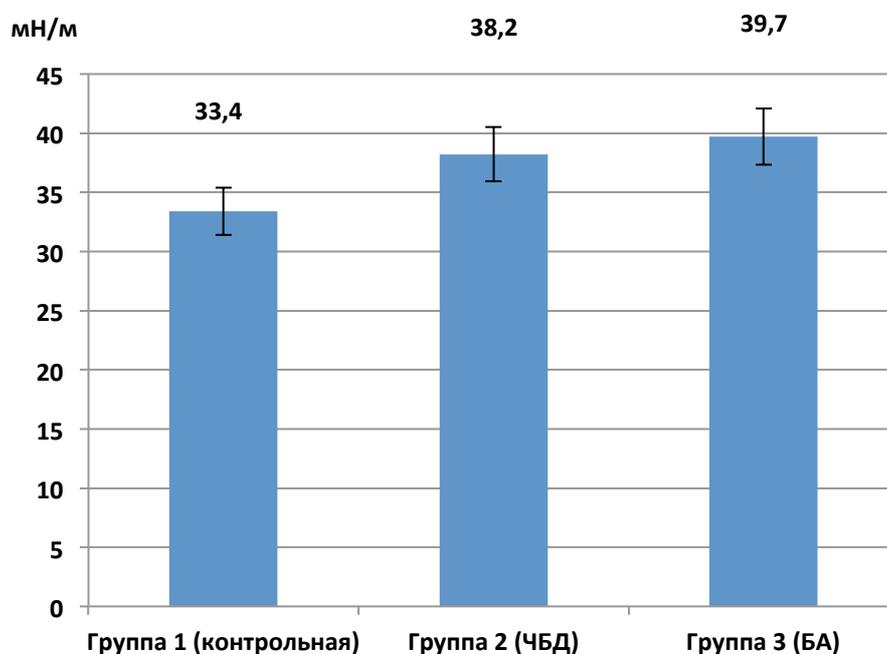


Рис. 5.1. Уровни минимального поверхностного натяжения назальных смывов у обследуемых детей

Значение показателя максимального поверхностного натяжения в контроле было на уровне $52,3 \pm 1,4$ мН/м, в группе ЧБД его уровень был несколько выше - $54,6 \pm 0,9$ мН/м, хотя при этом значимых межгрупповых отличий выявлено не было (рис.5.2). Уровень этого показателя в группе БА также существенно не отличался от контрольного, составив $53,9 \pm 1,7$ мН/м.

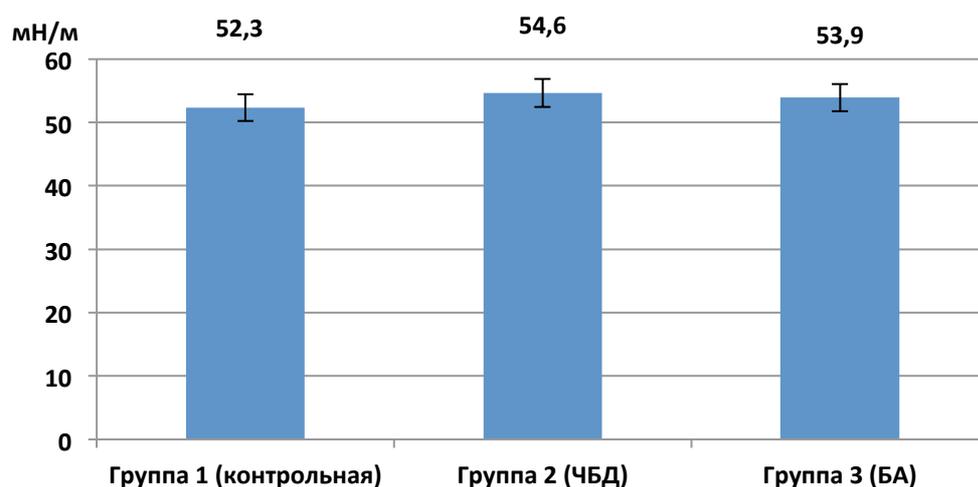


Рис. 5.2. Уровни максимального поверхностного натяжения назальных смывов у обследуемых детей

Показатель ИС назальных смывов в контрольной группе был на уровне $0,454 \pm 0,032$, тогда как у часто болеющих детей его значение было достоверно ниже ($p < 0,05$) - $0,352 \pm 0,027$ (рис. 5.3). У детей с бронхиальной астмой данный индекс был еще ниже, чем в предыдущей группе и значимо ниже относительно уровня контроля ($p < 0,05$), составив $0,312 \pm 0,022$ мН/м.

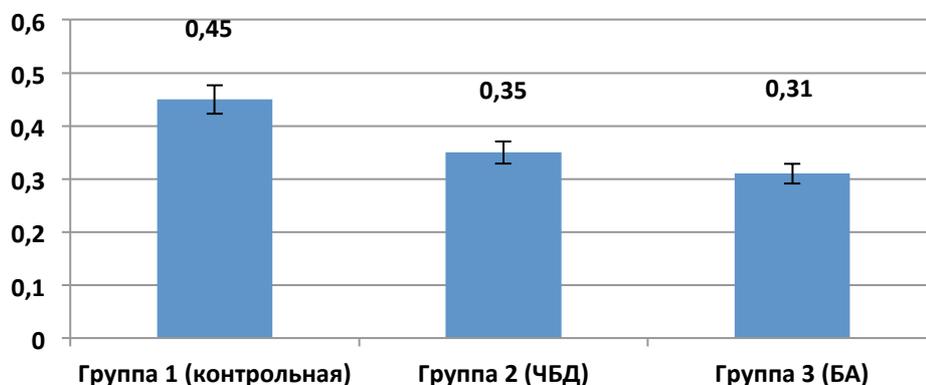


Рис. 5.3 Уровни показателя ИС назальных смывов у обследуемых детей

Анализ показателей конденсата выдыхаемого воздуха позволил установить следующее. Значение показателя минимальное ПН в контроле составило $42,8 \pm 1,4$ мН/м, в группах ЧБД и детей с БА уровни этого параметра были несколько выше, соответственно $44,9 \pm 0,9$ мН/м и $46,8 \pm 1,2$ мН/м, хотя при этом значимых межгрупповых отличий выявлено не было (рис. 5.4).

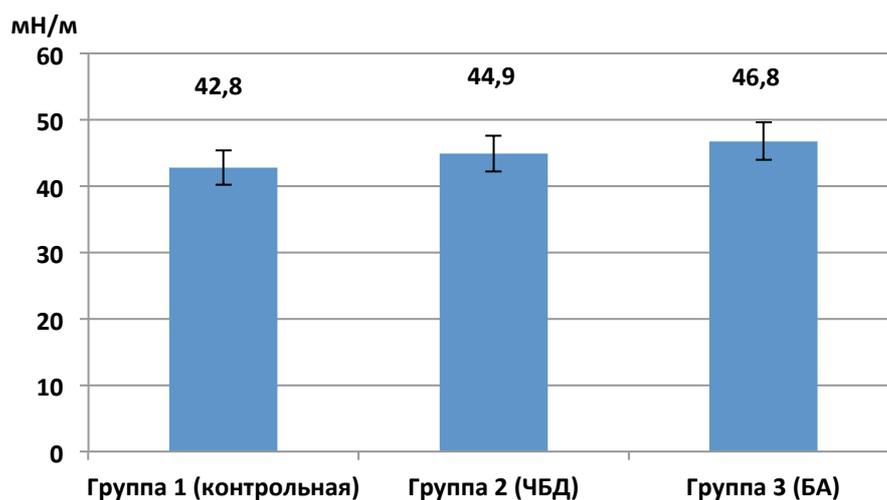


Рис. 5.4. Уровни минимального поверхностного натяжения конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей

Значение показателя максимальное ПН КВВ в контроле было на уровне $62,4 \pm 0,8$ мН/м, в группе ЧБД его уровень был несколько ниже- $61,8 \pm 0,6$ мН/м, в группе БА его значение практически не отличалось от контрольного, составив $62,8 \pm 0,6$ мН/м (рис. 5.5).

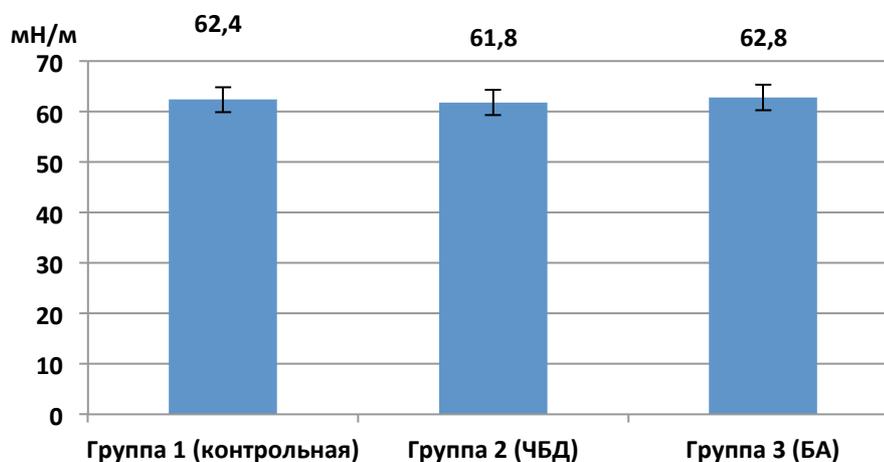


Рис. 5.5. Уровни максимального поверхностного натяжения конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей

Показатель ИС конденсата выдыхаемого воздуха в контрольной группе был на уровне $0,367 \pm 0,021$, в то время как у часто болеющих детей его значение было несколько ниже - $0,322 \pm 0,024$ ($p > 0,05$) (рис. 5.6). У детей с бронхиальной астмой данный индекс был еще ниже, чем в предыдущей группе и значимо меньше по сравнению с таковым в контрольной группе ($p < 0,05$), составив $0,283 \pm 0,021$ мН/м.

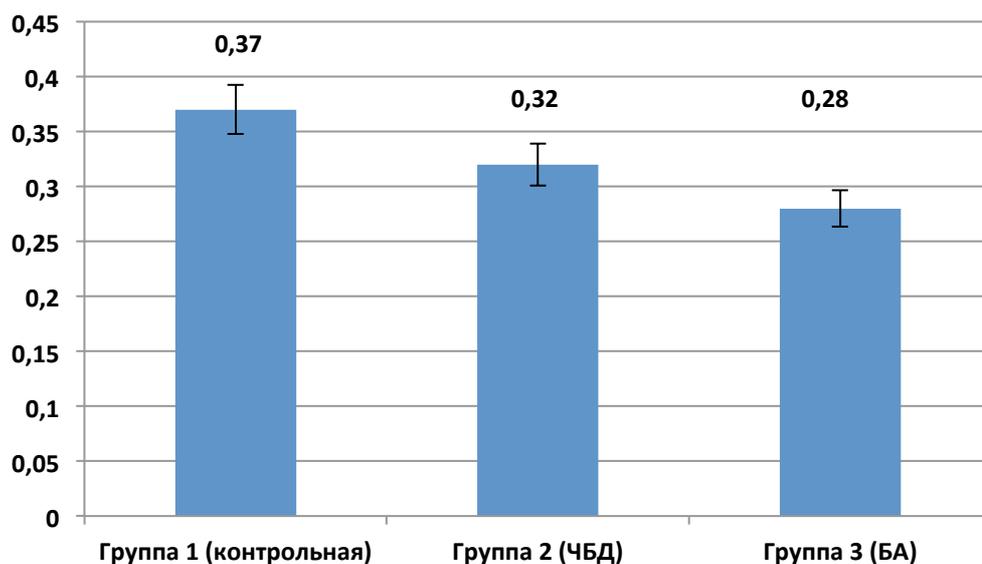


Рис. 5.6 Уровни показателя ИС конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей

Таким образом, проведенные исследования показали, что у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой изменены физико-химические характеристики эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха. Очевидно, что эти изменения являются проявлениями процессов, происходящих на молекулярном и клеточном уровне в слизистой оболочке верхних дыхательных путей при рассматриваемых патологиях, лежащих в основе патогенеза этих нозологий. Одним из таких путей патогенеза являются сдвиги процессов свободнорадикального окисления и нарушения антиоксидантной защиты.

5.2 Состояние процессов перекисного окисления и активности антиоксидантной системы в эндоназальных смывах и конденсате выдыхаемого воздуха

Анализ показателей свободнорадикального окисления эндоназальных смывов показал, что концентрация суммарных липидов в контроле составила $0,492 \pm 0,023$ мг/мл, в группах ЧБД и детей с БА уровни этого параметра были значимо ниже, составив соответственно $0,426 \pm 0,021$ и $0,412 \pm 0,031$ мг/мл (рис. 5.7).

Уровень содержания гидроперекисей в эндоназальных смывах у обследуемых контрольной группы составил $0,242 \pm 0,016$ мг/мл, в группе ЧБД был несколько выше - $0,267 \pm 0,016$ мг/мл, его значение достоверно не превышало таковое в контроле. У детей с БА этот показатель был почти в 1,5 раза выше, чем в контроле, значимо превышая этот уровень, а также соответствующее значение в группе 2 (ЧБД).

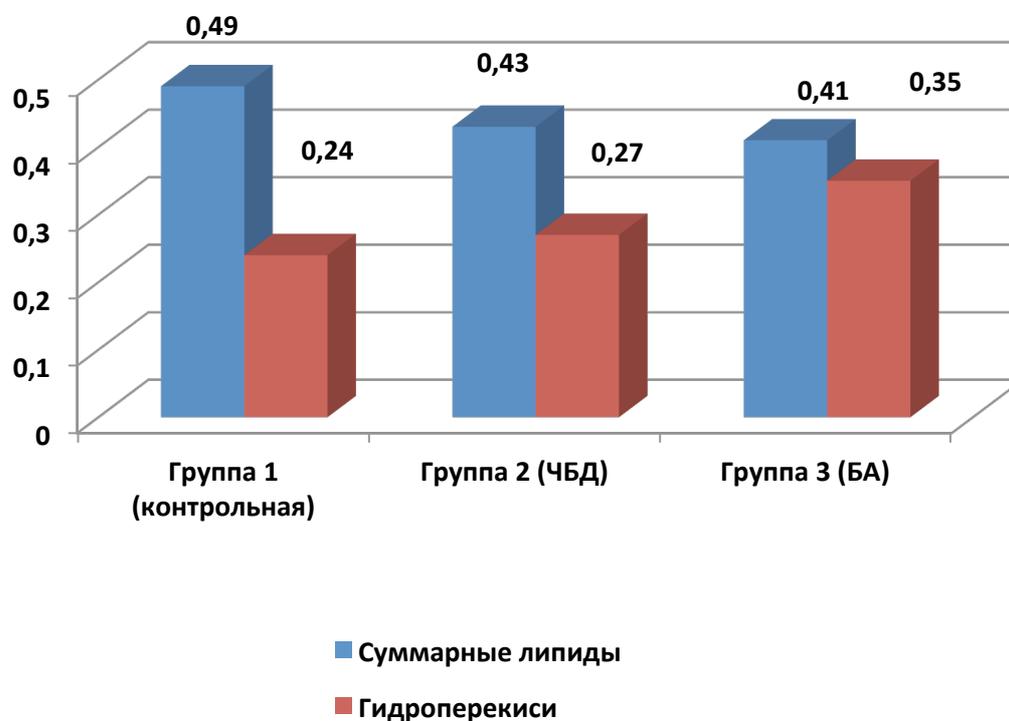


Рис. 5.7 Концентрация суммарных липидов и гидроперекисей в эндоназальных смывах обследуемых детей

Сравнение концентраций диеновых конъюгат показало, что у часто болеющих детей уровень этого показателя составил $0,045 \pm 0,011$ мг/мл, существенно не отличаясь от такового в контроле - $0,037 \pm 0,004$ мг/мл. Максимальным было значение данного показателя в группе детей с бронхиальной астмой - $0,051 \pm 0,003$ мг/мл, достоверно превышающее контрольный уровень (рис. 5.8).

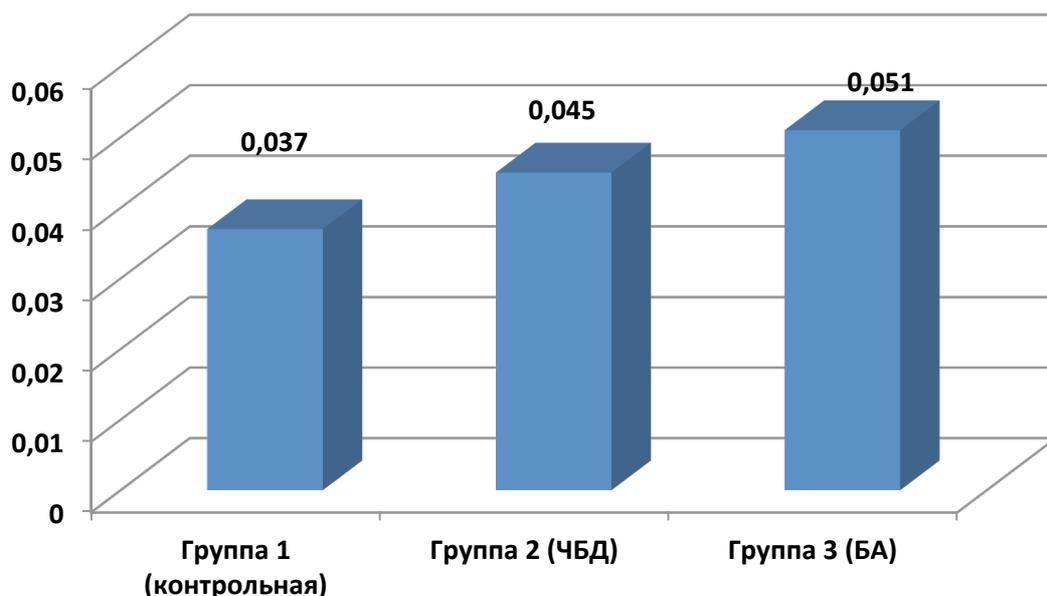


Рис. 5.8 Уровни диеновых конъюгат в эндоназальных смывах обследуемых детей

Оценка показателя окислительного индекса выявила существенные различия в группах обследуемых детей. Так, если в контрольной группе уровень его составил $0,483 \pm 0,019$, у часто болеющих детей значение этого показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) - $0,628 \pm 0,021$. У детей с БА уровень окислительного стресса был максимальным, составив $0,849 \pm 0,034$ и достоверно превышал ($p < 0,05$) соответствующие уровни в группах 1 и 2 (рис. 5.9).

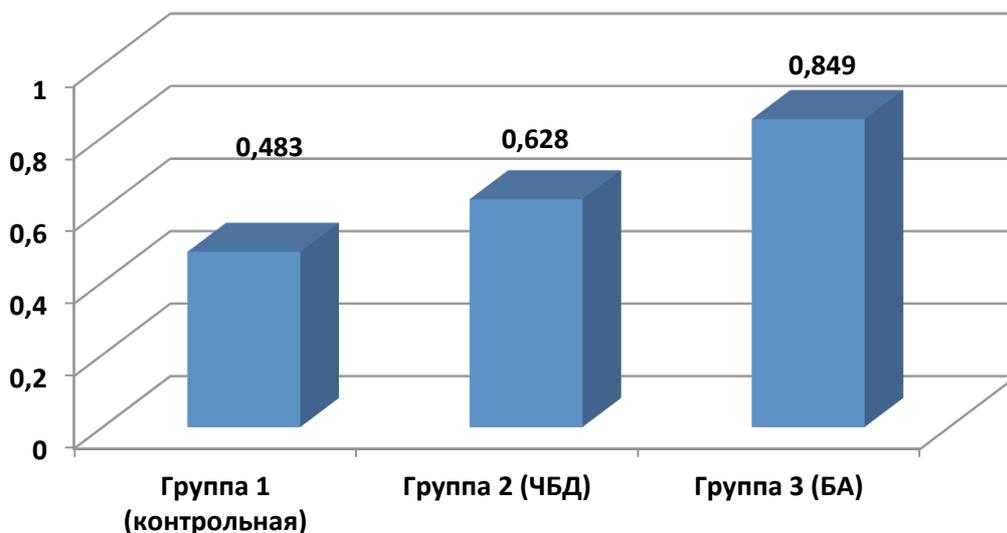


Рис. 5.9. Окислительный индекс эндоназальных смывов обследуемых детей

Исследование процессов свободнорадикального окисления в конденсате выдыхаемого воздуха свидетельствовало о том, что концентрация суммарных липидов у пациентов контрольной группы составила $0,106 \pm 0,007$ мг/мл, в группах ЧБД и детей с БА уровни этого параметра были несколько ниже, составив соответственно $0,093 \pm 0,0005$ и $0,091 \pm 0,008$ мг/мл, однако значимых межгрупповых различий при этом выявлено не было (рис. 5.10).

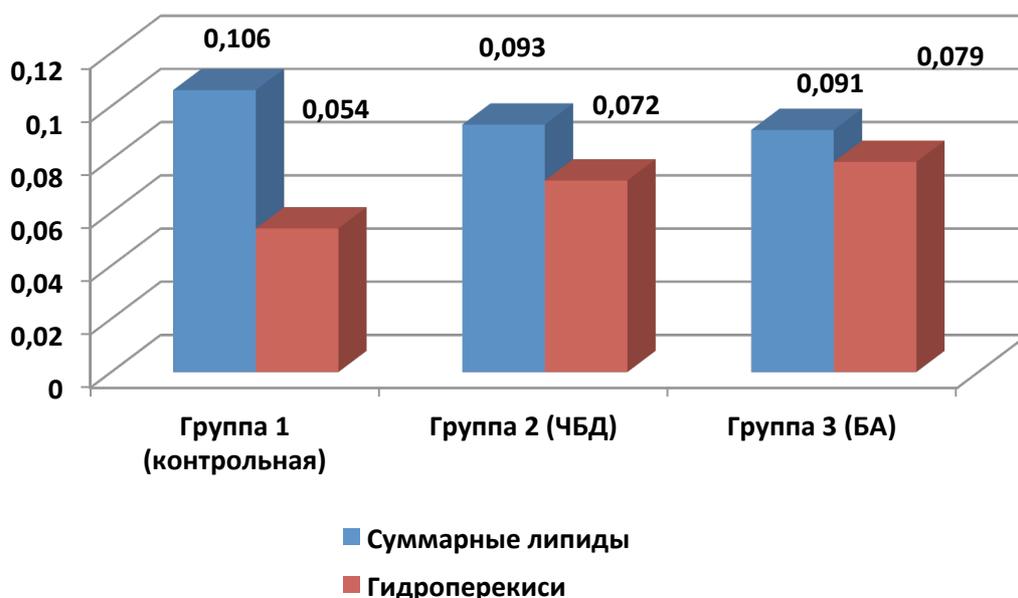


Рис. 5.10 Концентрация суммарных липидов и гидроперекисей в конденсате выдыхаемого воздуха у обследуемых детей.

Уровень содержания гидроперекисей в КВВ у обследуемых контрольной группы составил $0,054 \pm 0,006$ мг/мл, в группе ЧБД значение данного параметра было достоверно выше ($p < 0,05$) - $0,072 \pm 0,007$ мг/мл, в группе детей с БА этот показатель был еще выше $0,079 \pm 0,005$ мг/мл, значимо превышая ($p < 0,05$) уровень контрольной группы.

Сравнение уровней диеновых конъюгат показало, что у часто болеющих детей значение этого показателя составило $0,017 \pm 0,004$ мг/мл, существенно не отличаясь от такового в контроле - $0,013 \pm 0,002$ мг/мл. Максимальным было значение данного показателя в группе детей с бронхиальной астмой - $0,023 \pm 0,003$ мг/мл, что достоверно превышало ($p < 0,05$) соответствующий уровень контрольной группы (рис. 5.11).

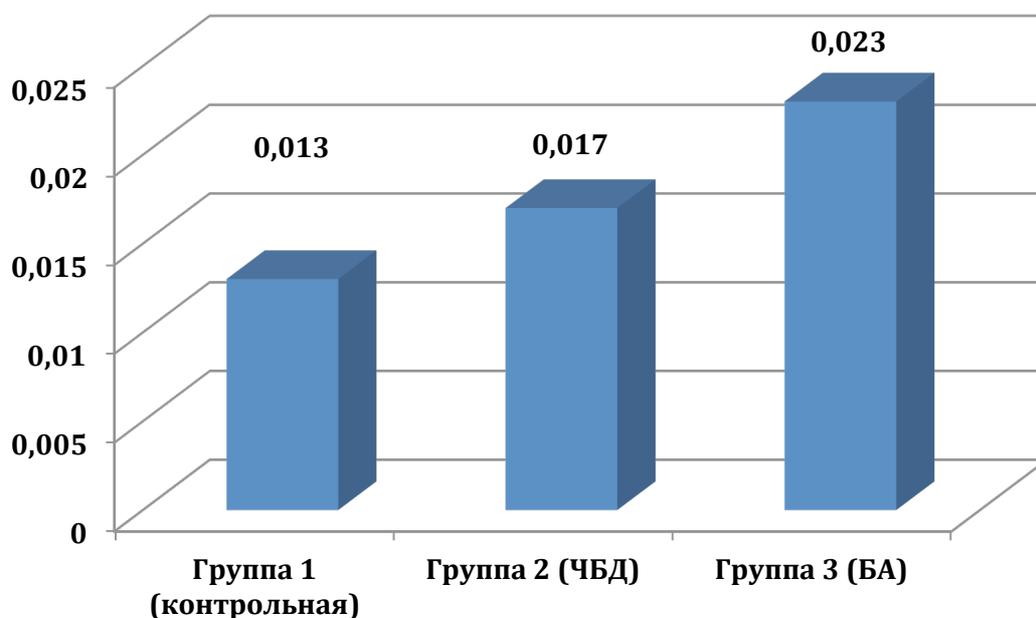


Рис. 5.11. Уровни диеновых конъюгат в конденсате выдыхаемого воздуха у обследуемых детей

Сравнение значений показателя окислительного индекса выявила существенные различия в группах обследуемых детей. В контрольной группе уровень его составил $0,485 \pm 0,018$, у часто болеющих детей значение этого показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) - $0,781 \pm 0,021$. У детей с БА уровень окис-

лительного стресса был максимальным, составив $0,856 \pm 0,033$, что значимо превышало ($p < 0,05$) соответствующие уровни в группах 1 и 2 (рис. 5.12).

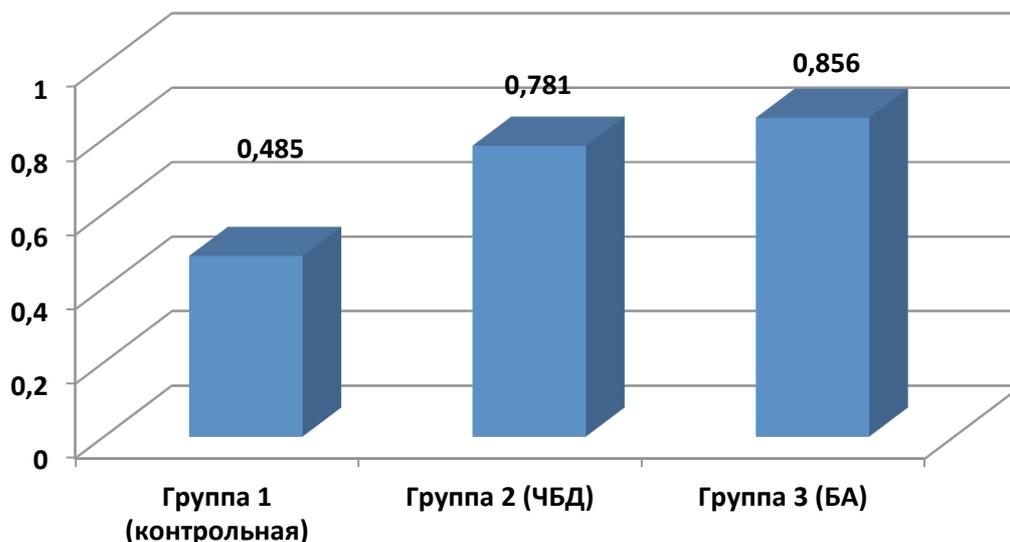


Рис. 5.12. Окислительный индекс КВВ у обследуемых детей

Очевидно, что выявленные изменения показателей свободнорадикального окисления в эндоназальных смывах и конденсате выдыхаемого воздуха являются проявлением системных нарушений в организме обследуемых пациентов из групп часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой. Безусловно, аналогичные сдвиги должны при этом выявляться и в периферической крови этого контингента больных, что и было выявлено в наших дальнейших исследованиях.

5.3 Показатели свободнорадикального окисления и активности антиоксидантной системы периферической крови обследуемых детей

Сравнительная оценка показателей активности СРО и антиоксидантной системы у обследуемых детей до лечения продемонстрировала ряд изменений, представленных в таблице 5.1. Как видно, у часто болеющих детей и детей с БА отмечается значимое повышение ($p < 0,05$) концентраций диеновых конъюгат и малонового диальдегида относительно контрольного уровня, в то время

как значения активности ферментов антиоксидантной системы супероксиддисмутаза и каталаза были достоверно снижены относительно соответствующих значений в контрольной группе.

Таблица 5.1 - Состояние процессов свободнорадикального окисления и активность антиоксидантной системы плазмы крови у обследуемых детей

Показатели	Группы детей		
	Группа 1 (контрольная) (n=58)	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)	Группа 3 (дети с брон- хиальной астмой) (n=83)
Диеновые конъюгаты (ед. отн. плотн./ мг общ.липидов)	0,212±0,029	0,374±0,52*	0,414±0,77*
МДА (ед)	2,08±0,35	3,67±0,36*	3,85±0,21*
СОД (Ед/мг Нв)	1,72±0,41	0,62±0,19*	0,55±0,08*
Каталаза (КАТ) (МЕ/гНв)	28,5±3,2	13,8±3,9*	17,3±2,8*

5.4 Динамика показателей эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха под влиянием лечения

Оценка динамики показателя минимального ПН назальных смывов у обследуемых детей показала, что после проведенного лечения в обеих группах детей - с ЧБД и БА - отмечалось значимое уменьшение этого показателя соответственно до 33,4±1,3 и 36,2±1,5 мН/м (рис. 5.13). Спустя 3 месяца тенденция к уменьшению этих показателей сохранялась, их значения снизились соответственно до 32,5±2,1 и 35,3±1,8 мН/м, при этом значимых межгрупповых отличий отмечено не было.

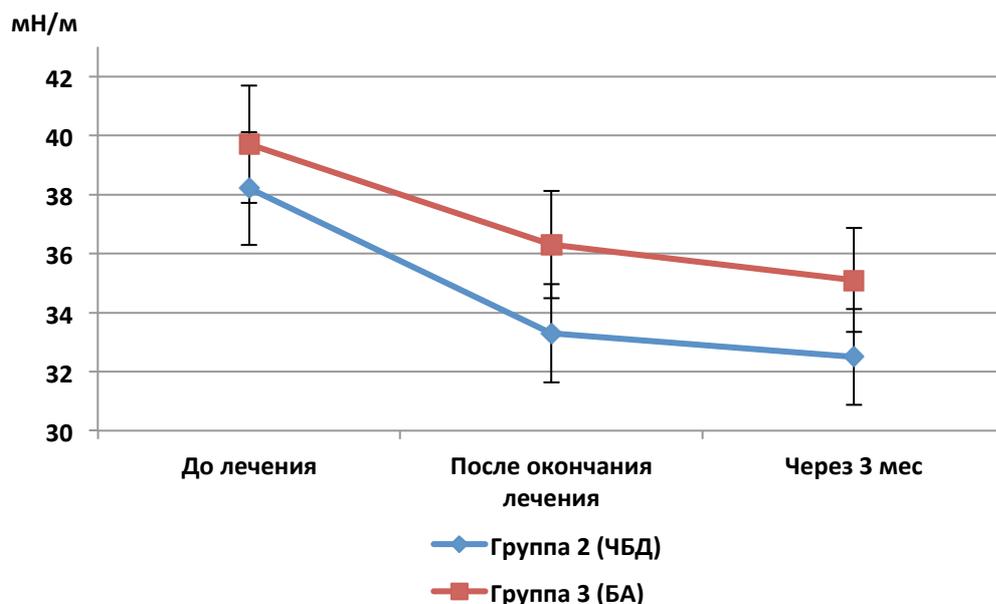


Рис. 5.13. Динамика минимального поверхностного натяжения эндоназальных смывов у обследуемых детей после лечения

Оценка динамики показателя максимального ПН назальных смывов у обследуемых детей не выявила существенной его динамики после проведенного лечения в обеих группах детей - с ЧБД и БА - отмечалось лишь незначительное уменьшение данного параметра соответственно до $53,6 \pm 1,1$ и $52,7 \pm 0,9$ мН/м (рис. 5.14). Спустя 3 месяца значения этих показателей вновь несколько увеличились, значимых отличий от исходного уровня отмечено не было.

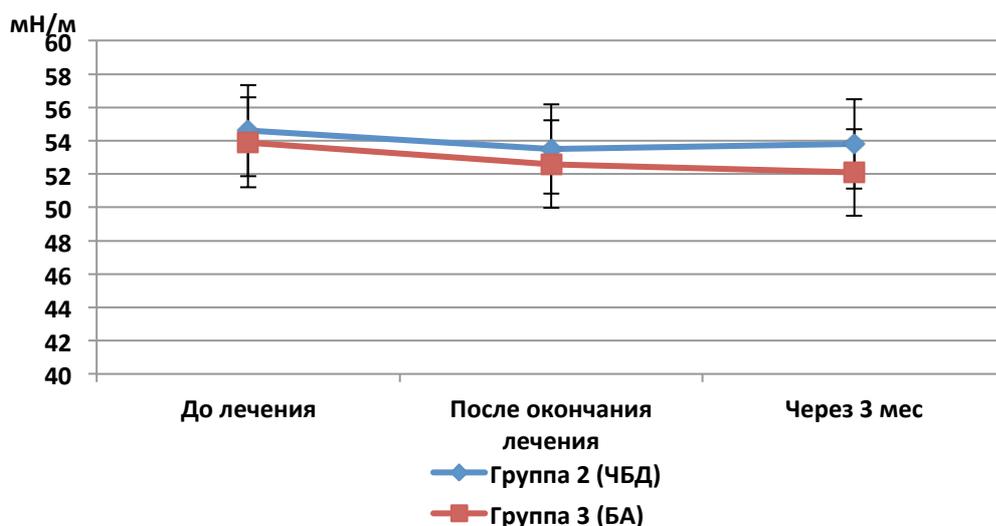


Рис. 5.14. Динамика уровня максимального поверхностного натяжения эндоназальных смывов у обследуемых детей после лечения

Оценка динамики показателя ИС назальных смывов у обследуемых детей показала их значительное возрастание после проведенного лечения в обеих группах детей - с ЧБД и БА - отмечалось значимое увеличение этого показателя соответственно до $0,442 \pm 0,020$ и $0,385 \pm 0,025$ (рис. 5.15). Спустя 3 месяца была отмечена дальнейшая тенденция к возрастанию этого показателя – его значение увеличилось соответственно до $0,465 \pm 0,61$ и $0,433 \pm 0,82$ м, при этом значимых межгрупповых отличий отмечено не было.

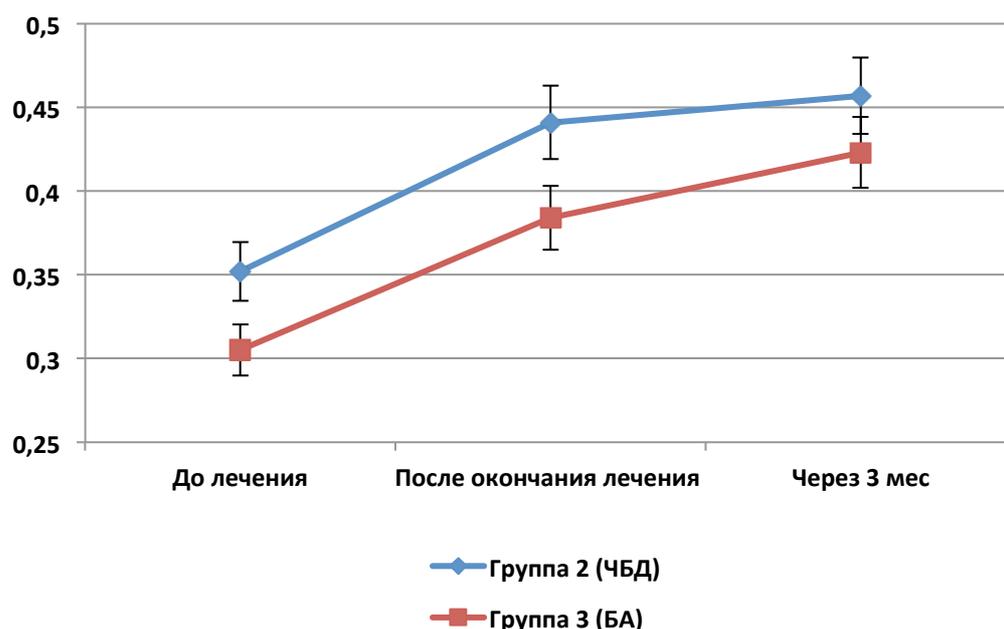


Рис. 5.15 Динамика уровня показателя ИС эндоназальных смывов у обследуемых детей после лечения

Оценка динамики показателя минимального ПН конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей показала, что после проведенного лечения в группе детей с ЧБД отмечалось значимое уменьшение этого показателя соответственно до $42,2 \pm 0,8$ мН/м (рис. 5.16). В то же время уровень этого показателя в группе детей с БА также снизился, но значимых отличий от исходного уровня отмечено не было. Спустя 3 месяца тенденция к уменьшению этого показателя сохранялась у часто болеющих детей, однако у больных с БА значение этого показателя повысилось фактически до исходного уровня.

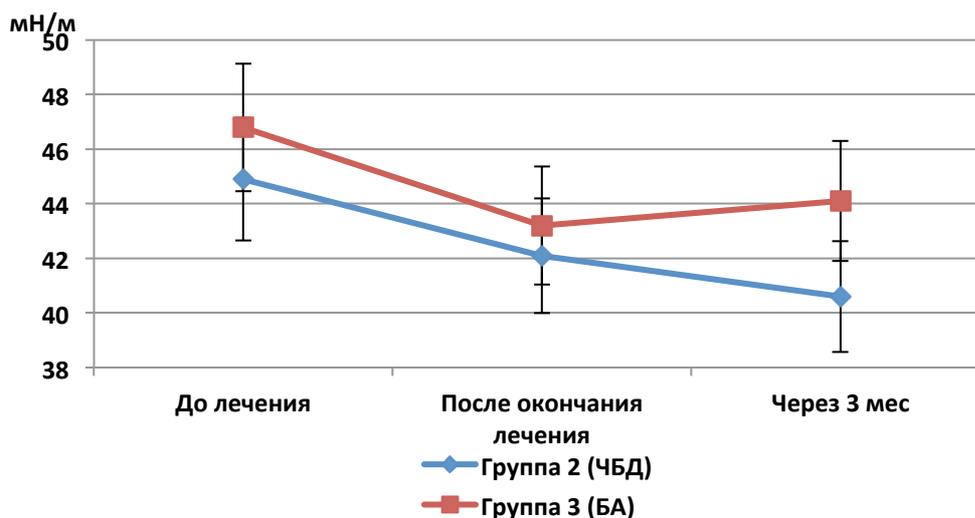


Рис. 5.16. Изменения минимального поверхностного натяжения конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей после проведенного лечения

Исследование динамики показателя максимального ПН конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей не выявило существенных изменений этого параметра как в группе детей с ЧБД, так и у детей с БА (рис. 5.17). Через 3 месяца после окончания лечения также не отмечалось значимых отличий, как от исходного уровня, так и межгрупповых отличий.

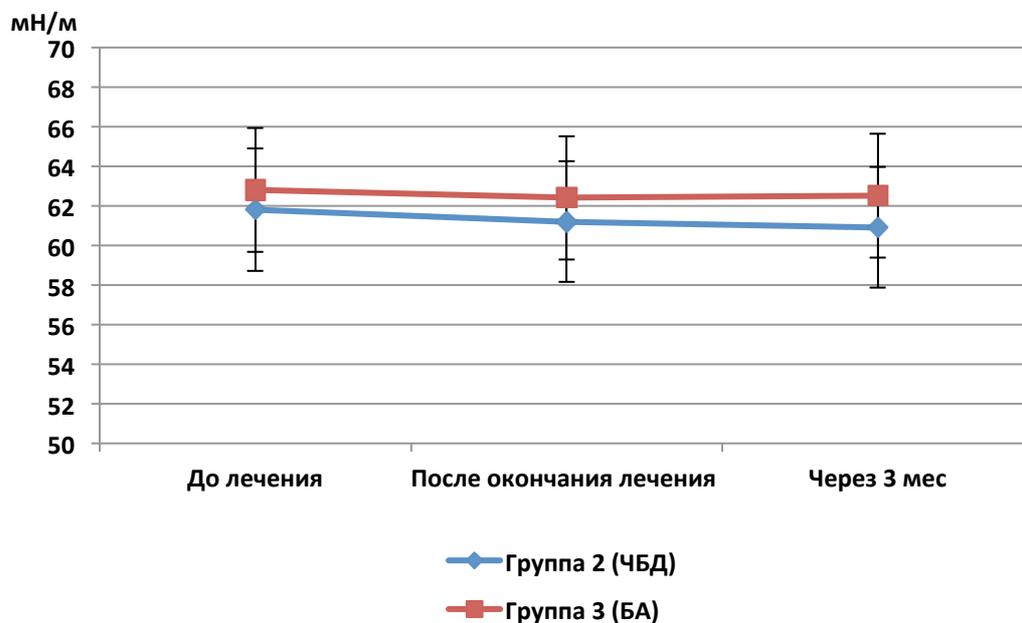


Рис. 5.17. Изменения максимального поверхностного натяжения конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей после проведенного лечения

Оценка динамики показателя ИС КВВ конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей показала, что после лечения в обеих группах детей - с ЧБД и БА - отмечалось увеличение данного показателя соответственно до $0,348 \pm 0,015$ и $0,339 \pm 0,016$ (рис. 5.18). Спустя 3 месяца выявленная тенденция в группе часто болеющих детей, при этом было отмечено дальнейшее увеличение этого показателя, в то время как в группе БА вновь отмечалось снижение уровня ИС.

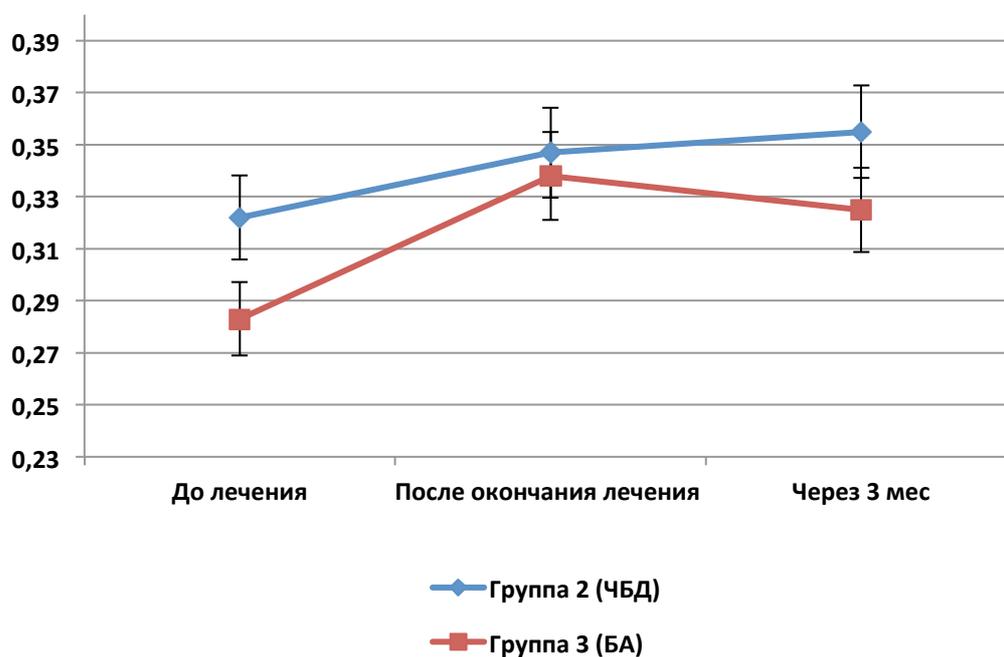


Рис. 5.18 Изменения показателя ИС конденсата выдыхаемого воздуха у обследуемых детей после проведенного лечения

Очевидно, что выявленные сдвиги показателей свободнорадикального окисления назальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха у часто болеющих детей и детей с БА после проведенного курса терапии сопровождались значительной динамикой показателей интенсивности перекисного окисления и активности антиоксидантной системы в периферической крови обследуемых, что и было выявлено на следующем этапе работы.

5.5 Динамика показателей свободнорадикального окисления и активности антиоксидантной системы периферической крови обследуемых детей в процессе лечения

Изучение динамики параметров активности СРО и антиоксидантной системы у обследуемых детей после проведенного лечения продемонстрировало ряд изменений. Так, оценка концентрации диеновых конъюгат свидетельствовала о значимом снижении этого показателя в обеих группах сразу после лечения, при этом в группе ЧБД значение этого показателя снизилось достоверно ($p < 0,05$) относительно исходного уровня, в группе детей с БА уменьшение было менее выраженным (рис. 5.19). Однако, спустя 3 месяца после окончания лечения было отмечено дальнейшее выраженное снижение этого показателя в обеих группах до значений $0,303 \pm 0,15$ и $0,285 \pm 0,31$ соответственно у ЧБД и детей с бронхиальной астмой, при этом значимых межгрупповых отличий выявлено не было.

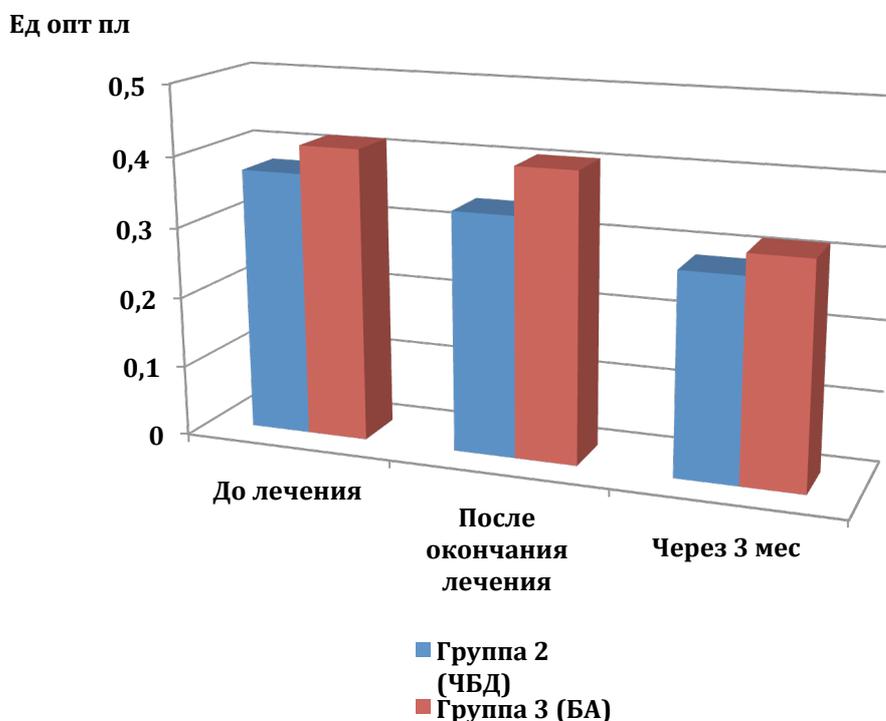


Рис. 5.19. Динамика концентрации диеновых конъюгат в плазме крови обследуемых детей после проведенного лечения.

Исследование динамики другого индикатора активности процессов свободнорадикального окисления - уровня малонового диальдегида после проведенного лечения также показало его существенное снижение после проведенного лечения у детей обеих групп. Так, оценка концентрации МДА показала ее значимое уменьшение в обеих группах сразу после лечения, при этом в группе детей с БА эта динамика была несколько более выраженной, чем у детей с ЧБД (рис.5.20). Спустя 3 месяца после окончания лечения межгрупповые различия были еще более выраженными - было отмечено дальнейшее значимое снижение этого показателя у детей с БА, и менее выраженное, но тем не менее достоверное ($p < 0,05$) относительно предыдущего уровня – у часто болеющих детей.

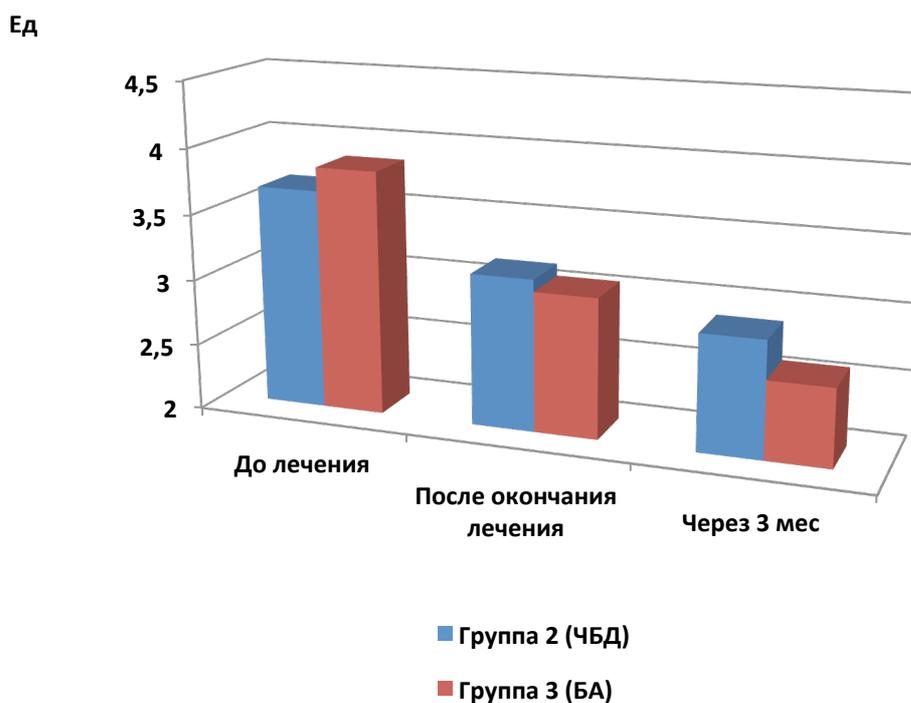


Рис. 5.20. Изменения уровня малонового диальдегида в плазме крови обследуемых детей после проведенного лечения

Исследование динамики показателей активности антиоксидантной системы, напротив, показало значительное увеличение их уровней. Так, активность фермента супероксиддисмутазы плазмы крови обследуемых детей значимо ($p < 0,05$) возросло относительно исходного уровня после проведенного лечения в обеих группах, в большей степени у детей с БА (рис.5.21). Выявленная тен-

денция продолжилась и спустя 3 месяца после окончания лечения, уровни активности СОД еще больше возросли, при этом выявленные ранее соотношения сохранялись – значение показателя было несколько выше в группе детей с БА по сравнению с таковым у часто болеющих детей. Однако при этом значимых межгрупповых отличий выявлено не было.

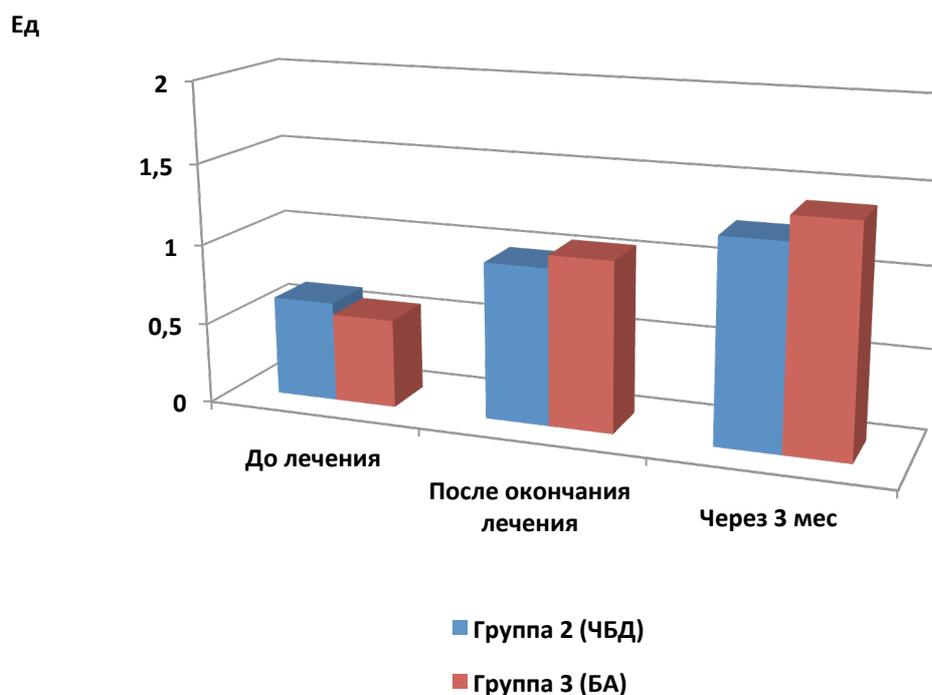


Рис. 5.21. Динамика активности супероксиддисмутазы у обследуемых детей после проведенного лечения

Проведенные исследования свидетельствовали об увеличении активности и другого фермента - каталазы, что также подтверждало существенную активацию АОС после проведенного лечения у детей обеих групп. При этом после окончания лечения было отмечено достоверное увеличение ($p < 0,05$) относительно исходного уровня значений данного показателя в обеих группах, в большей степени выраженное у детей с БА (рис. 5.22). Через 3 месяца выявленная тенденция сохранилась, максимальной была активность каталазы у детей с астмой, несколько ниже – в группе ЧБД, при этом значимых межгрупповых отличий выявлено не было.

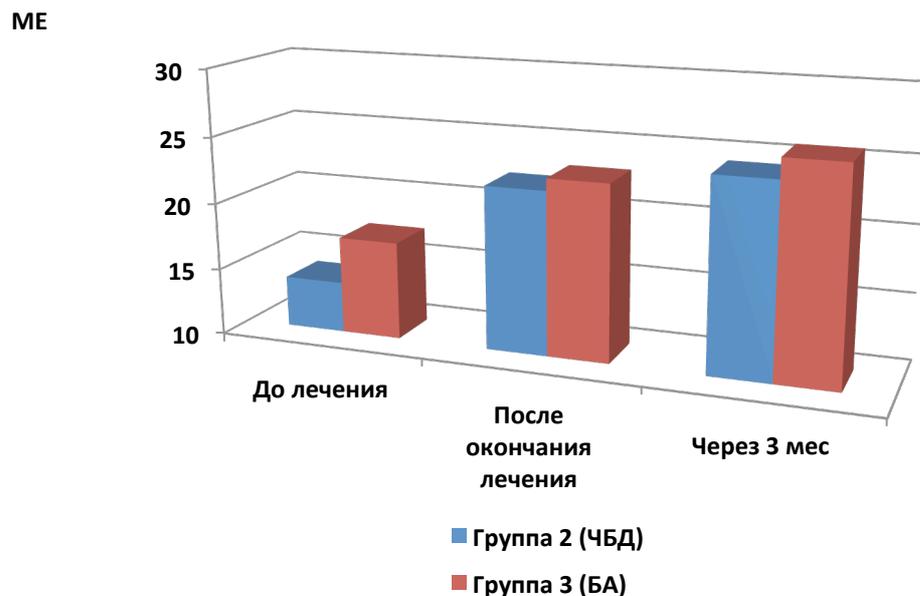


Рис. 5.22. Динамика активности каталазы у обследуемых детей после проведенного лечения

Заключение к главе

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить наличие ряда изменений физико-химических характеристик эндоназальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой. Установлено, что эти нарушения проявляются повышением показателей поверхностного натяжения, снижением концентраций суммарных липидов, увеличением уровней гидроперекисей и диеновых конъюгат в этих биологических средах. Более выраженными являются эти сдвиги в эндоназальных смывах детей с бронхиальной астмой.

Выявлен также ряд изменений активности процессов свободнорадикального окисления наряду со снижением антиоксидантной защиты у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой, что проявляется усилением активности процессов свободнорадикального окисления, в частности повышением концентраций малонового диальдегида и диеновых конъюгат в плазме крови, а также снижением функции антиоксидантной системы - ослаблением активности ферментов супероксиддисмутазы и каталазы. Показано, что в ходе ле-

чения у этих больных отмечается снижение активности процессов свободнорадикального окисления и активация антиоксидантной системы.

Выявленные биохимические сдвиги подтверждают высказываемое многими авторами мнение, что оптимизация баланса про- и антиоксидантных систем организма является важнейшим механизмом и необходимым условием комплекса лечебно-профилактических мероприятий, проводимых детям с частыми инфекционными заболеваниями, развивающимися на аллергическом фоне.

Полученные данные подтвердили, что изменения показателей СРО в эндоназальных смывах и конденсате выдыхаемого воздуха являются проявлением системных нарушений в организме обследуемых пациентов, что подтвердили результаты исследования этих показателей в периферической крови.

Сравнительная оценка показателей активности СРО и антиоксидантной системы у обследуемых детей до лечения продемонстрировала, что у часто болеющих детей и детей с БА отмечалось значимое повышение концентраций диеновых конъюгат и малонового диальдегида относительно контрольного уровня, в то время как значения активности ферментов антиоксидантной системы супероксиддисмутазы и каталазы были достоверно снижены относительно соответствующих значений в контрольной группе.

Таким образом, проведенные исследования показали, что на фоне проведения терапии у обследуемых детей – часто болеющих и с диагнозом бронхиальная астма наблюдалось снижение активности процессов свободнорадикального окисления, о чем свидетельствовало снижение концентрации малонового диальдегида и диеновых конъюгат в плазме крови. Наряду с этим выявлена активация антиоксидантной системы у этих пациентов, что проявлялось активацией ферментных систем – СОД и каталазы. Выявленные биохимические сдвиги подтверждают высказываемое многими авторами мнение, что оптимизация баланса про- и антиоксидантных систем организма является важнейшим механизмом и необходимым условием комплекса лечебно-профилактических меро-

приятый, проводимых детям с частыми инфекционными заболеваниями, развивающимися на аллергическом фоне.

Полученные данные согласуются с установленными к настоящему времени особенностями развития реакций СРО в органах и тканях дыхательной системы, которая, как известно, в силу своих структурно-физиологических особенностей подвергается воздействию многочисленных внутренних и внешних факторов [Кармен Н.Б. и др., 2011; Navaratnam P. et al., 2010]. Разнообразие такого рода воздействий на органы дыхания приводит к увеличению концентрации активных форм кислорода и инициации перекисного окисления липидов, накоплению продуктов пероксидации, повреждению биомембран, модификации белков, липидов, нуклеиновых кислот [Navaratnam P. et al., 2010]. Изменения белков в свою очередь способствуют появлению у них антигенных свойств, что сопровождается сдвигами иммунологических показателей. При этом продукты липидной пероксидации, в частности метаболиты арахидоновой кислоты, усиливают чувствительность рецепторов к гистамину [Новоселов В.И., 2011], а ингибция β -адренорецепторов и активация гистаминовых рецепторов усиливают выделение нейтрофилами и макрофагами активных форм кислорода, что поддерживает высокую активность свободнорадикальных процессов и повреждение тканей дыхательных путей [Соодаева С.К., 2012]. Учитывая рассмотренные выше механизмы инициации и особенностей развития процессов СРО при БА для назначения патогенетически обоснованной терапии целесообразным представляется внедрение в клиническую практику методов оценки поверхностной активности смывов слизистых ВДП и КВВ, а также оксидативного статуса пациентов.

ГЛАВА 6. СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННОЙ И АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

6.1 Показатели клеточного иммунитета детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей до лечения

Оценка количества CD3+ лимфоцитов в периферической крови обследуемых детей показала, что если у детей контрольной группы 1 их абсолютное содержание составило $1,48 \pm 0,15 \times 10^3$ /мкл, то у часто болеющих детей значение этого показателя было достоверно ниже ($p < 0,05$) $1,12 \pm 0,10 \times 10^3$ /мкл. Также значимо ниже, чем в контроле было количество клеток с данным фенотипом у детей группы 3 (БА) - $1,18 \pm 0,08 \times 10^3$ /мкл (табл. 6.1).

Сравнение количества клеток с фенотипом CD4+ (хелперов) показало, что в контрольной группе значение данного показателя было на уровне $0,82 \pm 0,06 \times 10^3$ /мкл, у детей группы 2 (часто болеющие дети) несколько ниже - $0,72 \pm 0,11 \times 10^3$ /мкл, тогда как у обследуемых с бронхиальной астмой (группа 3) абсолютное содержание CD4+ лимфоцитов составило $1,06 \pm 0,13 \times 10^3$ /мкл и было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в остальных группах.

Оценка количества CD8+ лимфоцитов (супрессоров/цитотоксических) свидетельствовала о том, что у здоровых и часто болеющих детей их абсолютное содержание в периферической крови практически не различалось, составив соответственно $0,54 \pm 0,08$ и $0,52 \pm 0,06 \times 10^3$ /мкл. У детей с бронхиальной астмой (группа 3) значение данного показателя было ниже - $0,43 \pm 0,06 \times 10^3$ /мкл, хотя при этом значимых межгрупповых различий выявлено не было.

Исследование количества CD19+ клеток (В-лимфоцитов) в периферической крови обследуемых детей свидетельствовало о том, что в контрольной группе 1 их абсолютное содержание было минимальным и составило $0,58 \pm 0,12 \times 10^3$ /мкл. В группе 2 (часто болеющие дети) значение данного по-

казателя было выше - $0,77 \pm 0,08 \times 10^3$ /мкл, но достоверно не отличалось от такового в контроле. Максимальным был уровень В-лимфоцитов в периферической крови детей с бронхиальной астмой - $0,86 \pm 0,11 \times 10^3$ /мкл, значение данного параметра было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в группе 1.

Таблица 6.1 - Абсолютное содержание иммунокомпетентных клеток в периферической крови у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Показатели	Группа 1 (контрольная) (n=58)	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)	Группа 3 (дети с бронхи- альной астмой) (n=83)
CD3, $\times 10^3$ /мкл	1,48 \pm 0,15	1,12 \pm 0,10*	1,18 \pm 0,08*
CD4, $\times 10^3$ /мкл	0,82 \pm 0,06	0,72 \pm 0,11	1,06 \pm 0,13*#
CD8, $\times 10^3$ /мкл	0,54 \pm 0,08	0,52 \pm 0,06	0,43 \pm 0,06
CD19, $\times 10^3$ /мкл	0,58 \pm 0,12	0,77 \pm 0,08	0,86 \pm 0,11*
CD25, $\times 10^3$ /мкл	0,07 \pm 0,01	0,11 \pm 0,02	0,16 \pm 0,03*#
CD16, $\times 10^3$ /мкл	0,37 \pm 0,05	0,27 \pm 0,04*	0,23 \pm 0,05*

Примечание:

* - различия достоверны ($p < 0,05$) относительно соответствующих значений группы 1 по критерию Манна-Уитни;

- различия достоверны ($p < 0,05$) относительно соответствующих значений группы 2 по критерию Манна-Уитни

Оценка уровня CD25+ лимфоцитов (несущих рецепторы к интерлейкину-25) показала, что если у здоровых детей его уровень составил $0,07 \pm 0,01 \times 10^3$ /мкл, то максимальным было значение этого показателя у детей с бронхиальной астмой - $0,16 \pm 0,03 \times 10^3$ /мкл, что было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в остальных группах, при этом в группе 2 (часто болеющие дети) отмечен промежуточный уровень данного параметра $0,11 \pm 0,02 \times 10^3$ /мкл, значимо не отличавшийся от таковых в группах 1 и 3.

Следует отметить, что абсолютное количество клеток с фенотипом CD16+ (естественных киллеров) было максимальным у детей контрольной

группы - $0,37 \pm 0,05 \times 10^3$ /мкл, тогда как в группах 2 и 3 количество этих клеток было достоверно ниже ($p < 0,05$), составив соответственно $0,27 \pm 0,04 \times 10^3$ /мкл и $0,23 \pm 0,05 \times 10^3$ /мкл.

Оценка относительных количеств лимфоцитов с различными детерминантами в периферической крови показала несколько иное распределение. Так, значение процентного содержания CD3+ клеток у детей контрольной группы составило $62,3 \pm 4,5$ % и было значимо выше ($p < 0,05$), чем в группе 2 (ЧБД) - $46,2 \pm 5,1$ %. У детей с бронхиальной астмой значение данного показателя было на промежуточном уровне ($55,5 \pm 6,1$ %) и достоверно не отличалось от таковых в группах 1 и 2 (рис. 6.1).

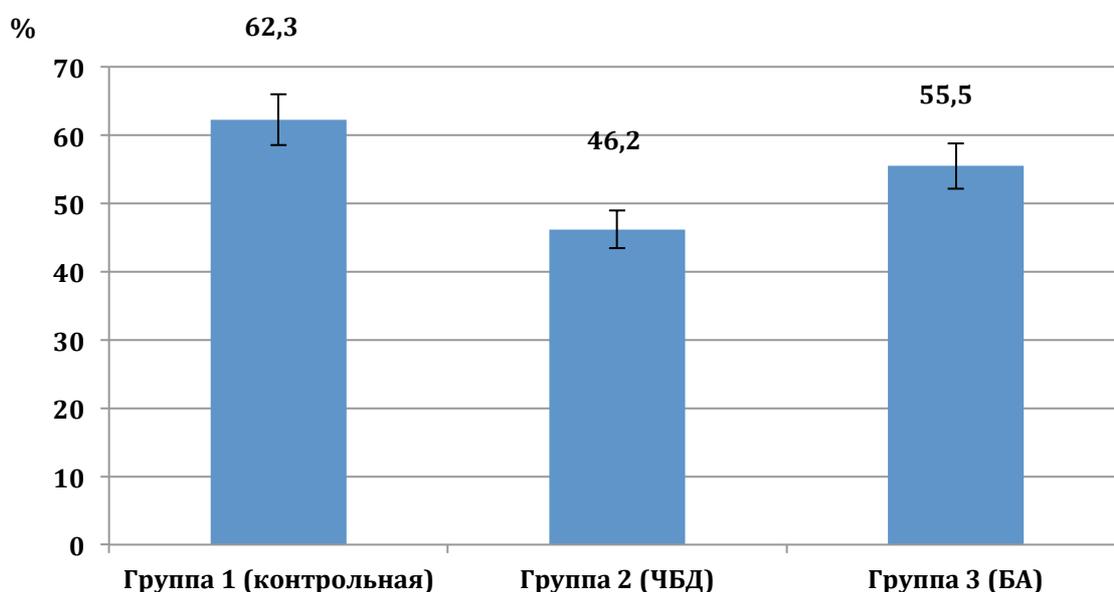


Рис. 6.1 Относительное количество CD3+ лимфоцитов в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой

Сравнение уровня CD4+ лимфоцитов свидетельствовало о том, что максимальным было количество клеток-хелперов у детей с бронхиальной астмой - $56,1 \pm 4,4$ %, это значение было достоверно выше соответствующих показателей в контрольной группе 1 - $47,5 \pm 3,2$ % и у часто болеющих детей - $39,0 \pm 5,2$ % (рис. 6.2). В последних двух группах достоверных отличий по данному показателю отмечено не было.

Сопоставление относительных количество CD8+ клеток показало, что максимальным был уровень этого показателя у здоровых детей - $29,5 \pm 3,4$ %, тогда как в группах 2 и 3 его значение было достоверно ниже ($p < 0,05$), составив соответственно $20,1 \pm 2,4$ и $22,5 \pm 3,5$ %

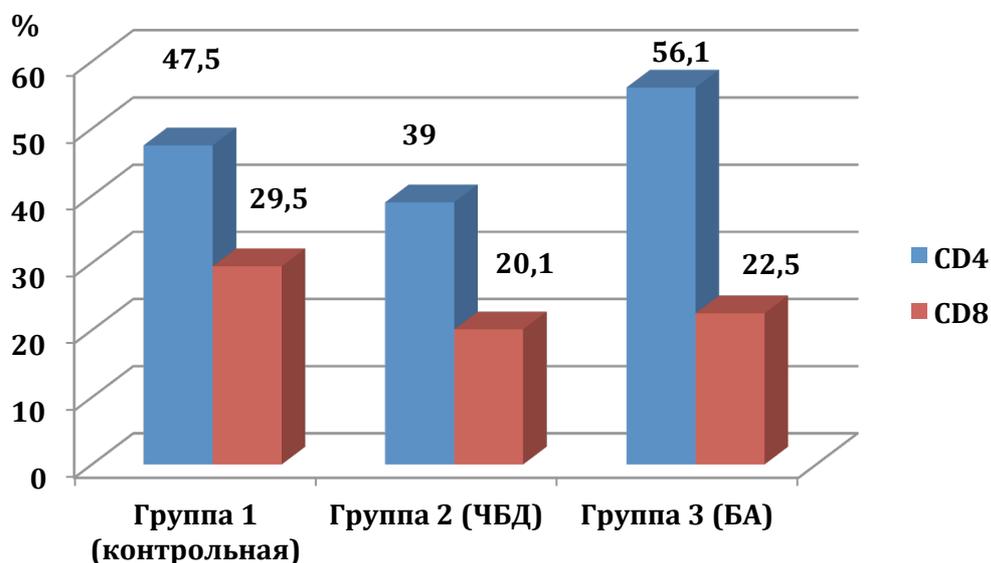


Рис. 6.2 Относительное количество CD4+ и CD8+ лимфоцитов в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Оценка процентного содержания клеток с фенотипом CD19 показала, что если в контроле значение этого показателя было на уровне $18,3 \pm 4,2$ %, то у часто болеющих детей его значение было достоверно ниже ($p < 0,05$) - $11,5 \pm 3,1$ %, а у детей с бронхиальной астмой – достоверно выше ($p < 0,05$), чем в контрольной группе - $22,4 \pm 2,5$ % (рис. 6.3).

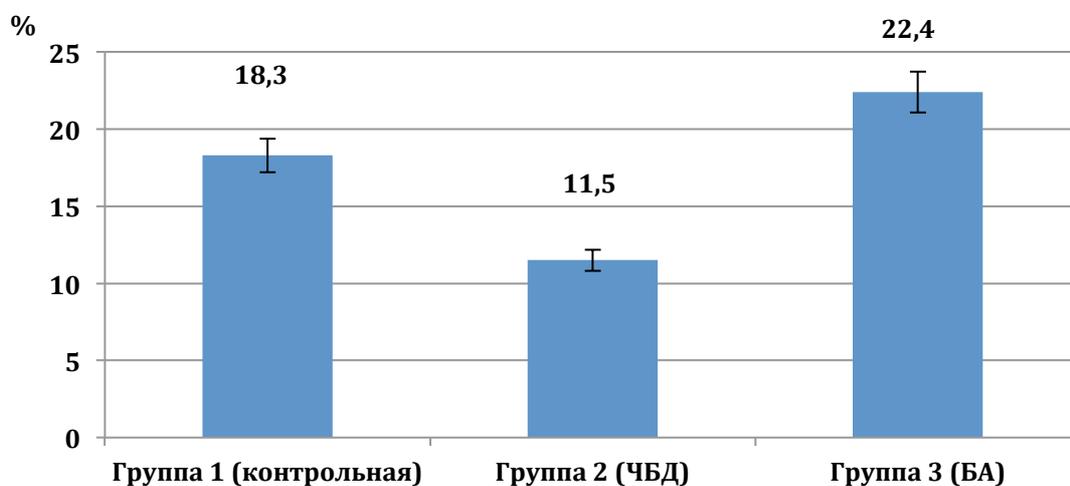


Рис. 6.3 Относительное количество CD19+ лимфоцитов в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Сравнение значений показателя для лимфоцитов, несущих рецептор к ИЛ-2 (CD25), показало, что максимальным было их относительное количество в контроле - $12,4 \pm 3,2$ %, в то время как в группе 2 (ЧБД) значение данного показателя было достоверно ниже ($p < 0,05$) - $7,2 \pm 1,1$ %. У детей с БА количество этих клеток в периферической крови было на промежуточном уровне - $9,5 \pm 3,3$ %, достоверно не отличаясь от таковых в группах 1 и 2 (рис. 6.4).

Наконец, оценка относительного количества CD16+ лимфоцитов показала, что уровень клеток – естественных киллеров у детей контрольной группы был максимальным - $12,2 \pm 2,2$ %, у часто болеющих детей несколько ниже - $9,5 \pm 3,4$ %, но достоверно не отличался от показателя в контроле. Минимальным было значение этого показателя в группе 3 (БА) - $8,4 \pm 1,1$ %, достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в группе здоровых детей.

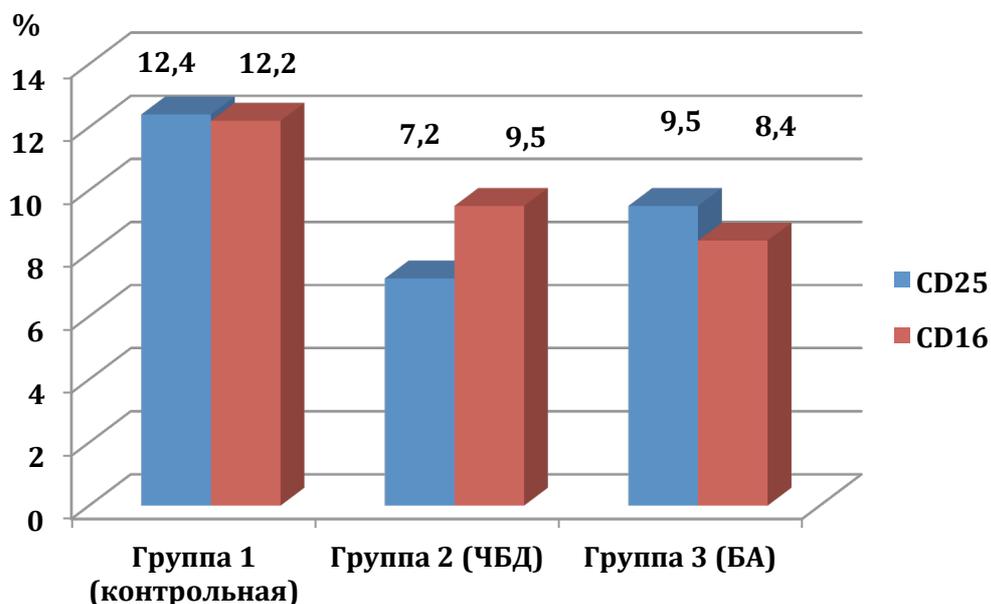


Рис. 6.4 Относительное количество CD16+ и CD25+ лимфоцитов в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

6.2 Характеристика гуморального звена иммунитета у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой

Оценка концентраций иммуноглобулинов показала, что уровень IgA у детей контрольной группы 1 составил $1,18 \pm 0,11$ г/л, в группе 2 (часто болеющие дети) - $0,92 \pm 0,06$ г/л, группа 3 (дети с бронхиальной астмой) - $1,07 \pm 0,18$ г/л (рис. 6.5). При этом значимых межгрупповых различий выявлено не было.

Сравнение уровней IgM у обследуемых детей выявило, что в контроле его значение было минимальным и составило $1,14 \pm 0,22$ г/л, тогда как в группах 2 и 3 уровень этого показателя был значимо выше ($p < 0,05$) и составил соответственно $1,53 \pm 0,12$ и $1,62 \pm 0,09$ г/л.

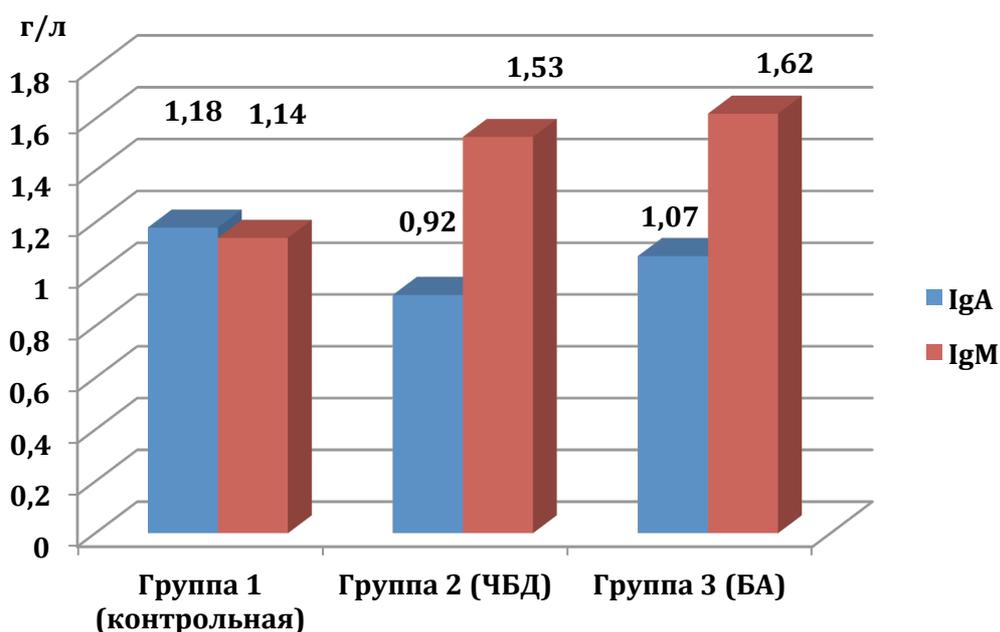


Рис 6.5. Концентрации иммуноглобулинов А и М в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Уровень IgG у детей контрольной группы 1 составил $6,75 \pm 0,50$ г/л (рис. 6.6). Максимальным было значение данного показателя у часто болеющих детей - $9,52 \pm 0,62$ г/л, что достоверно превышало ($p < 0,05$) соответствующий уровень в контроле. У детей с бронхиальной астмой концентрация IgG также была значимо выше ($p < 0,05$), чем в контрольной группе и составила $8,93 \pm 0,21$ г/л.

Сопоставление уровней IgE у обследуемых детей показало, что у в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) его значение было закономерно максимальным - $675,2 \pm 115,4$ МЕ/мл, что достоверно превышало ($p < 0,05$) соответ-

ствующие уровни в контроле $56,2 \pm 19,5$ МЕ/мл и у часто болеющих детей - $115,4 \pm 22,1$ МЕ/мл (рис. 6.7). Последнее значение также достоверно превышало ($p < 0,05$) показатель контрольной группы.

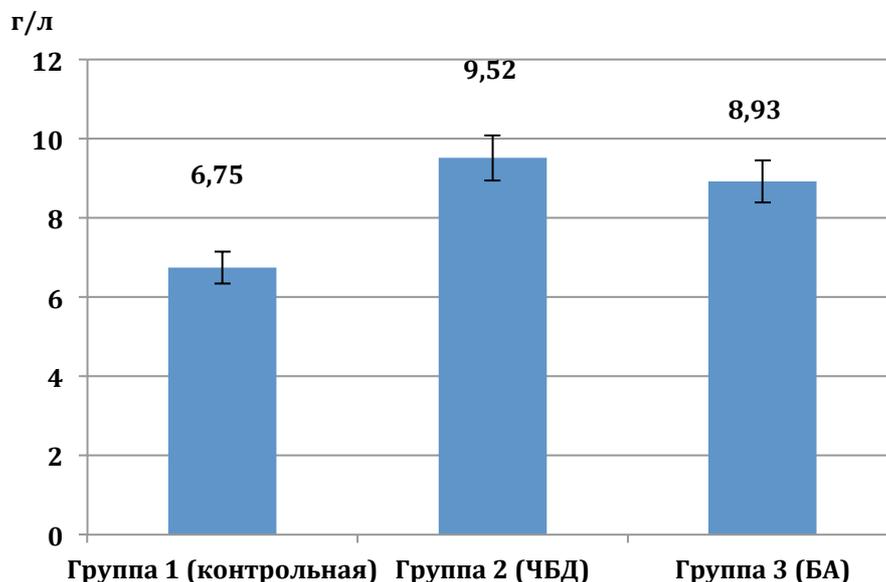


Рис. 6.6 Концентрация иммуноглобулина G в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

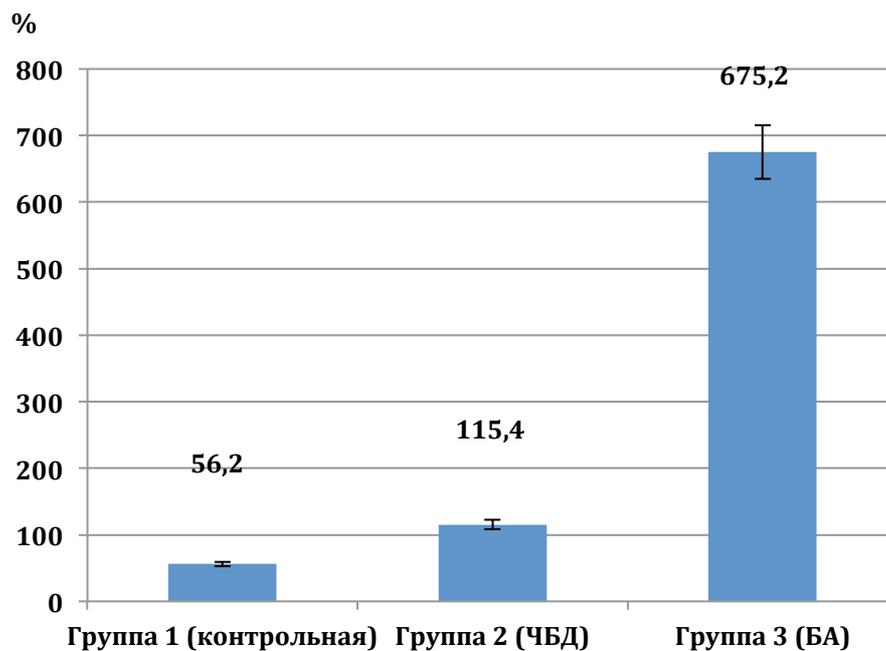


Рис. 6.7 Концентрация иммуноглобулина E в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Анализ уровня интерлейкинов показал, что минимальной была концентрация ИЛ-2 в сыворотке детей контрольной группы 1 - $3,8 \pm 1,0$ пг/мл, тогда как в группе 2 (часто болеющие дети) значение данного параметра было максимальным - $13,1 \pm 2,6$ пг/мл, достоверно превышающим ($p < 0,05$) соответствующий уровень в контроле (рис. 6.8). У детей с бронхиальной астмой) концентрация этого цитокина также была значимо выше ($p < 0,05$), чем в контроле - $9,8 \pm 2,3$ пг/мл, но при этом не отличалась от таковой в группе ЧБД.

Оценка концентраций ИЛ-4 свидетельствовала о его существенном повышении ($p < 0,05$) относительно уровня в контроле ($4,2 \pm 1,2$ пг/мл), у часто болеющие детей и детей с БА, соответственно до $30,6 \pm 5,9$ и $21,7 \pm 3,2$ пг/мл.

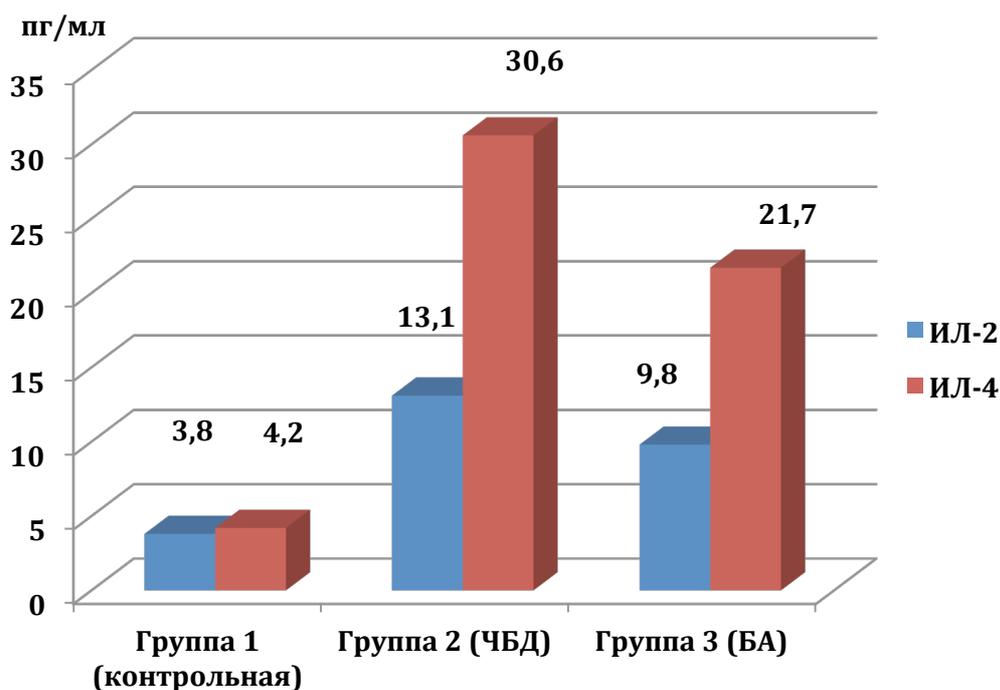


Рис. 6.8. Уровни интерлейкинов 2 и 4 в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Концентрация ФНО- α у детей контрольной группы также была минимальной и составила $11,4 \pm 0,6$ пг/мл, тогда как в группе 2 (часто болеющие дети) ее значение было на порядок выше ($p < 0,05$) - $121,5 \pm 21,7$ пг/мл (рис.6.9). У детей с бронхиальной астмой уровень этого цитокина также был существенно

выше ($p < 0,05$), чем в контроле $97,9 \pm 16,5$ пг/мл, при этом значимо не отличаясь от соответствующего показателя в группе ЧБД.

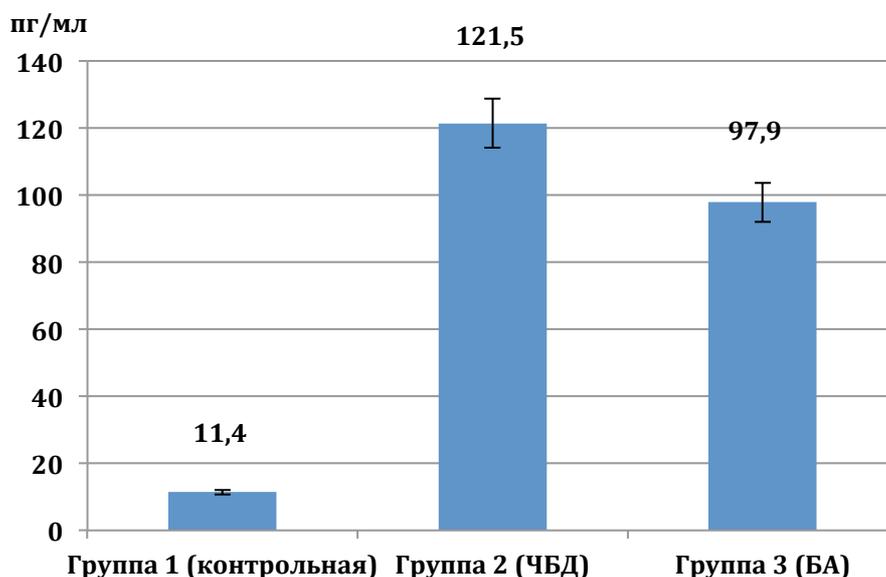


Рис. 6.9. Уровень фактора некроза опухоли – альфа в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Уровни ИНФ- γ в меньшей степени различались в группах обследуемых детей, составив в контрольной группе $42,1 \pm 3,8$ пг/мл, у детей с БА- $37,9 \pm 4,8$ пг/мл (рис. 6.10). В группе 2 (ЧБД) концентрация интерферона была значимо ниже ($p < 0,05$), чем в остальных группах - $22,1 \pm 4,2$ пг/мл.

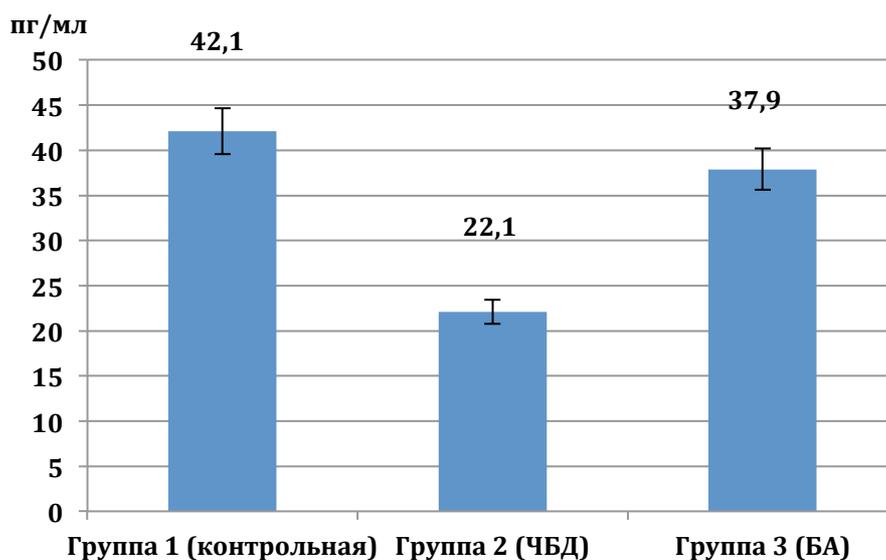


Рис. 6.10 Уровень интерферона-гамма в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

6.3 Состояние неспецифической резистентности у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой

Уровень катионных белков у детей контрольной группы 1 составил $1,52 \pm 0,12$ %, в группе 2 (часто болеющие дети) значение данного показателя существенно не отличалось - $1,42 \pm 0,06$ % (рис. 6.11). Максимальным было значение данного показателя у детей группы 3 (БА) - $1,82 \pm 0,11$ %, что было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в остальных группах.

Аналогичным было соотношение активности миелопероксидазы. Так, у детей контрольной группы 1 значение этого показателя составило $1,82 \pm 0,15$ %, у ЧБД было несколько ниже, но значимо не отличалось от такового в контроле - $1,64 \pm 0,11$ % (рис. 6.11). Максимальной была активность фермента у детей с бронхиальной астмой, значение данного показателя составило $2,27 \pm 0,20$ %, что было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в остальных группах.

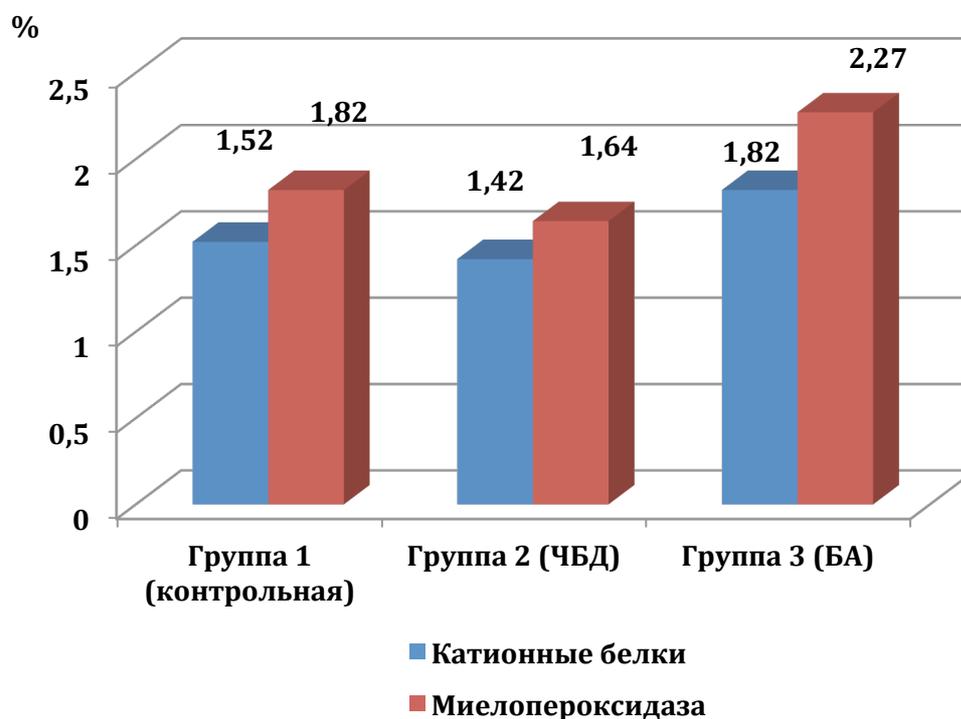


Рис. 6.11 Уровень катионных белков и активность миелопероксидазы в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Оценка показателя НСТ-теста не выявила существенных межгрупповых различий. При этом у детей контрольной группы его значение составило $6,8 \pm 0,8$ %, в группе 2 (часто болеющие дети) - $6,1 \pm 0,7$ %, у детей с бронхиальной астмой - $7,9 \pm 0,5$ % (рис. 6.12).

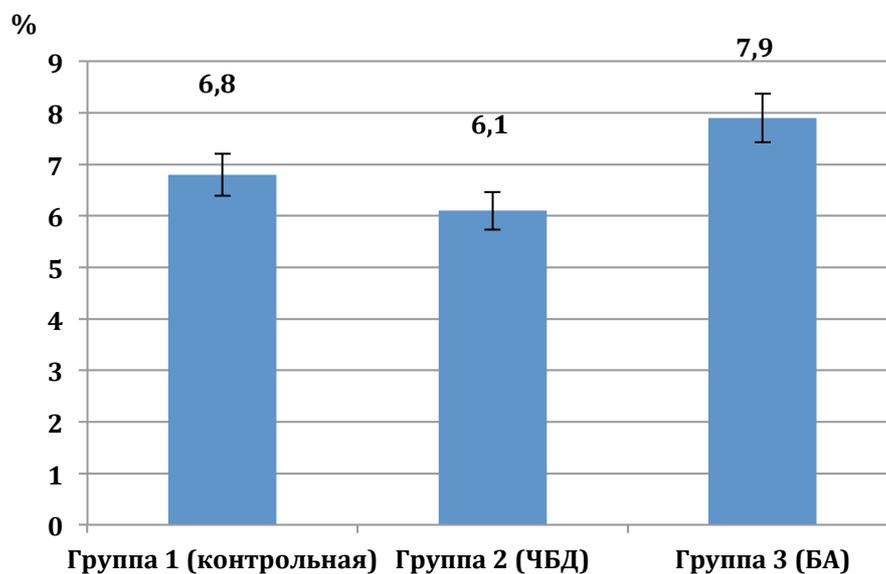


Рис. 6.12. Показатель НСТ-теста у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

6.4 Оценка состояния слизистых оболочек верхних дыхательных путей у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой

Анализ цитологической картины отделяемого слизистой оболочки носа у обследуемых детей показал, что доля нейтрофилов среди всех клеток у детей контрольной группы 1 составила $19,8 \pm 2,3$ % (рис. 6.13). У детей группы 2 (ЧБД) – значение этого показателя было несколько выше, но достоверно не отличалось от такового в контроле - $22,7 \pm 3,0$ %. В то же время в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) уровень этого показателя был максимальным и составил $35,3 \pm 4,6$ %, значимо превышая ($p < 0,05$) соответствующие значения в остальных группах.

Оценка количества эозинофилов также показала их минимальное значение у детей контрольной группы 1 - $7,3 \pm 1,1$ %, в то время как в группах 2 и 3 уровни данного параметра было значимо выше ($p < 0,05$), составив соответственно $15,5 \pm 2,8$ и $26,4 \pm 5,1$ %.

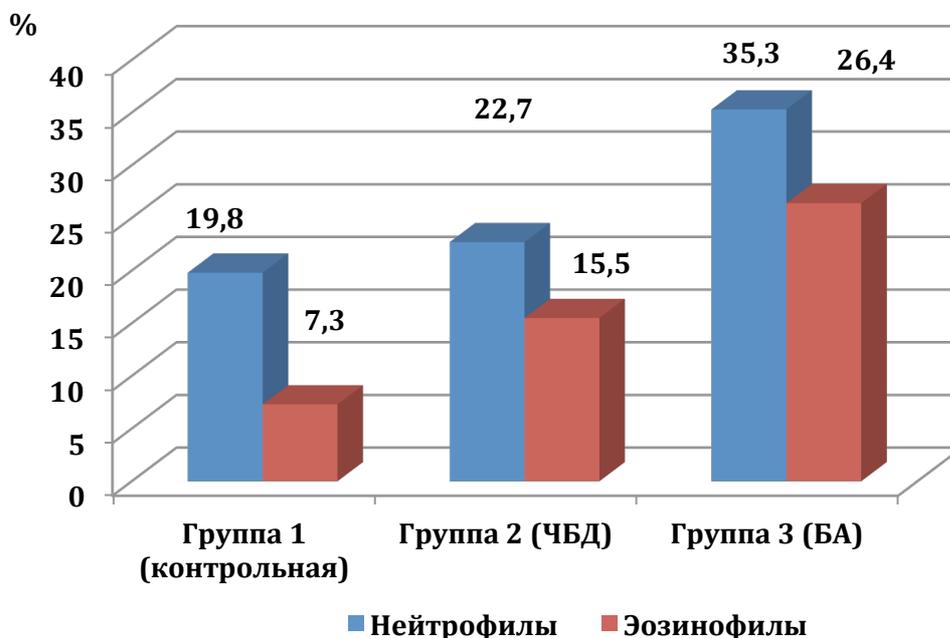


Рис. 6.13. Цитологическая картина отделяемого слизистой оболочки носа у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Анализ микрофлоры, высеваемой со слизистых оболочек полости носа и зева у обследуемых детей показал, что если у детей контрольной группы *St. Aureus* был выявлен только в 5,2 % случаях, то у часто болеющих детей и детей с БА значение этого показателя было выше более чем в 10 раз ($p < 0,05$) и составило соответственно 51,4 и 60,2 % (табл. 6.2).

Str. Pyogenes был обнаружен в контроле только в 8,6 % случаев, тогда как у детей групп 2 и 3 значительно чаще ($p < 0,05$) - в 29,7 и 37,4 % случаях. Высеваемость *Enterococcus faec.* составила у детей контрольной группы 14,3 %, в группе 2 (часто болеющие дети) - 21,6 %, в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) - 19,3 %, при этом значимых различий выявлено не было.

Klebsiella pneum. была отмечена в 5,2 % случаях у детей контрольной группы, в группах 2 и 3 - несколько чаще - у 14,9 и 13,3 % детей ($p > 0,05$). *Candida albicans* был выявлен лишь у 1 ребенка контрольной группы (3,5 %),

тогда как в группе 2 (часто болеющие дети) - в 9,5 % случаях, а в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) – у 10,8 % детей ($p>0,05$).

В целом частота выявления монофлоры составила у детей контрольной группы 1 25,9 %, в группе 2 (ЧБД) - 40,5 %. В группе 3 (БА) значение этого показателя было максимальным - 55,4 %, значимо превышающим ($p<0,05$) таковое в контроле.

Микстфлора редко отмечалась у детей контрольной группы - лишь в 12,1 % случаев, в то время как в группах 2 и 3 уровень этого показателя был в 3,5-5 раз выше ($p<0,05$) и составил соответственно 59,5 и 44,6 %.

Не было выявлено микрофлоры при посевах отделяемого слизистых оболочек полости носа и зева у большинства детей контрольной группы (62,1 %), тогда как в группах 2 и 3 – не было таких детей.

Таблица 6.2 - Характеристика микрофлоры по результатам микробиологического исследования полости носа и зева у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M\pm m$)

Виды микроорганизмов	Группа 1 (контрольная) (n=58)		Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
St. Aureus	3	5,2	38	51,4*	50	60,2*
Str. Pyogenes	5	8,6	22	29,7	31	37,4
Enterococcus faec.	7	14,3	16	21,6	16	19,3
Klebsiella pneum.	3	5,2	11	14,9	11	13,3
Candida albicans	1	3,5	7	9,5	9	10,8
Монофлора	15	25,9	30	40,5	46	55,4*
Микстфлора	7	12,1	44	59,5*	37	44,6*
Не выявлено	36	62,1	-	-	-	-

Примечание: * - различия достоверны ($p<0,05$) относительно соответствующих значений группы 1 по критерию χ^2

6.5 Динамика показателей клеточного иммунитета детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей после лечения

Анализ динамики абсолютного количества CD3+ лимфоцитов ($\times 10^3$ /мкл) у обследуемых детей показал, что если до лечения значения этого показателя в группах детей с ЧБД и БА практически не различались, то после окончания лечения - у детей группы 2 его значение достоверно увеличилось ($p < 0,05$) относительно исходного уровня до $1,32 \pm 0,08 \times 10^3$ /мкл (рис. 6.14). В группе 3 (БА) наблюдалось значительно более выраженное увеличение этого показателя до $1,96 \pm 0,21 \times 10^3$ /мкл. Это значение было достоверно выше ($p < 0,05$) такового до лечения и в группе 2. Спустя 3 месяца после окончания лечения отмечено снижение данного показателя – в группе 2 (ЧБД) - до $1,19 \pm 0,11 \times 10^3$ /мкл, в группе 3 (БА) - до $1,50 \pm 0,16 \times 10^3$ /мкл, при этом последнее значение было по-прежнему достоверно выше ($p < 0,05$) абсолютного количества CD3+ клеток до лечения и в группе часто болеющих детей.

Через 6 месяцев - было выявлено дальнейшее снижение показателя – в группах 2 и 3 соответственно до $1,21 \pm 0,34$ и $1,28 \pm 0,11 \times 10^3$ /мкл. Значимых межгрупповых отличий и от исходного уровня отмечено не было.

Оценка изменений относительного количества CD3-лимфоцитов (%) показала некоторое увеличение данного показателя после окончания лечения в обеих группах - в группе 2 (часто болеющие дети) - до $53,2 \pm 2,2$ %, в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) – до $67,7 \pm 3,1$ % (рис. 6.15). Последнее значение было достоверно выше ($p < 0,05$) исходного уровня и значения показателя в группе 2 (ЧБД). Спустя 3 и 6 месяцев уровни этого параметра несколько снизились, но по-прежнему были в оба срока значимо выше ($p < 0,05$) у детей с бронхиальной астмой ($60,4 \pm 2,7$ % через 6 месяцев), чем в группе часто болеющих детей - $49,1 \pm 2,6$ %.

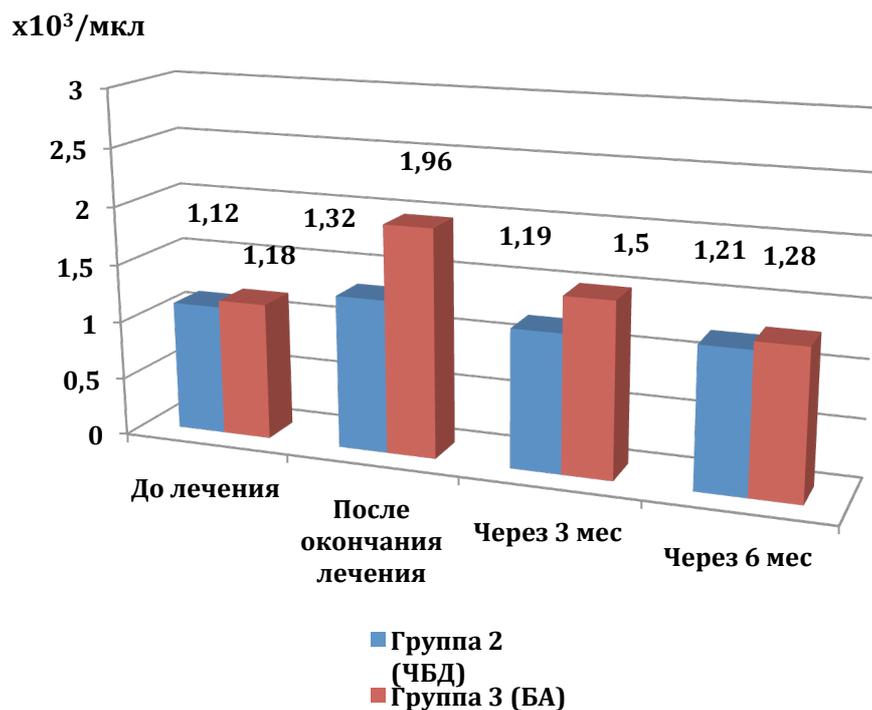


Рис. 6.14. Динамика абсолютного количества CD3+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения (M±m)

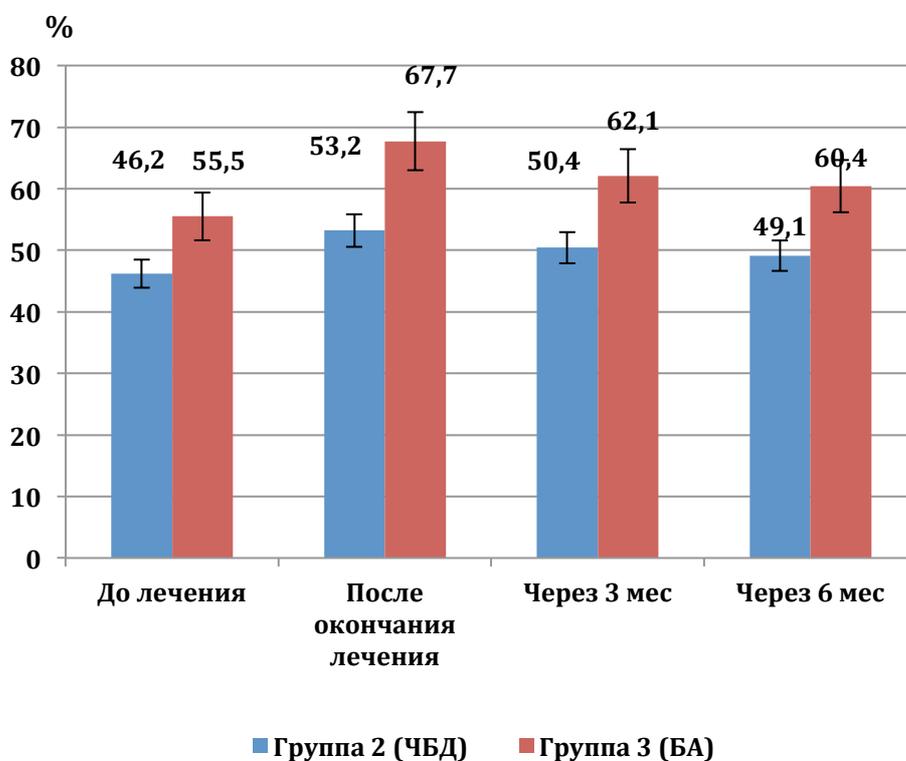


Рис. 6.15. Динамика относительного количества CD3+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения (M±m)

Оценка абсолютного количества CD 4+ лимфоцитов показала, что до лечения значение этого показателя было значимо выше ($p < 0,05$) у детей с БА, чем в группе ЧБД. После окончания лечения было отмечено некоторое возрастание уровня данного показателя, но значимых различий по сравнению с исходным уровнем в группах обследуемых детей выявлено не было (рис. 6.16). Спустя 3 месяца в группе 2 (часто болеющие дети) уровень этого показателя практически не изменился ($0,86 \pm 0,11 \times 10^3$ /мкл), а у детей с бронхиальной астмой возрос до $1,38 \pm 0,20 \times 10^3$ /мкл, это значение было достоверно выше, чем у детей группы 2 и по сравнению с уровнем до лечения. Через 6 месяцев отмечалось такое же соотношение значений абсолютного содержания CD4+ клеток в периферической крови обследуемых детей - $0,80 \pm 0,08 \times 10^3$ /мкл в группе ЧБД и $1,42 \pm 0,16 \times 10^3$ /мкл у детей с БА. Последнее значение было достоверно выше, чем в группе 2 и по сравнению с исходным уровнем.

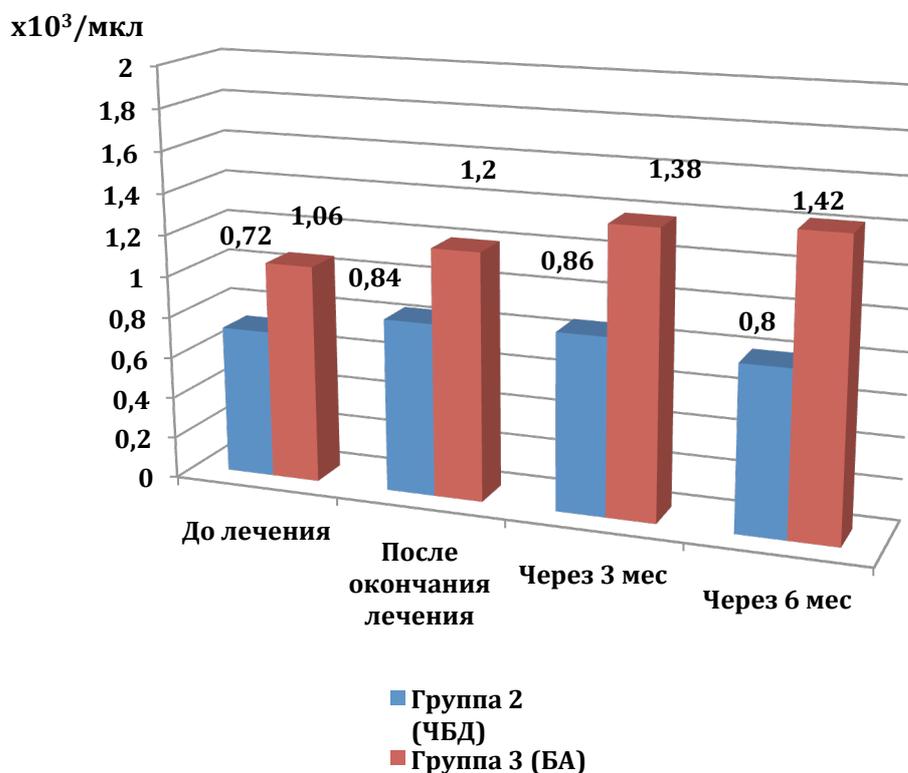


Рис. 6.16. Динамика абсолютного количества CD4+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Изучение динамики процентного содержания CD4-лимфоцитов (%) у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой показало, что до лечения значение показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) выше у детей с БА по сравнению с соответствующим показателем в группе ЧБД (рис. 6.17). После окончания лечения отмечалось его незначимое увеличение в обеих группах – у часто болеющих детей до $45,8 \pm 3,6$ %, а у детей с бронхиальной астмой значение этого показателя было достоверно выше – $63,0 \pm 5,4$ % ($p < 0,05$). Через 3 и 6 месяцев значения данного параметра в обеих группах практически не изменились, при этом соотношение оставалось прежним – доля клеток с фенотипом CD4+ была достоверно выше ($p < 0,05$) в группе детей с БА.

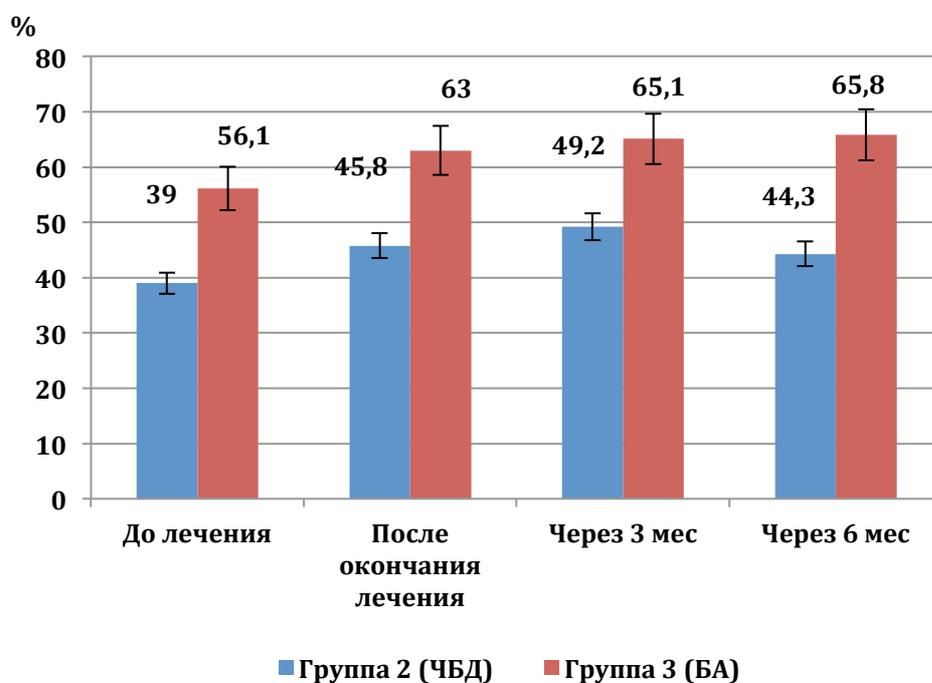


Рис. 6.17. Динамика относительного количества CD4+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Анализ динамики абсолютного количества клеток с фенотипом CD 8 показал отсутствие значимых различий до лечения в группах обследуемых детей. После окончания лечения в группе 2 (ЧБД) значение этого показателя повысилось до $0,61 \pm 0,06 \times 10^3$ /мкл, в группе 3 (дети с БА) наблюдалось более выраженное увеличение этого параметра – до $0,87 \pm 0,11 \times 10^3$ /мкл (рисунок 6.18).

Последнее значение было достоверно выше ($p < 0,05$) соответствующих уровней до лечения и в группе 2 (ЧБД).

Через 3 месяца после лечения у часто болеющих детей количество CD8+ лимфоцитов снизилось до уровня $0,48 \pm 0,06 \times 10^3$ /мкл, в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) - снизилось до $0,60 \pm 0,08 \times 10^3$ /мкл, при этом значимых межгрупповых различий выявлено не было.

Спустя 6 месяцев в группе 2 значение этого показателя осталось на прежнем уровне, $0,50 \pm 0,08 \times 10^3$ /мкл, а у детей группы 3 – снизилось до $0,36 \pm 0,05 \times 10^3$ /мкл, что было достоверно ниже ($p < 0,05$) соответствующих уровней до лечения и в группе часто болеющих детей.

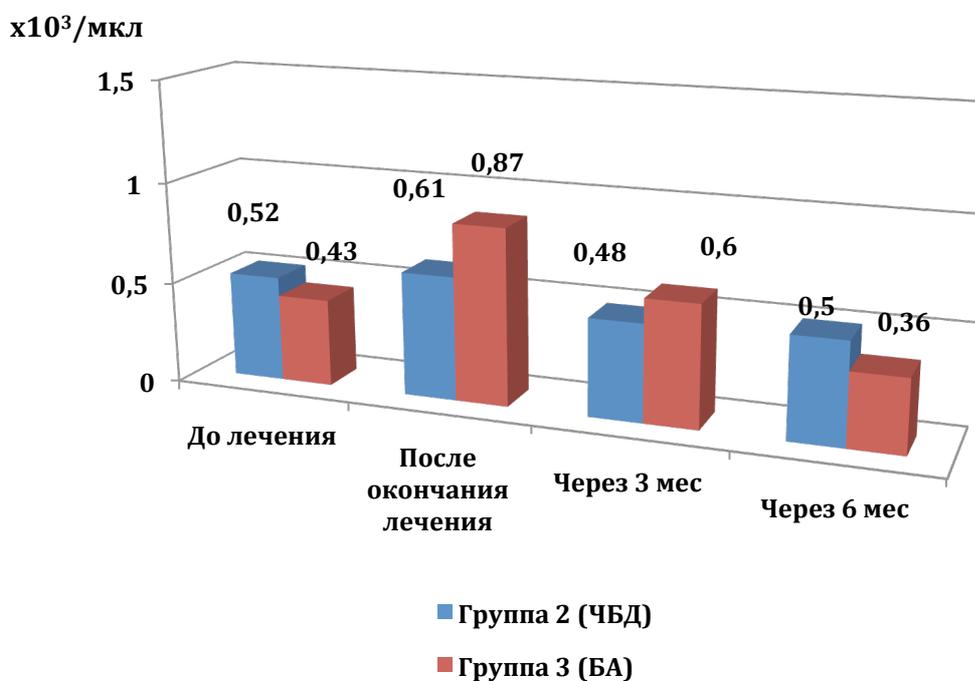


Рис. 6.18. Динамика абсолютного количества CD8+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Оценка относительного количества CD8+ лимфоцитов в периферической крови часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой показала, что до лечения уровни этого показателя не различались. После окончания лечения его значения несколько повысились в группах 2 и 3 соответственно до $25,4 \pm 1,6$ и $30,8 \pm 2,6$ %, при этом достоверных межгрупповых отличий выявлено не было (рис. 6.19).

Спустя 3 и 6 месяцев значения данного показателя снизились и существенно не отличались от таковых до лечения в обеих группах. Значимых межгрупповых различий при этом выявлено не было.

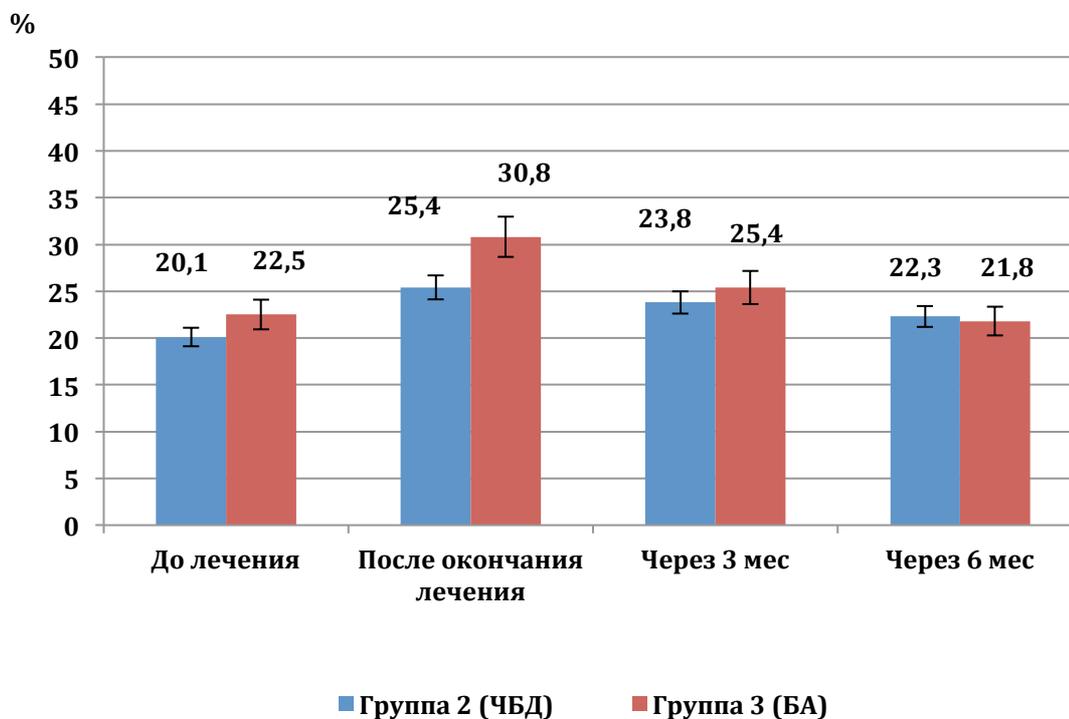


Рис. 6.19. Динамика относительного количества CD8+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Оценка абсолютного количества CD19+ лимфоцитов показала, что до лечения - значение данного показателя было несколько выше у детей с БА, чем в группе ЧБД, хотя при этом значимых межгрупповых различий выявлено не было.

После окончания лечения в группе 2 (часто болеющие дети) уровень данного показателя несколько снизился – до $0,72 \pm 0,11 \times 10^3$ /мкл, но при этом значимо не отличался от исходного уровня (рис. 6.20). В то же время в группе 3 (БА) в этот срок было отмечено значимое уменьшение количества клеток с фенотипом CD19 – до $0,62 \pm 0,08 \times 10^3$ /мкл, таким образом значение этого показателя было достоверно ниже ($p < 0,05$) таковых, чем до лечения и в группе 2 (ЧБД).

Спустя 3 месяца в группе 2 значение этого показателя увеличилось до $0,81 \pm 0,09$ ($\times 10^3$ /мкл), а у детей с бронхиальной астмой оставалось по-прежнему значимо меньше ($p < 0,05$), чем до лечения и в группе 2, составив $0,58 \pm 0,10 \times 10^3$ /мкл.

Через 6 месяцев у часто болеющих детей вновь наблюдалось снижение этого показателя до $0,70 \pm 0,07 \times 10^3$ /мкл, в то время как у детей с БА было отмечено повышение данного показателя до $0,72 \pm 0,06 \times 10^3$ /мкл, при этом значимых межгрупповых отличий выявлено не было.

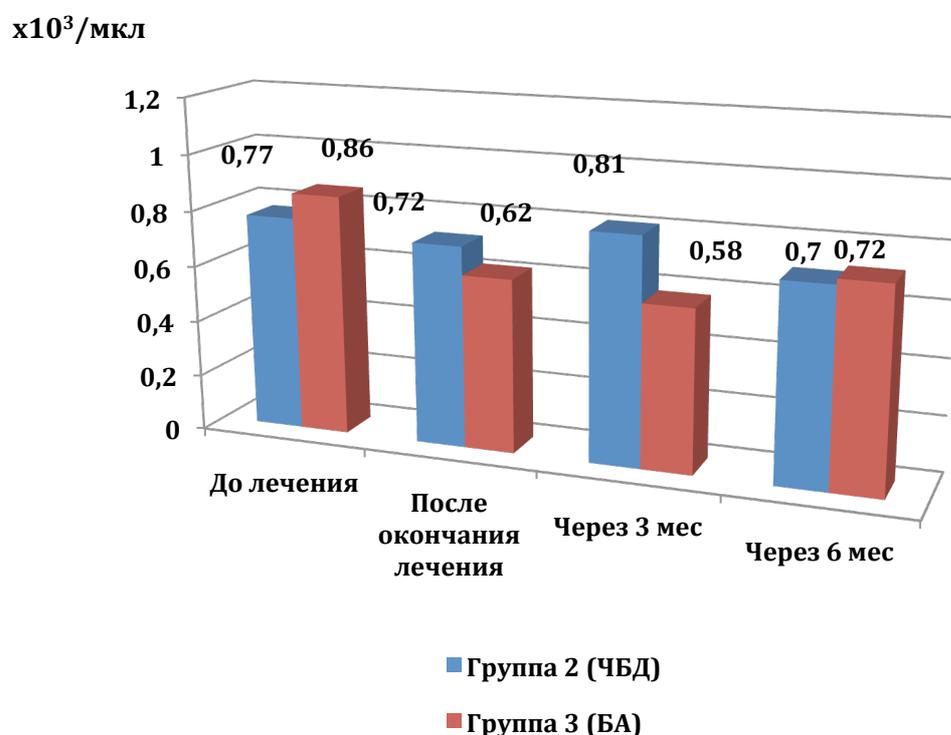


Рис. 6.20. Динамика абсолютного количества CD19+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Анализ процентного содержания CD19+ лимфоцитов у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой после лечения показал, что до лечения значение показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) у детей с БА по сравнению с соответствующим показателем в группе ЧБД.

После окончания лечения в группе 2 (ЧБД) значение данного показателя осталось прежним ($11,0 \pm 1,2$ %), а у детей группы 3 (БА) – снизилось до

16,3±2,2 % (рис. 6.21). Последнее значение было достоверно ниже, чем до лечения, но превышало соответствующий уровень в группе 2.

Через 3 месяца соотношение данного показателя осталось прежним, а на сроке 6 месяцев у часто болеющих детей составило 10,4±0,9 %, тогда как у детей с бронхиальной астмой увеличилось до 20,2±3,5 % и достоверно не отличалось от исходного уровня.

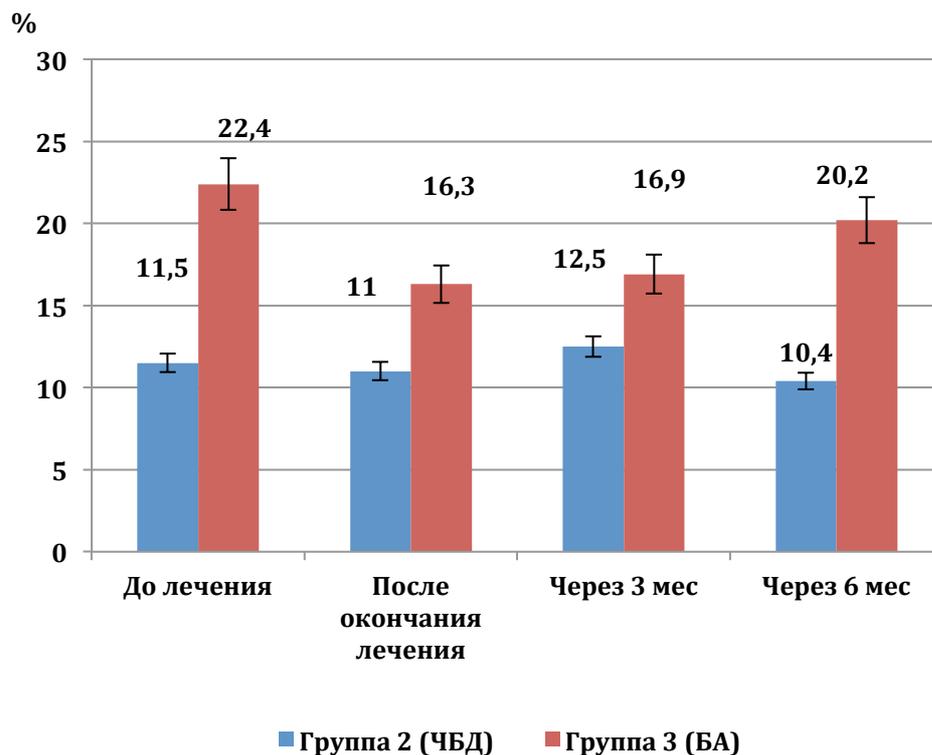


Рис. 6.21. Динамика относительного количества CD19+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения (M±m)

Оценка абсолютного количества клеток с фенотипом CD25 показала, что до лечения значение этого показателя было несколько выше в группе детей с БА, чем в группе ЧБД, хотя при этом значимых различий не отмечалось. После окончания лечения в группе 2 (часто болеющие дети) – уровень этих клеток остался прежним - $0,10 \pm 0,02 \times 10^3$ /мкл, в группе 3 (дети с БА) снизился до $0,09 \pm 0,03 \times 10^3$ /мкл, что было достоверно ниже ($p < 0,05$) исходного уровня (рис. 6.22).

Через 3 месяца соотношение значений этого показателя практически не изменилось, а спустя 6 месяцев количество лимфоцитов, несущих рецепторы к

интерлейкину-2, у часто болеющих детей несколько повысилось - до $0,15 \pm 0,02 \times 10^3$ /мкл, в то время как в группе детей с бронхиальной астмой снизилось до $0,07 \pm 0,01 \times 10^3$ /мкл, что было достоверно ниже ($p < 0,05$) соответствующих уровней в группе 2 и до лечения.

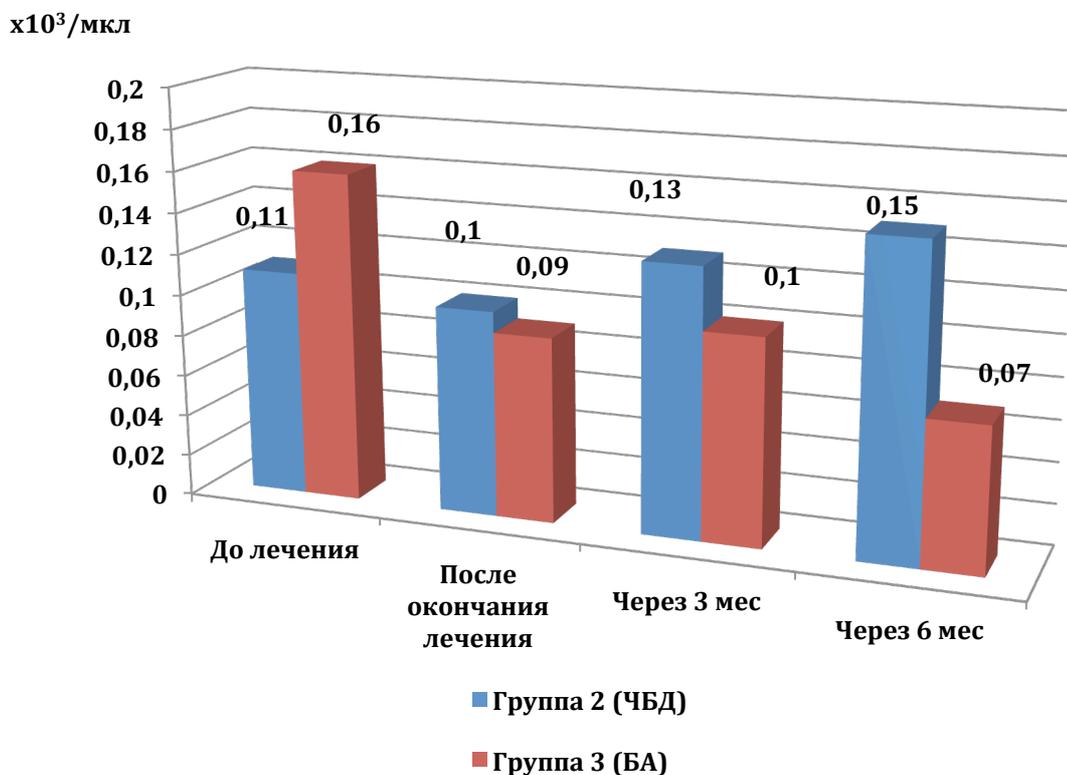


Рис. 6.22. Динамика абсолютного количества CD25+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Изучение динамики относительного количества CD25+ лимфоцитов у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой после лечения показало отсутствие их различий до лечения. После окончания лечения в группе 2 (ЧБД) значение параметра осталось фактически прежним - $7,4 \pm 0,8$ %, у детей группы 3 (БА) снизилось до $6,9 \pm 0,6$ %, при этом значимых межгрупповых отличий выявлено не было (рис. 6.23). Следует отметить, что через 3 и 6 месяцев колебания этого параметра в обеих группах были незначимы, процентное содержание лимфоцитов, несущих рецепторы к ИЛ-2, не различалось от соответствующих уровней до лечения.

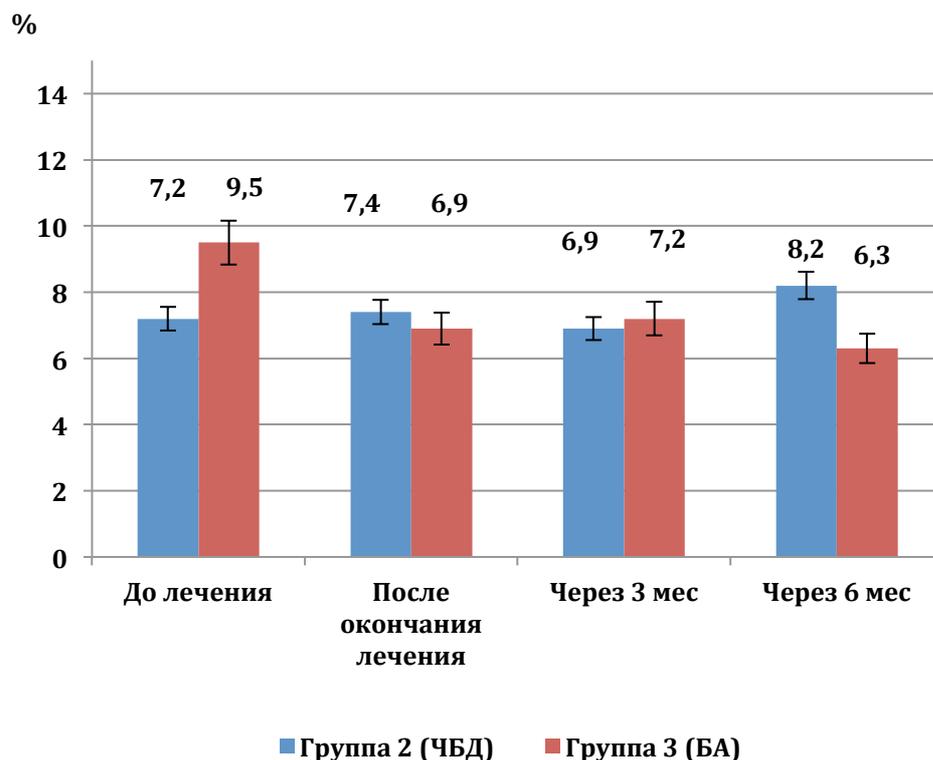


Рис. 6.23. Динамика относительного количества CD25+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Оценка абсолютного количества CD 16+ лимфоцитов не выявила значимых межгрупповых различий до лечения. После окончания лечения отмечалось повышение этого показателя в группах 2 и 3 соответственно до $0,39 \pm 0,06$ и $0,33 \pm 0,02 \times 10^3 / \text{мкл}$ соответственно (рис. 6.24), оба значения были достоверно выше ($p < 0,05$) исходных уровней. Спустя 3 месяца значения этих показателей фактически не изменились, а через 6 месяцев снизились - в группе 2 (ЧБД) до $0,35 \pm 0,03 \times 10^3 / \text{мкл}$, а у детей группы 3 (БА) - до $0,25 \pm 0,03 \times 10^3 / \text{мкл}$, что было достоверно ниже, чем в группе часто болеющих детей.

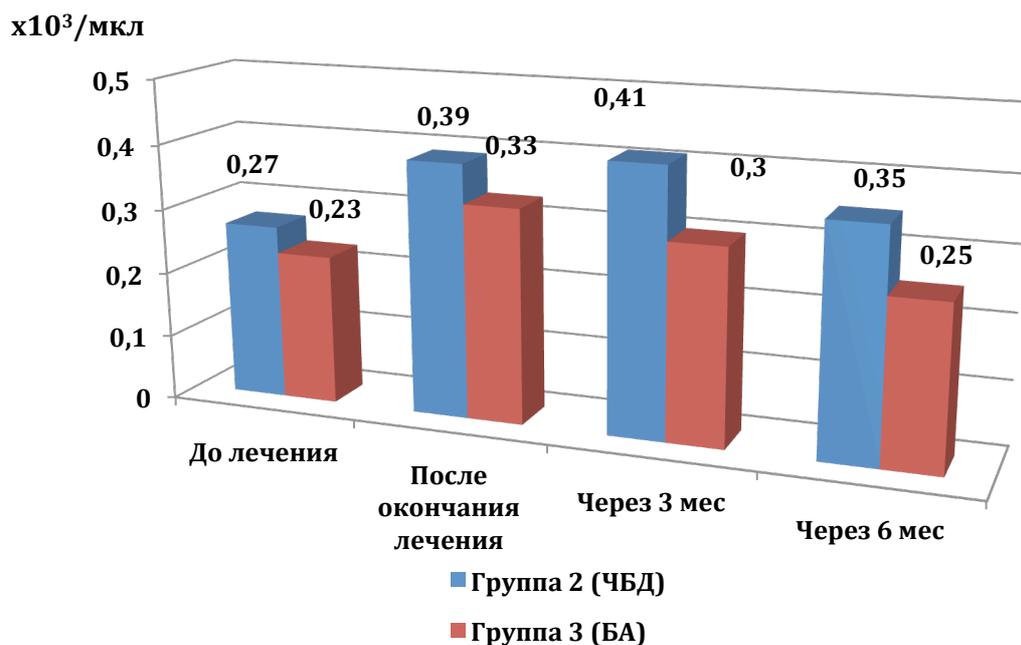


Рис. 6.24. Динамика абсолютного количества CD16+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения (M±m)

Изучение динамики относительного содержания в периферической крови обследуемых детей CD16+ лимфоцитов не выявило значимых межгрупповых различий до лечения. После окончания лечения было установлено некоторое увеличение значений в обеих группах 2 и 3 соответственно до $12,8 \pm 2,1$ и $10,3 \pm 1,9$ %, хотя при этом значимых межгрупповых различий и отличий от исходного уровня выявлено не было (рис. 6.25).

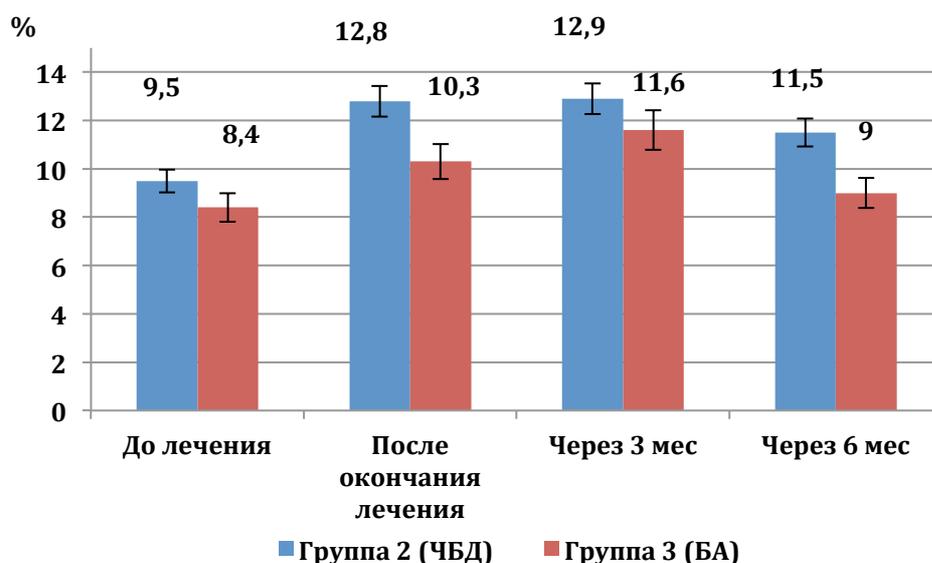


Рис. 6.25. Динамика относительного количества CD16+ лимфоцитов у обследуемых детей после лечения (M±m)

Через 3 месяца от начала лечения соотношение количества CD16+ лимфоцитов оставалось прежним, а спустя 6 месяцев значение этого показателя несколько снизилось, но значимых различий в группах обследуемых по-прежнему выявлено не было.

6.6 Динамика показателей гуморального иммунитета детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей после лечения

Исследование динамики уровня IgA показало, что если до начала лечения значимых различий данного показателя выявлено не было, то после его окончания в группе 2 наблюдалось незначительное повышение концентрации этого иммуноглобулина – до $1,08 \pm 0,11$ г/л (рис. 6.26). В то же время в группе детей с бронхиальной астмой отмечалось более выраженное, практически двукратное увеличение его уровня до $2,11 \pm 0,32$ г/л. Последнее значение было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в группе 2 и до начала лечения.

Через 3 месяца у часто болеющих детей отмечалось увеличение этого показателя до $1,22 \pm 0,14$ г/л, тогда как в группе 3 (дети с БА) было отмечено снижение его до уровня $1,53 \pm 0,18$ г/л, при этом оба значения были значимо выше ($p < 0,05$) исходного уровня.

Через 6 месяцев в часто болеющих детей наблюдалось снижение уровня IgA до $1,04 \pm 0,10$ г/л, это значение достоверно не отличалось от исходного. В группе детей с бронхиальной астмой концентрация этого иммуноглобулина также снизилась до $1,38 \pm 0,12$ г/л и значимо превышала ($p < 0,05$) соответствующие уровни в группе 2 и до начала лечения.

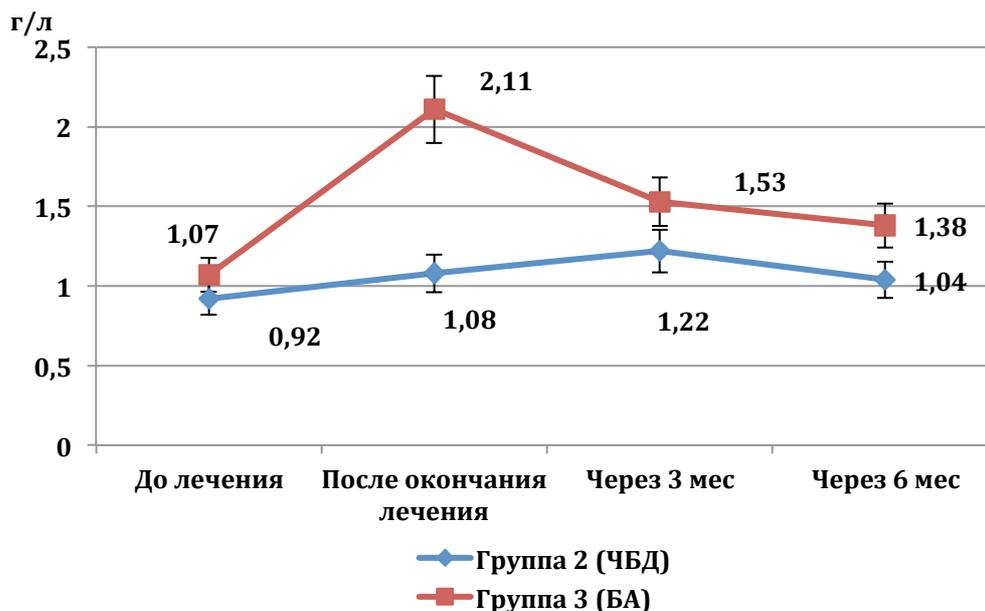


Рис. 6.26. Динамика концентрации IgA у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Анализ изменений уровня Ig M у обследуемых детей показал, что до лечения значения этого параметра значимо не различались. После окончания лечения отмечалось его увеличение в обеих группах, соответственно до $1,72 \pm 0,14$ г/л и $1,54 \pm 0,12$ г/л в группах 2 и 3, при этом значимых межгрупповых различий выявлено не было (рис. 6.27).

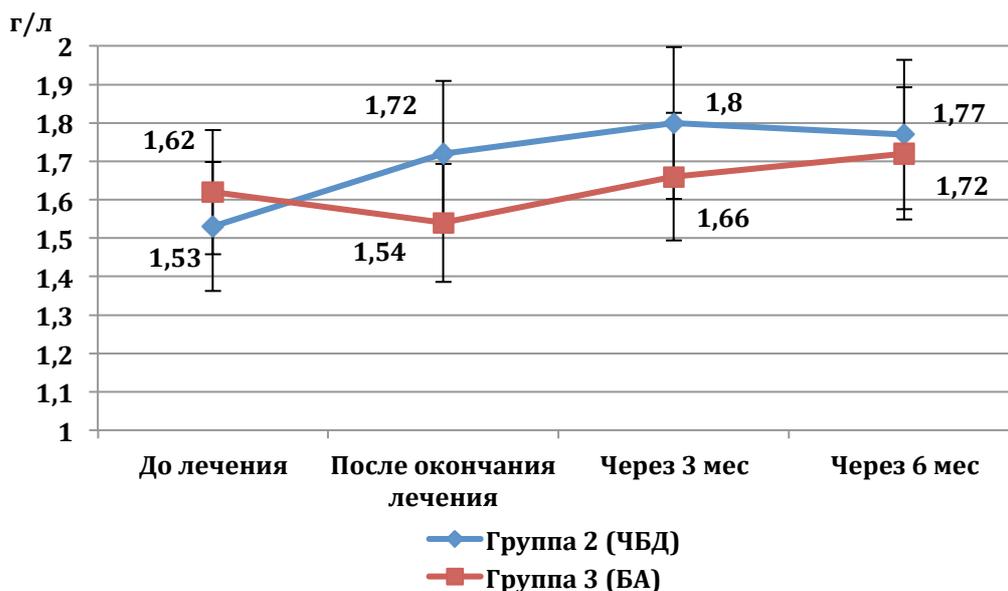


Рис. 6.27. Динамика концентрации IgM у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

В последующие сроки наблюдались незначимые колебания концентрации этого иммуноглобулина у детей обеих групп, при этом уровни показателя в группах достоверно не различались между собой и по сравнению с исходным уровнем.

Исследование уровней IgG не выявило значимых отличий этого показателя в группах детей до лечения, после его окончания наблюдалось его некоторое увеличение: в группе 2 (часто болеющие дети) до $11,6 \pm 1,1$ г/л, в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) – до $10,8 \pm 1,5$ г/л (рис. 6.28). При этом достоверных межгрупповых отличий и отличий от исходных концентраций выявлено не было.

Спустя 3 месяца после окончания лечения концентрация данного иммуноглобулина возросла в группе 2 до $13,5 \pm 0,8$ г/л, что было значимо выше ($p < 0,05$), чем до начала лечения и по сравнению с соответствующим уровнем в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) - $10,3 \pm 1,1$ г/л.

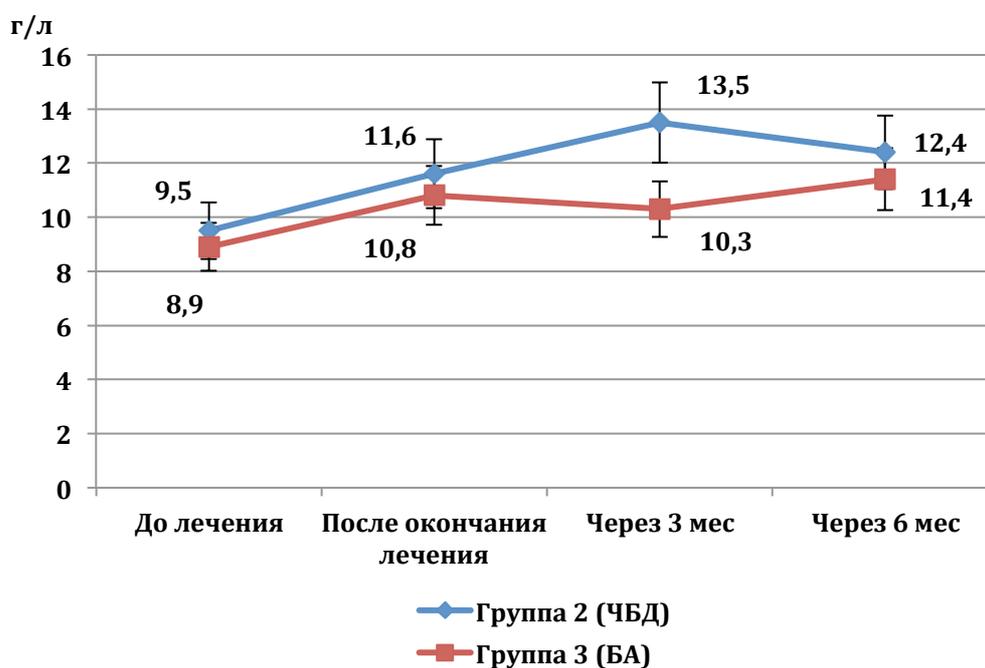


Рис. 6.28. Динамика концентрации IgG у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Через 6 месяцев у часто болеющих детей значение этого показателя практически не отличалось от предыдущего уровня - $12,4 \pm 1,2$ г/л. У детей с

бронхиальной астмой значение данного показателя составило $11,4 \pm 2,0$ г/л, не отличалось значимо от такового в группе 2, но достоверно превышало ($p < 0,05$) исходный уровень.

Анализ уровней IgE показал, что до лечения значение показателя в группе детей с БА почти в 5 раз превышало ($p < 0,05$) соответствующий уровень у ЧБД.

После окончания лечения наблюдалось снижение этого показателя в обеих группах: у часто болеющих детей до $103,2 \pm 21,1$ МЕ/мл, у детей с БА – до $513,2 \pm 32,8$ МЕ/мл (рис. 6.29). Последнее значение было значимо выше ($p < 0,05$), чем в группе ЧБД, но достоверно меньше, чем до начала лечения.

Через 3 и 6 месяцев в обеих группах наблюдалось снижение концентрации иммуноглобулина E, более выраженное у детей с БА, при этом первоначальное соотношение сохранялось. Так, через полгода уровень этого показателя в группе 2 (часто болеющие дети) уровень IgE снизился до $86,5 \pm 9,5$ МЕ/мл, в группе 3 (дети с БА) - до $450,4 \pm 16,1$ МЕ/мл, это значение было достоверно ниже ($p < 0,05$) исходного уровня, но выше такового у часто болеющих детей.

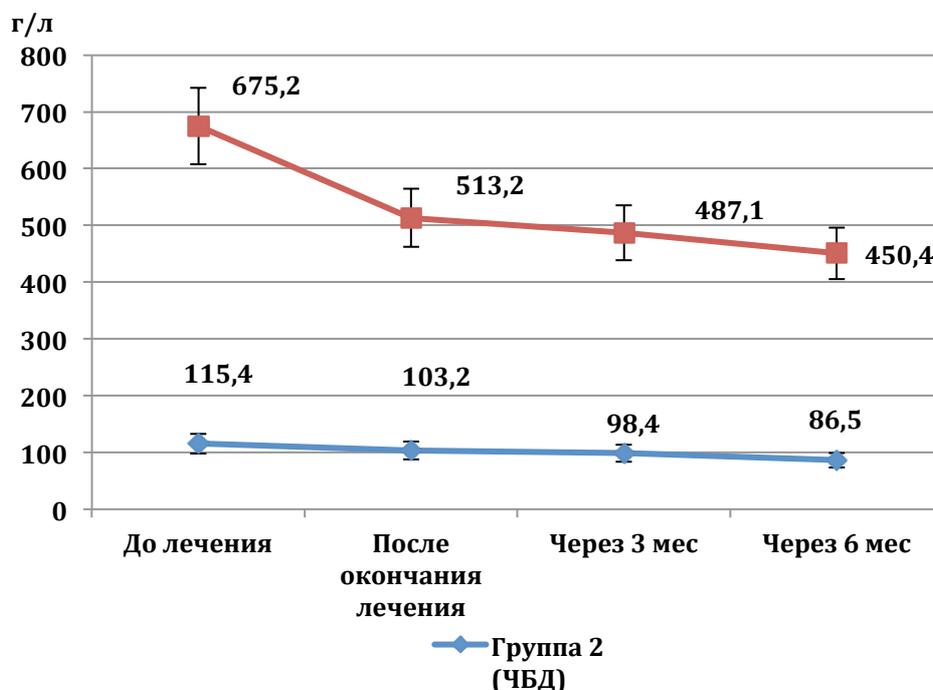


Рис. 6.29. Динамика концентрации IgE у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Изучение динамики уровня интерлейкина-2 показало, что до лечения значение данного показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) у детей с БА, чем в группе часто болеющих детей. После окончания лечения в группе 2 (ЧБД) концентрация этого цитокина фактически не изменилась ($12,0 \pm 1,8$ пг/мл), тогда как в группе 3 (дети с БА) составила $18,3 \pm 2,8$ пг/мл, что было значимо ниже ($p < 0,05$) относительно исходного уровня, но достоверно превышало ($p < 0,05$) соответствующее значение в группе 2 (рис. 6.30).

Спустя 3 месяца отмечалось дальнейшее снижение данного показателя до уровней $9,8 \pm 0,8$ пг/мл у часто болеющих детей и $15,4 \pm 3,1$ пг/мл, у детей с бронхиальной астмой, при этом ранее выявленные соотношения значений сохранились.

Через 6 месяцев в группе 2 (часто болеющие дети) концентрация ИЛ-2 практически не изменилась ($10,4 \pm 1,2$ пг/мл), в то время как в группе 3 (дети с БА) снижение уровня этого показателя продолжилось до значения $10,5 \pm 2,8$ пг/мл.

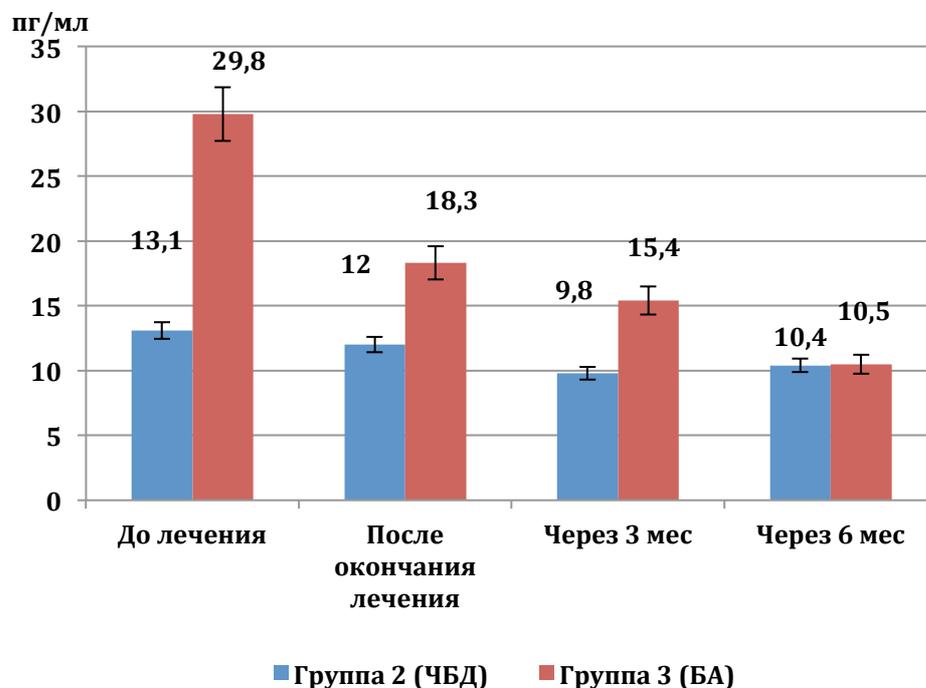


Рис. 6.30. Динамика концентрации интерлейкина-2 у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Сравнение динамики уровня интерлейкина-4 показало, что до лечения его уровень был значимо выше ($p < 0,05$) в группе ЧБД, чем у детей с БА. После окончания лечения отмечалось уменьшение концентрации этого цитокина в обеих группах - в группе 2 (ЧБД – до $26,3 \pm 3,2$ пг/мл, в группе 3 (дети с БА) - до $17,3 \pm 2,6$ пг/мл (рис. 6.31). Выявленное ранее соотношение сохранялось, значение показателя у детей с БА было достоверно ниже ($p < 0,05$), по сравнению с группой ЧБД.

Через 3 месяца значение показателя снизилось в группе 2 до $17,8 \pm 2,1$ пг/мл, что было значимо ниже ($p < 0,05$) исходного уровня, но не отличалось от такового в группе 3 - $18,4 \pm 3,1$ пг/мл.

Через 6 месяцев - концентрации ИЛ-4 в обеих группах были значимо ниже ($p < 0,05$), чем до лечения и составили в группах 2 и 3 соответственно $18,7 \pm 1,6$ и $15,5 \pm 1,9$ пг/мл, при этом значимых межгрупповых различий выявлено не было.

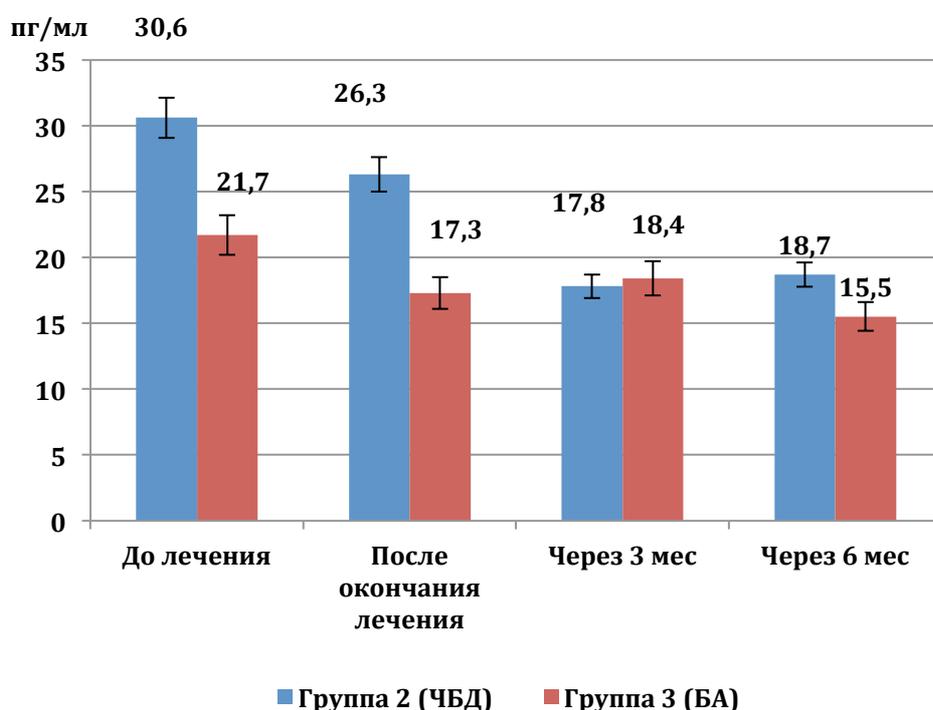


Рис. 6.31. Динамика концентрации интерлейкина-4 у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Изучение динамики уровня ФНО- α показало, что до лечения его уровень был несколько выше в группе ЧБД, чем у детей с БА, хотя при этом значимых межгрупповых различий выявлено не было. После окончания лечения наблюдалось значимое снижение уровня данного цитокина по сравнению с исходными значениями ($p < 0,05$) в группе 2 (часто болеющие дети) - до $83,6 \pm 3,8$ пг/мл, в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) – до $70,1 \pm 4,2$ пг/мл (рис. 6.32). Последнее значение было достоверно ниже ($p < 0,05$) такового в группе 2 (ЧБД).

В последующие сроки после лечения значения концентрации ФНО еще несколько снизились, составив в группах 2 и 3 через 3 месяца соответственно $62,4 \pm 4,1$ и $67,1 \pm 3,0$ пг/мл в группах 2 и 3, а через 6 месяцев после окончания лечения $58,3 \pm 2,9$ и $60,2 \pm 3,4$ пг/мл, при этом значимых межгрупповых различий по данному показателю в эти сроки наблюдения отмечено не было.

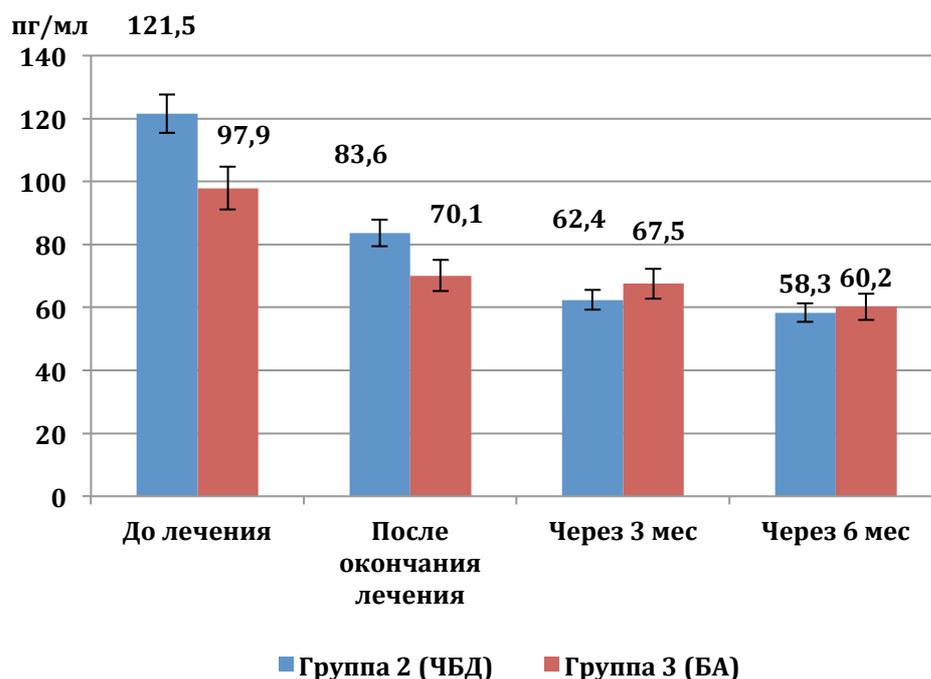


Рис. 6.32. Динамика концентрации фактора некроза опухоли- α у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Исследования концентраций интерферона-гамма показало, что до лечения его уровень был значимо выше ($p < 0,05$) у детей с бронхиальной астмой, после окончания лечения это соотношение сохранилось, значения показателя соста-

вили в группе 2 (ЧБД) - $25,2 \pm 2,3$ пг/мл, в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) - $35,4 \pm 3,6$ пг/мл (рис. 6.33).

Спустя 3 месяца в группе часто болеющих детей уровень интерферона несколько увеличился и составил $29,4 \pm 1,6$ пг/мл, однако у детей с бронхиальной астмой значение данного показателя по-прежнему было достоверно выше ($p < 0,05$), составив $36,8 \pm 3,8$ пг/мл.

Спустя 6 месяцев - в группе 2 значение показателя вновь снизилось до $25,2 \pm 2,5$ пг/мл, а в группе 3 еще увеличилось - до $40,5 \pm 4,5$ пг/мл. Последнее значение было достоверно выше такового у детей группы 2 (ЧБД), но значимо не отличалось от исходного уровня.

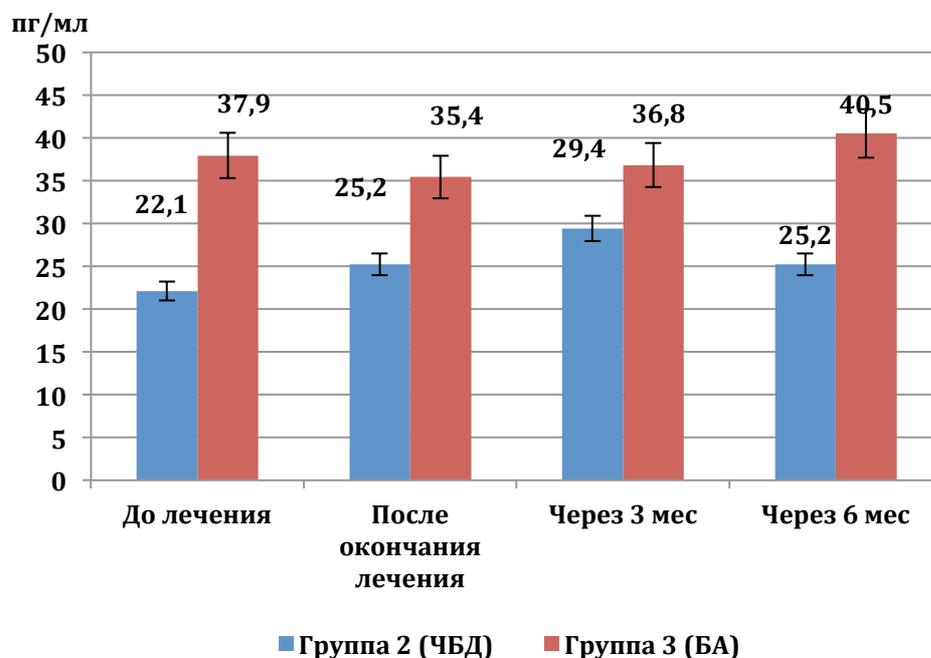


Рис. 6.33. Динамика концентрации интерферона- γ у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

6.7 Показатели неспецифической резистентности у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей после лечения

Оценка активности миелопероксидазы показала, что до начала лечения у обследуемых детей группы 3 (БА) значение этого показателя было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в группе ЧБД, а после его окончания отмечалась разнона-

правленная динамика. Так, у часто болеющих детей отмечено повышение уровня активности фермента до $1,87 \pm 0,15$ %, а у детей с бронхиальной астмой – снижение до $2,03 \pm 0,18$ % (табл. 6.3). При этом значимых межгрупповых отличий показателей выявлено не было.

Через 3 месяца уровень этого показателя не изменился у часто болеющих детей, составив $1,90 \pm 0,14$ %, а в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) снизился до $1,91 \pm 0,31$ % ($p > 0,05$). Спустя 6 месяцев после окончания лечения вновь отмечалась разнонаправленная динамика данного показателя – у часто болеющих детей - снижение до $1,69 \pm 0,22$ %, а в группе детей с бронхиальной астмой - повышение до $2,16 \pm 0,17$ %. Последнее значение было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в группе часто болеющих детей.

Оценка уровня катионных белков показала, что до начала лечения значение данного показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) в группе больных с БА, чем в группе ЧБД. После окончания лечения в группе 2 (часто болеющие дети) - наблюдалось повышение этого показателя до $1,63 \pm 0,15$ %, а у детей с бронхиальной астмой значение этого показателя осталось практически на том же уровне - $1,80 \pm 0,21$ % (табл. 6.3). При этом значимых отличий выявлено не было.

Спустя 3 и 6 месяцев уровни катионных белков практически не изменились в обеих группах, значимых межгрупповых различий и отличий значений показателей в различные сроки от исходного уровня выявлено не было.

Оценка показателя НСТ-теста не выявила значимых межгрупповых различий по данному показателю у обследуемых детей. После окончания лечения отмечалось некоторое возрастание уровня НСТ-теста в обеих группах, при этом достоверных отличий от соответствующих значений до лечения выявлено не было.

Таблица 6.3 - Динамика показателей неспецифической резистентности у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой ($M \pm m$)

Сроки	Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)	Группа 3 (дети с бронхиаль- ной астмой) (n=83)
<i>Активность миелопероксидазы, МЕ/мл</i>		
До лечения	1,42±0,06	1,82±0,11*
После окончания лечения	1,63±0,15	1,80±0,21
Через 3 месяца	1,74±0,14#	1,72±0,18
Через 6 месяцев	1,60±0,11	1,77±0,16
<i>Уровень катионных белков (%)</i>		
До лечения	1,42±0,06	1,82±0,11
После окончания лечения	1,63±0,15	1,80±0,21
Через 3 месяца	1,74±0,14	1,72±0,18
Через 6 месяцев	1,60±0,11	1,77±0,16
<i>Показатель НСТ-теста (%)</i>		
До лечения	6,1±0,7	7,9±0,5
После окончания лечения	7,9±0,6	8,8±0,5
Через 3 месяца	7,3±0,5	7,8±0,3
Через 6 месяцев	8,1±0,8#	8,2±0,5

Примечание:

* - различия достоверны ($p < 0,05$) относительно соответствующих значений группы 2 по критерию Манна-Уитни;

- различия достоверны ($p < 0,05$) относительно исходных значений по критерию Вилкоксона

6.8 Динамика показателей состояния слизистой оболочки верхних дыхательных путей обследуемых детей после лечения

Исследование динамики относительного количества нейтрофилов в отделяемом слизистой оболочки носа показало, что до лечения его значение в группе 2 (ЧБД) было значимо ниже ($p < 0,05$), чем у детей с БА. После окончания лечения у часто болеющих детей значение этого показателя осталось практически на прежнем уровне и составило $21,4 \pm 2,6$ %, а в группе детей с бронхиальной астмой снизилось до $30,2 \pm 3,4$ %, при этом было значимо выше ($p < 0,05$), чем во второй группе (рис. 6.34).

Через 3 месяца количество нейтрофилов у ЧБД повысилось, а у детей с БА несколько снизилось, значения этого показателя не различались и составили в группах 2 и 3 соответственно $26,2 \pm 3,1$ и $28,5 \pm 2,8$ %. Спустя 6 месяцев от начала лечения уровень данного показателя уменьшился у детей обеих групп, соответственно в группе 2 (часто болеющие дети) - до $24,3 \pm 2,5$ %, у детей с бронхиальной астмой – до $25,1 \pm 1,5$ %, последнее значение было достоверно ниже исходного уровня в этой группе.

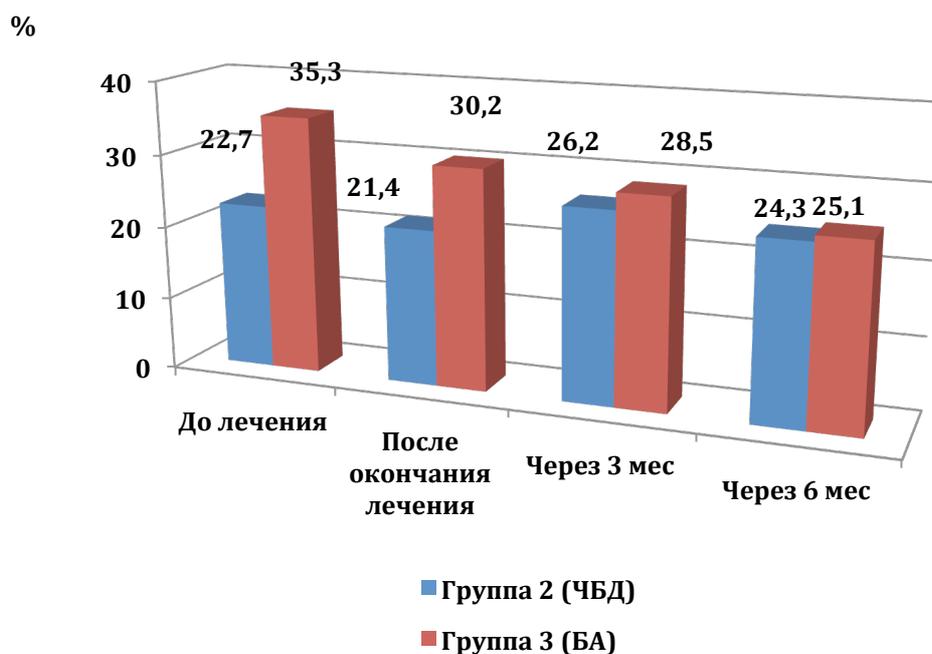


Рис. 6.34. Динамика содержания нейтрофилов в отделяемом слизистой оболочки носа у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Оценка количества эозинофилов в отделяемом слизистой оболочки носа обследуемых детей показала, что до лечения его значение в группе 2 (ЧБД) было значимо ниже ($p < 0,05$), чем у детей с БА.

После окончания лечения было выявлено снижение этого показателя в обеих группах: у часто болеющих детей до $9,4 \pm 2,1$ % (значимо ниже исходного, $p < 0,05$), у детей с бронхиальной астмой до $21,3 \pm 4,8$ % (рис. 6.35). Последнее значение было значимо выше ($p < 0,05$), чем у детей группы 2 (ЧБД), но при этом достоверно не отличалось от исходного уровня.

Через 3 месяца было выявлено дальнейшее снижение относительного количества эозинофилов в отделяемом слизистой носа у детей обеих групп. Значения показателя в этот срок исследования были достоверно ниже ($p < 0,05$) соответствующих исходный уровней: в группе 2 (ЧБД) - $7,8 \pm 1,8$ %, в группе 3 (БА) - $15,8 \pm 3,2$ %, при этом последнее значение было достоверно выше такового ($p < 0,05$) во второй группе.

Спустя 6 месяцев соотношения значений данного параметра были в целом сходными, изменились незначительно по сравнению с предыдущим сроком.

Оценка состояния слизистой оболочки полости носа и зева у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой через 3 месяца после проведенного лечения была выполнена также по высеваемости различной микрофлоры. Было установлено снижение частоты высеваемости *St. Aureus* в группе 2 (часто болеющие дети) до 23,0 %, в группе 3 (дети с бронхиальной астмой) до 26,5 %, хотя значения этих показателей достоверно превышали соответствующий уровень в контрольной группе (табл. 6.4).

Высеваемость *Str. Pyogenes* составила у детей контрольной группы - 8,6 %, в группах 2 и 3 была выше, соответственно 16,2 % и 20,5 %, при этом значимых межгрупповых различий выявлено не было.

Высеваемость *Enterococcus faec.* у детей контрольной группы была на уровне 14,3 %, в группах 2 и 3 не отличалась существенно от этого значения,

составив соответственно 8,1 % и 10,8 %. Также не было выявлено значимых межгрупповых различий по частоте обнаружения *Klebsiella pneum.*

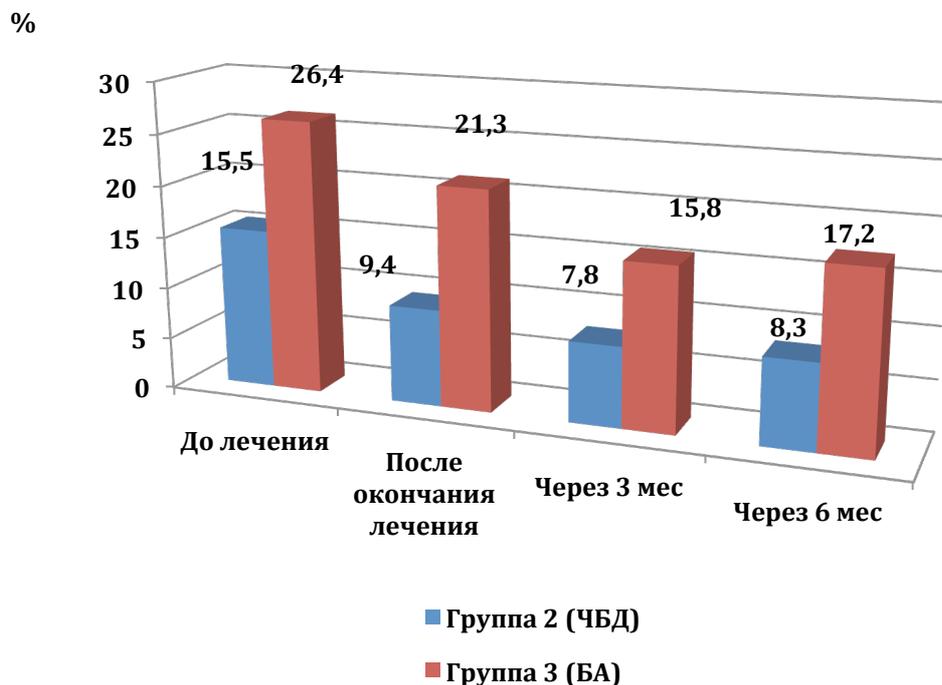


Рис. 6.35. Динамика содержания эозинофилов в отделяемом слизистой оболочки носа у обследуемых детей после лечения ($M \pm m$)

Отмечены были единичные случаи обнаружения *Candida albicans*.

В целом частота выявления монофлоры составила у детей контрольной группы 25,9 %, в группе 2 (часто болеющие дети) - 20,3 %, группа 3 (дети с бронхиальной астмой) была выше - 38,6 %, но значимых различий при этом выявлено не было.

Оценка частоты выявления микстфлоры показала, что если в контроле значение этого показателя составило 12,1 %, то в группах 2 и 3 его значения по-прежнему были значимо выше ($p < 0,05$), соответственно 32,4 % и 34,9 %.

Соответственно в контрольной группе было значимо больше ($p < 0,05$) у детей, у которых не было выявлено никакой микрофлоры - 62,1 %, тогда как в группах 2 и 3 значения этого показателя составили соответственно 47,3 и 25,5 %.

Таблица 6.4 - Характеристика микрофлоры по результатам микробиологического исследования полости носа и зева у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой через 3 месяца после проведенного лечения ($M \pm m$)

Виды микроорганизмов	Группа 1 (контрольная) (n=58)		Группа 2 (часто болеющие дети) (n=74)		Группа 3 (дети с бронхиальной астмой) (n=83)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
St. Aureus	3	5,2	17	23,0*	22	26,5*
Str. Pyogenes	5	8,6	12	16,2	17	20,5
Enterococcus faec.	7	14,3	6	8,1	9	10,8
Klebsiella pneum.	3	5,2	3	4,1	5	6,0
Candida albicans	1	3,5	1	1,4	2	2,4
Монофлора	15	25,9	15	20,3	32	38,6
Микстфлора	7	12,1	24	32,4*	29	34,9*
Не выявлено	36	62,1	35	47,3	22	25,5*

Примечание:

* - различия достоверны ($p < 0,05$) относительно соответствующих значений группы 1 по критерию χ^2

Заключение по главе

Таким образом, проведенные исследования продемонстрировали наличие ряда изменений у обследуемых контингентов детей. Установлено, что эти сдвиги у детей с бронхиальной астмой проявляются снижением количества CD3+ лимфоцитов в периферической крови, повышением уровня CD4+ клеток (хелперов), снижением количества CD8+ лимфоцитов (супрессоров/цитотоксических), увеличением уровней CD19+ клеток (В-лимфоцитов),

CD25+ лимфоцитов (несущих рецепторы в интерлейкину-2) и снижением количества CD16+ клеток - естественных киллеров; многократным увеличением уровня иммуноглобулина Е и повышением концентраций интерлейкинов 2, 4 и ФНО- α .

Изменения иммунного статуса у часто болеющих детей проявляются: снижением количества CD3+ лимфоцитов, увеличением уровня CD19+ клеток, уменьшением уровня клеток с фенотипом CD16+ (естественных киллеров), повышением концентрации иммуноглобулинов М и G, увеличением уровня Ig Е, повышением концентраций ИЛ-2, ИЛ-4 и ФНО- α наряду со снижением уровня ИНФ- γ , но выраженными в меньшей степени, нежели при БА.

Общепризнанно, что БА характеризуется повышенной активностью Т-хелперов 2-го типа (Th2). В дыхательных путях астматиков отмечается повышенное количество CD4+ Т-лимфоцитов, преимущественно Th2, в то время как в дыхательных путях здоровых людей преобладают Т-хелперы 1-го типа [Robinson D.S. et al., 1992]. Задержка созревания иммунной системы после рождения является фактором риска развития респираторных инфекций. При этом повышенная продукция интерлейкина (ИЛ)-5 Т-хелперами 2-го типа является прогностическим фактором и ассоциирована с повышенным риском тяжелых респираторных инфекций в детском возрасте [Zhang G. et al., 2009]. В экспериментальных исследованиях показано, что при инфицировании легких мышей *Chlamydia muridarum* наблюдается быстрое выделение ИЛ-13 - цитокина, продуцируемого Т-хелперами 2-го типа, который повышает восприимчивость к инфекциям, предположительно в связи с подавлением фагоцитарной активности макрофагов [Asquith K.L. et al., 2011].

Проведенные нами исследования согласуются с этими положениями и подтверждают наличие существенных сдвигов в составе субпопуляций клеток и уровня гуморальных факторов иммунитета.

Следует отметить, что в других исследованиях была установлена прямая корреляция между концентрацией секретируемых IgA и частотой прогрессиру-

вания БА [Martin R. et al., 2001], что, по мнению авторов, подтверждает гипотезу о возможном влиянии латентных инфекций на тяжесть астмы.

Рассматривая особенности продукции интерферонов у данной категории больных, следует отметить, что по результатам исследований, у людей, страдающих БА и atopическими заболеваниями, дефицит интерферонов наблюдается с рождения, в связи с чем значительно возрастает риск развития вирусных инфекций [Tang M.L. et al., 1994].

Важность дефицита продукции интерферона- γ в патогенезе БА была продемонстрирована в ряде экспериментальных исследований. Так, показано, что при введении экзогенного интерферона- γ при острой вирусной инфекции у крыс с дефицитом этого белка отмечалось снижение выраженности бронхиального воспаления и последующего фиброза [Sorkness R.L. et al., 1999].

В нашем исследовании уровни ИНФ- γ в меньшей степени различались в группах обследуемых детей, составив к контрольной группе $42,1 \pm 3,8$ пг/мл, у детей с БА - $37,9 \pm 4,8$ пг/мл. В группе 2 (ЧБД) концентрация интерферона была значимо ниже, чем в остальных группах - $22,1 \pm 4,2$ пг/мл.

Ряд исследователей подчеркивают, что чем чаще ребенок с бронхиальной астмой болеет ОРВИ, тем в большей степени у него отмечается персистенция различных возбудителей, что в свою очередь определяет частоту заболеваемости острыми респираторными инфекциями. Все это сказывается на цитокиновом статусе ЧБД и детей с аллергическими заболеваниями, у них отмечается недостаточность интерферона-гамма, сопровождающая увеличением уровней медиаторов фагоцитарных реакций – интерлейкинов, в частности 8, и фактора некроза опухоли – альфа [Дугаров И.Д. и др., 2009; Рамазанова З.К. и др., 2005]. Однако в отличие от здоровых детей интенсивность продукции и, соответственно, функционирования вышеуказанных цитокинов у этих групп детей нельзя признать полноценной.

В настоящее время общепризнанно, что латентные инфекции и колонизация дыхательных путей могут быть причиной повышенной восприимчивости к респираторным патогенам, поскольку они усугубляют воспалительный про-

цесс. В основе этих процессов лежит нарушение неспецифической резистентности организма. Так, установлено, что у мышей следовое количество парамиксовирусов вызывает активацию натуральных киллеров и макрофагов, что сопровождается гиперпродукцией ИЛ-13, приводящей к метаплазии клеток слизистой оболочки дыхательных путей и гиперреактивности дыхательных путей [Kim E.Y. et al., 2008].

Известно, что у больных БА могут выявляться нарушения функции альвеолярных макрофагов. Показано, что для макрофагов из дыхательных путей детей с умеренной и тяжелой астмой характерна сниженная фагоцитарная активность в отношении *S. aureus*, эти макрофаги чаще подвергаются апоптозу [Fitzpatrick A.M. et al., 2008]. В другом исследовании было установлено, что метаболизм глутатиона в макрофагах детей с тяжелой БА нарушен гораздо сильнее, чем в макрофагах детей с умеренной астмой [Fitzpatrick A.M. et al., 2011].

С этими данными в определенной мере согласуются и данные наших цитологических исследований оценки состояния слизистых оболочек верхних дыхательных путей у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой. Выявлены локальные изменения иммунореактивности у обследованных контингентов детей, в частности, увеличенное количество нейтрофилов и эозинофилов в отделяемом слизистой оболочки носа.

Результаты микробиологического исследования отделяемого слизистых оболочек полости носа и зева, у обследуемых детей свидетельствуют о высокой частоте высеваемости *St. Aureus*, *Str. Pyogenes* и микстфлоры.

В ряде исследований было продемонстрировано, что больные БА имеют предрасположенность к латентным инфекциям. Под латентной инфекцией подразумевается бессимптомное носительство бактерий или вирусов после первичной острой инфекции. К спектру их возбудителей относятся *M. Pneumonia*, *S. Pneumonia*, аденовирус и риновирус [Martin R.J. et al., 2001].

В настоящее время установлено, что бактериальная колонизация дыхательных путей в раннем детстве ассоциирована с развитием БА. Так, Bisgaard H. et al. (2007) при анализе мазков из нижней части глотки у 321 новорожден-

ного без симптомов инфекционных заболеваний выяснили, что колонизация дыхательных путей *S. pneumoniae*, *H. influenzae* или *M. catarrhalis* ассоциирована с развитием астмы до достижения пятилетнего возраста. Предполагается, что колонизация дыхательных путей этими микроорганизмами является следствием нарушений функционирования иммунной системы, которые предрасполагают к раннему инфицированию, эти же микроорганизмы могут быть непосредственно задействованы в патогенезе БА. У астматиков отмечается повышенная частота колонизации дыхательных путей *S. pneumoniae*.

В исследовании с участием 1013 взрослых пациентов, было показано, что астма является независимым фактором повышенного риска колонизации верхних дыхательных путей *S. pneumoniae*, этот микроорганизм был выделен из дыхательных путей 8.2% участников исследования [Cardozo D.M. et al., 2008]. У пациентов с атопическим дерматитом чаще наблюдается бактериальная колонизация кожи, при этом самым распространенным патогеном является *S. aureus*. Эти бактерии способны колонизировать как здоровую кожу, так и кожу в очагах дерматита [Williams J.V. et al., 1998].

Проведенные исследования показали, что адекватное патогенетическое лечение способствует нормализации показателей иммунного статуса и неспецифической резистентности обследуемых больных.

ГЛАВА 7. ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ИММУННОГО СТАТУСА, СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И СОСТОЯНИЯ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ.

7.1. Взаимосвязи между показателями иммунного статуса, свободнорадикального окисления и состояния верхних дыхательных путей у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей

Проведенный анализ показал наличие ряда взаимосвязей показателей иммунного статуса и физико-химических характеристик ВДП у часто болеющих детей. Приведены только значимые коэффициенты корреляции умеренной и высокой силы ($>0,30$).

Как видно из таблицы 7.1, у часто болеющих детей уровень лимфоцитов CD3 имеет отрицательную корреляцию со значением показателя минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R = -0,43$), с уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R = -0,35$) и со значением уровня гидроперекисей в КВВ ($R = -0,40$).

Относительное количество лимфоцитов CD19 прямо коррелировало с показателями минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R = 0,32$), с уровнем ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R = 0,35$) и со концентрацией гидроперекисей в КВВ ($R = 0,42$).

Корреляционный анализ показал также наличие связей показателя относительного количества CD16-клеток с минимальным ПН в эндоназальных смывах ($R = 0,65$), с уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R = 0,59$), значением ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R = 0,47$) и уровне гидроперекисей в КВВ ($R = 0,44$).

Выявлены также корреляции концентрации иммуноглобулина М с минимальным ПН в эндоназальных смывах ($R = 0,52$), с концентрацией ДК в эн-

доназальных смывах ($R=0,38$), а также с уровнем гидроперекисей в КВВ ($R=0,35$).

Показано наличие связей показателя уровня IgG с концентрациями ДК в эндоназальных смывах ($R=0,50$) и гидроперекисей в КВВ ($R=0,34$).

Уровень IgE положительно коррелировал со всеми характеристиками изучаемых биологических сред - имеет положительную сильную связь со значением уровня минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R=0,72$), уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R=0,65$), значением ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,54$), уровнем гидроперекисей в КВВ ($R=0,59$).

Таблица 7.1 - Взаимосвязь показателей иммунного статуса и физико-химических характеристик ВДП у часто болеющих детей (представлены значимые коэффициенты корреляции Спирмена, $R, p<0,05$)

Показатели	Мин ПН ЭНС	ДК ЭНС	ДК КВВ	Уровень гидроперекисей КВВ
CD3 (%)	-0,43	-0,35		-0,40
CD19 (%)	0,32		0,35	0,42
CD16 (%)	0,65	0,59	0,47	0,44
IgM	0,52	0,38		0,35
Ig G		0,50		0,34
IgE	0,72	0,65	0,54	0,59
ИЛ-2	0,55	0,36		0,34
ИЛ-4		0,42	0,36	
ФНО- α	0,36		0,44	
ИНФ- γ	-0,40	-0,33		-0,30
Нейтрофилы слизистой ВДП	0,35		0,42	0,37
Эозинофилы слизистой ВДП		0,34	0,35	

Концентрация интерлейкина-2 была положительно связана с уровнем минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R= 0,55$), уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R= 0,36$), уровнем гидроперекисей в КВВ ($R= 0,34$).

Была установлена положительная корреляция уровня ИЛ-4 со значением концентрации ДК в эндоназальных смывах ($R= 0,42$) и уровнем ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,36$).

Уровень ФНО- α положительно был связан со значением показателя минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R= 0,36$), а также со значением ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,44$).

В то же время уровень ИНФ- γ имел обратные связи со значением показателя минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R= -0,40$), концентрацией ДК в эндоназальных смывах ($R= -0,33$) и количеством гидроперекисей в КВВ ($R= -0,30$).

Количество нейтрофилов в слизистой ВДП было положительно связано с показателем минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R= 0,35$), значением ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,42$) и уровнем гидроперекисей в КВВ ($R= 0,37$). При этом уровень эозинофилов коррелировал со значениями ДК в эндоназальных и в КВВ, соответственно $R= 0,34$ и $0,35$.

Результаты корреляционного анализа показателей детей с БА представлены в таблице 7.2. Установлено, что относительное количество лимфоцитов с детерминантами CD3 отрицательно коррелировало с характеристиками изучаемых биологических сред: уровнем минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R=-0,41$), уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R= -0,31$), значением концентрации гидроперекисей в КВВ ($R= -0,36$).

Относительное количество CD4-лимфоцитов положительно со значением уровня минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R= 0,35$), уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R= 0,46$) и значением ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,34$).

Таблица 7.2 - Взаимосвязь показателей иммунного статуса и физико-химических характеристик ВДП у детей с бронхиальной астмой (представлены значимые коэффициенты корреляции Спирмена, R, $p < 0,05$)

Показатели	ИС	ДК ЭНС	ДК КВВ	гидроперекиси КВВ
CD3	-0,41	-0,31		-0,36
CD4	0,35	0,46	0,34	
CD8	-0,38	-0,40		-0,35
CD19	0,44		0,35	
CD25	0,33			
CD16	-0,31	-0,38		-0,45
IgM	0,46	0,37		0,40
Ig G	0,52		0,35	
IgE	0,76	0,65	0,79	0,57
ИЛ-2			0,40	
ИЛ-4		0,46		0,33
ФНО- α		0,38		0,40
ИНФ- γ				-0,32
Катионные белки		0,35	0,41	
Миелопероксидаза	0,45			0,46
НСТ-тест	0,33		0,46	
Нейтрофилы слизистой ВДП		0,36	0,38	
Эозинофилы слизистой ВДП	0,41		0,33	0,35

Показатель количества CD8-клеток имел обратные связи с характеристиками изучаемых биологических сред - со значением уровня минимального

поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R = -0,38$), уровнем ДК в ЭНН ($R = -0,40$), уровнем гидроперекисей в КВВ ($R = -0,35$).

Относительное количество CD⁺19-лимфоцитов положительно коррелировало с уровнем минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R = 0,44$) и ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R = 0,35$).

Количество CD⁺25-лимфоцитов было положительно связано с минимальным поверхностным натяжением в эндоназальных смывах ($R = 0,33$).

Относительное количество CD⁺16-клеток было положительно связано со значением уровня минимального поверхностного натяжения в ЭНС ($R = -0,31$), концентрациями ДК в эндоназальных смывах ($R = -0,38$) и ДК в КВВ ($R = -0,45$).

Уровень IgM был положительно связан с характеристиками изучаемых биологических сред: со значением уровня минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R = 0,46$), уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R = 0,37$) и концентрацией гидроперекисей в КВВ ($R = 0,40$).

Концентрация IgG положительно коррелировала с значением уровня минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R = 0,52$) и концентрацией ДК в КВВ ($R = 0,35$).

Уровень IgE закономерно имел сильные положительные корреляции со всеми характеристиками изучаемых биологических сред - имеет положительную сильную связь со значением уровня минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R = 0,76$), уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R = 0,65$), значением ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R = 0,79$), уровнем гидроперекисей в КВВ ($R = 0,57$).

Уровень ИЛ-2 был положительно связан со значением ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R = 0,40$), а концентрация ИЛ-4 - с уровнями ДК в эндоназальных смывах ($R = 0,46$) и гидроперекисей в КВВ ($R = 0,33$). С этими же показателями коррелировала концентрация ФНО- α , направленность и выраженность корреляций была сходной. В то же время концентрация ИНФ- γ отрицательно коррелировала с уровнем гидроперекисей в КВВ ($R = -0,32$).

Уровень катионных белков положительно коррелировал с концентрациями уровнем ДК в эндоназальных смывах ($R=0,35$) и в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,41$).

Активность миелопероксидазы положительно коррелировала с такими характеристиками изучаемых биологических сред, как уровень минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R=0,45$) и концентрацией гидроперекисей в КВВ ($R=0,46$).

Активность НСТ-теста положительно коррелировала со значением минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R=0,33$) и уровнем ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,46$).

Количество нейтрофилов в слизистой ВДП было положительно связано со значением концентраций ДК в эндоназальных смывах ($R=0,36$) и в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,38$).

Показатель количества эозинофилов в слизистой ВДП положительно коррелировал со значением минимального поверхностного натяжения в эндоназальных смывах ($R=0,41$), уровнем ДК в конденсате выдыхаемого воздуха ($R=0,33$) и концентрацией гидроперекисей в КВВ ($R=0,35$).

Результаты поиска взаимосвязей иммунологических показателей и параметров свободнорадикального окисления периферической крови часто болеющих детей приведены в таблице 7.3. Как видно, относительное количество CD3-лимфоцитов было отрицательно связано с уровнем ДК ($R=-0,42$), но при этом положительно - с активностью СОД ($R=0,35$) (табл. 7.3). Количество CD19-лимфоцитов положительно коррелировало с уровнем ДК ($R=0,457$) и МДА ($R=0,36$) и было отрицательно связано с активностью СОД ($R=-0,35$).

Относительное количество CD16-лимфоцитов было прямо связано с концентрацией ДК ($R=0,51$) и отрицательно - с активностью каталазы ($R=-0,42$).

Концентрация IgM положительно коррелировала с уровнем МДА ($R=0,36$) в плазме крови ЧБД, при этом была отрицательно связано с активностью СОД ($R=-0,33$).

Концентрация IgG положительно коррелировала с концентрацией ДК ($R=0,44$), но в то же время имела обратную связь с активностью СОД ($R=-0,32$).

Таблица 7.3 - Взаимосвязь показателей иммунного статуса и показателей свободнорадикального окисления плазмы крови у часто болеющих детей (представлены значимые коэффициенты корреляции Спирмена, R , $p<0,05$)

Показатели	ИС ЭНС	Уровень ДК	Уровень МДА	Активность СОД	Активность каталазы
CD3	0,36	-0,37	-0,33	0,45	0,38
CD4	-0,47	0,45			-0,37
CD8		-0,36	-0,42		0,32
CD19	-0,35		0,38	-0,40	
CD25	-0,45		0,33	-0,37	
CD16	-0,34	-0,39		0,42	0,33
IgM	-0,32	0,32		-0,39	-0,35
Ig G	0,48	0,43	0,35	-0,34	
IgE	0,54	0,82	0,71	-0,54	-0,64
ИЛ-2			0,41		
ИЛ-4	-0,34		0,36	-0,40	
ФНО- α		0,36	0,38	-0,36	
Катионные белки		0,42			-0,39
Миелопероксидаза	0,31	0,31	0,35		-0,34
НСТ-тест	-0,52			-0,33	
Нейтрофилы слизистой ВДП	-0,43	0,35	0,32		-0,34
Эозинофилы слизистой ВДП	-0,56	0,38		-0,35	

Уровень IgE был связан со всеми изучаемыми показателями СРО – положительно с уровнями ДК и МДА, соответственно $R=0,65$ и $0,49$, и отрицательно - с активностью СОД ($R= -0,56$) и каталазы ($R=-0,47$).

Концентрация ИЛ-2 положительно коррелировала с уровнем МДА ($R=0,34$) в плазме крови ЧБД и отрицательно – с активностью СОД ($R=-0,38$), а уровень ИЛ-4 отрицательно коррелировал с активностью обоих ферментов, но был прямо связан с концентрацией ДК ($R= 0,42$).

Концентрация ФНО- α отрицательно коррелировала с активностью каталазы ($R= -0,32$) и была положительно связана с уровнем ДК ($R= 0,38$).

Количество нейтрофилов в слизистой ВДП у обследуемых детей было прямо связано с уровнем ДК ($R= 0,34$) и МДА ($R= 0,30$), но при этом было отрицательно коррелировало с активностью каталазы ($R= -0,31$). Для показателя количество эозинофилов в слизистой оболочке ВДП были выявлены аналогичные корреляционные связи.

Анализ взаимосвязей изучаемых показателей у детей с БА также позволил установить их наличие, что характеризовалось рядом значимых коэффициентов корреляции, представленных в таблице 7.4.

Так, относительное количество CD3-лимфоцитов отрицательно коррелировало с уровнем ДК ($R= -0,37$) и МДА ($R= -0,33$) в плазме крови детей с БА, но при этом было положительно связано с активностью СОД ($R=0,45$) и каталазы ($R=0,38$) (табл.7.4).

Относительное количество CD4-лимфоцитов положительно коррелировало с уровнем ДК ($R= 0,45$) и отрицательно - с активностью ($R=-0,37$).

Показатель количества CD8-лимфоцитов отрицательно коррелировал с концентрацией ДК ($R= -0,36$) и МДА ($R= -0,42$) в плазме крови детей с БА, но при этом было положительно связан с активностью каталазы ($R=0,32$).

Относительное количество CD19-лимфоцитов положительно коррелировало с уровнем МДА ($R=0,38$) в плазме крови детей с БА, но при этом было отрицательно связано с активностью СОД ($R=-0,40$). Сходными были и выявленные корреляционные связи для показателя уровня CD25-лимфоцитов.

Таблица 7.4 - Взаимосвязь показателей иммунного статуса и показателей свободнорадикального окисления плазмы крови у детей с бронхиальной астмой (представлены значимые коэффициенты корреляции Спирмена, R, $p < 0,05$)

Показатели	Уровень ДК	Уровень МДА	Активность СОД	Активность каталазы
CD3	-0,37	-0,33	0,45	0,38
CD4	0,45			-0,37
CD8	-0,36	-0,42		0,32
CD19		0,38	-0,40	
CD25		0,33	-0,37	
CD16	-0,39		0,42	0,33
IgM	0,32		-0,39	-0,35
Ig G	0,43	0,35	-0,34	
IgE	0,82	0,71	-0,54	-0,64
ИЛ-2		0,41		
ИЛ-4		0,36	-0,40	
ФНО- α	0,36	0,38	-0,36	
Катионные белки	0,42			-0,39
Миелопероксидаза	0,31	0,35		-0,34
НСТ-тест			-0,33	
Нейтрофилы слизистой ВДП	0,35	0,32		-0,34
Эозинофилы слизистой ВДП	0,38		-0,35	

Концентрация IgM отрицательно коррелировала с активностью СОД ($R = -0,39$) и каталазы ($R = -0,35$), но положительно была связана с уровнем ДК ($R = 0,32$).

Концентрация IgG положительно коррелировала с уровнями ДК ($R = 0,43$) и МДА ($R = 0,35$) в плазме крови детей с БА, но при этом была отрицательно связана с активностью СОД ($R = -0,34$).

Уровень Ig E отрицательно коррелировал с активностью ферментов СОД ($R = -0,54$) и каталазы ($R = -0,64$), но при этом были выявлены сильные положительные значения этого показателя с уровнем ДК ($R = 0,82$) и МДА ($R = 0,71$).

Концентрация ИЛ-2 положительно коррелировала с уровнем МДА ($R = 0,41$), а уровень ИЛ-4 отрицательно коррелировал с активностью СОД ($R = -0,36$).

Концентрация ФНО- α была прямо связана с уровнями ДК ($R = 0,36$) и МДА ($R = 0,38$), но при этом была положительно связана с активностью СОД ($R = -0,36$). Уровень катионных белков отрицательно коррелировал с активностью каталазы ($R = -0,39$), но при этом был положительно связан с концентрацией ДК ($R = 0,42$).

Активность миелопероксидазы положительно коррелировала с уровнем ДК ($R = 0,31$) и МДА ($R = 0,35$) и отрицательно коррелировала с активностью каталазы ($R = -0,34$).

Уровень НСТ-теста отрицательно коррелировал с активностью СОД ($R = -0,33$).

Количество нейтрофилов в слизистой оболочке ВДП положительно было связано с уровнем ДК ($R = 0,35$) и МДА ($R = 0,32$), но при этом было отрицательно связано с активностью каталазы ($R = -0,35$). Содержание эозинофилов отрицательно коррелировало с активностью СОД ($R = -0,35$), но при этом было положительно связано с концентрацией ДК ($R = 0,38$).

7.2 ОБОСНОВАНИЕ ПРЕДЛАГАЕМОГО СПОСОБА ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВДП И ПРИДАТОЧНЫХ ПОЛОСТЕЙ

Предлагаемый способ относится к медицине, а именно, к оториноларингологии и может использоваться в качестве способа диагностики и лечения адгезивного отита.

Известны муколитические и липотропные препараты типа амброксола, искусственного сурфактанта, используемые в пульмонологии для лечения нарушений сурфактантной системы легких и мукоцилилярного клиренса. Их назначение – стимулировать синтез и секрецию сурфактанта легких или заменить его искусственным сурфактантом.

Данные препараты эффективны только при действительно недостаточности сурфактанта. Излишнее количество сурфактанта вызывает другую патологию – эмфизему легких и альвеолярный протеиноз. Назначение препаратов стимулирующих синтез и секрецию сурфактанта проводят под контролем его поверхностной активности в бронхоальвеолярных смывов и конденсате выдыхаемого воздуха (а.с. СССР №1644064 G 01 N 33/48 - Способ диагностики заболеваний, сопровождающихся нарушениями сурфактанта легких).

Открытие способности эпителия среднего уха синтезировать белки аналогичные белкам сурфактанта легких послужило основой поиска новых средств лечения хронических форм отита, средствами ранее используемыми для коррекции нарушений сурфактанта. Однако пока не разработаны критерии показаний для назначения муколитических средств при отитах и способы оценки эффективности лечения.

В качестве прототипа изобретения выбран **United States Patent № 6676930 Current U.S. Class: 424/45 ;128/200.23 Current International Class: A 61K 31/47 Состав и метод для лечения среднего отита.** В изобретении патентуется составы различных фосфолипидов, искусственных аналогов сурфактанта, липотропных средств, витаминных препаратов, муколитиков, антибиотиков,

флюорокарбонов, дексаметазона, фруктозы, глюкозы и других фармацевтических препаратов вводимых во внутрь при острых и хронических средних отитах.

Недостатком способа является назначение большого количества средств без учета функционального состояния больного вне зависимости от формы отита, его фазы и тяжести течения заболевания.

Поэтому целью рационального предложения явилась разработка способа диагностики и лечения адгезивного отита с учетом функционального состояния слизистой среднего уха.

Поставленная цель решена в назначении одного из вышеперечисленных средств или их комбинации, отличающимся тем, что проводится предварительное промывание барабанной полости физиологическим раствором через евстахиеву трубу, смыв центрифугируется, определяется поверхностная активность смыва на поверхностных весах, рассчитывается индекс стабильности и при его величине менее 0,3 назначается курсовое впрыскивание данных препаратов в комбинации с раствором амброксола.

Формула

Способ диагностики и лечения адгезивного отита путем назначения одного из фармацевтических препаратов фосфолипидов, искусственных аналогов сурфактанта, липотропных средств, витаминных препаратов, муколитиков, флюорокарбонов, дексаметазона или их комбинации, отличающийся тем, что с целью предупреждения передозировки проводится предварительное промывание барабанной полости физиологическим раствором через евстахиеву трубу, смыв центрифугируется, определяется поверхностная активность смыва на поверхностных весах, рассчитывается индекс стабильности и при его величине менее 0,3 назначается курс впрыскиваний одного из данных препаратов.

Предлагаемым способом определена ПА смывов евстахиевой трубы у 20 больных с отитом до и после лечения среднего отита.

Результаты исследований приведены в табл.7.5.

Таблица 7.5. Результаты совпадений предлагаемых критериев оценки эффективности лечения среднего отита

Показатель	Количество обследованных
истинно-положительный результат	14
ложно-положительный результат	2
истинно-отрицательный результат	2
ложно-отрицательный результат	2
Всего наблюдений	20

Итого:

точность заявляемого способа 70,0%

чувствительность заявляемого способа 68,5%

специфичность заявляемого способа 71,0%

Преимущества заявляемого способа:

1. Исследование проводится в смывах слизистых объемом от 1 мл, субстрат для анализа получают атравматично.
2. Высокая точность 70,0%, чувствительность 68,5% и специфичность 71% способа.
3. Обследование не требует дорогостоящего оборудования, для анализа требуется микроскоп и компьютер, которыми в настоящее время оснащены все территориальные больницы.
4. Способ может использоваться в качестве экспресс-анализа. Длительность проведения анализа не превышает одного часа.
5. Результаты определения ПА смывов слизистых имеют сильную достоверную корреляцию с иммунологическими и биохимическими показателями активности воспалительного процесса, что доказывают их взаимозаменяемость, однако в отличие известных анализов не требуют расходов на реактивы, расходные материалы и дорогостоящее оборудование.

Заключение к главе

Таким образом, проведенные исследования позволили установить наличие значимых корреляций между параметрами иммунного статуса обследуемых детей (количеством CD3, CD16, CD19-лимфоцитов, концентрациями иммуноглобулинов M, G, E, интерлейкинов 2 и 4, фактора некроза опухоли- α и интерферона- γ , количеством нейтрофилов и эозинофилов в слизистой оболочке ВДП) и показателями состояния верхних дыхательных путей (минимальным поверхностным натяжением эндоназальных смывов, уровнем диеновых конъюгат в эндоназальных смывах и конденсате выдыхаемого воздуха, уровнем гидроперекисей в КВВ), а также параметрами интенсивности процессов свободнорадикального окисления (уровнями диеновых конъюгат и малонового диальдегида) и активности антиоксидантной системы (ферментов СОД и каталазы).

Полученные данные свидетельствуют о необходимости учета этих данных в ходе совершенствования лечебно-диагностических мероприятий в отношении детей с бронхиальной астмой.

В заключение следует отметить, что в настоящее время известно, что эпителий верхних дыхательных путей выполняет барьерную функцию, обеспечивает мукоцилиарный транспорт и вырабатывает белки, способные нейтрализовать и уничтожать болезнетворные микроорганизмы, тем самым выступая в роли ключевого компонента неспецифического иммунитета. Кроме того, эпителий выделяет хемокины, которые мобилизуют антиген-специфические Т- и В-лимфоциты. Нарушение работы любого из вышеперечисленных механизмов повышает восприимчивость организма к инфекциям [Schleimer R. et al., 2007]. Выполненное в ряде исследований изучение материалов биопсий пациентов с БА показало, что в бронхиальном эпителии таких пациентов происходит разрушение плотных межклеточных контактов, которые обеспечивают барьерную функцию. В связи с утратой плотных контактов повышается проницаемость эпителия для макромолекул [Kabesch M. et al., 2004; Xiao C. et al., 2011]. Установлено, что аллергены могут нарушать барьерную функцию эпителия, а пато-

морфологические изменения, наблюдаемые в слизистой оболочке при аллергическом рините, практически полностью совпадают с изменениями, наблюдаемыми в нижних дыхательных путях астматиков [Hammad H., Lambrecht B.N., 2008]. Протеолитические аллергены нарушают целостность плотных контактов в культурах бронхиального эпителия человека, и увеличивают его проницаемость [Runswick S. et al., 2007]. Результаты вышеперечисленных исследований демонстрируют, каким образом изменения эпителия при БА заболеваниях повышают восприимчивость к инфекционным заболеваниям.

Наши исследования, как и данные других авторов, подтверждают, что при адекватном лечении наблюдается нормализация показателей ПН КВВ у больных бронхиальной астмой. Эти изменения отмечены, например, у таких пациентов при лечении ингакортам [Бримкулов Н.Н., Белов Г.В., 1989].

Полученные данные подтверждают, что при существующих на сегодняшний день методических возможностях исследование ПН КВВ позволяет оценивать состояние слизистой оболочки верхних дыхательных путей у сравнимых групп детей и взрослых лиц с разной патологией, выявлять положительную или отрицательную динамику показателей на различных сроках адаптации, лечения. В то же время использование показателей ПН КВВ в качестве индивидуальных критериев диагностики и эффективности лечения заболеваний ВДП, очевидно, должно осуществляться в комплексе с другими параметрами, поскольку погрешность методик пока достаточно высока, методы исследования ПН КВВ нуждаются в дальнейшей стандартизации и экспериментальном обосновании.

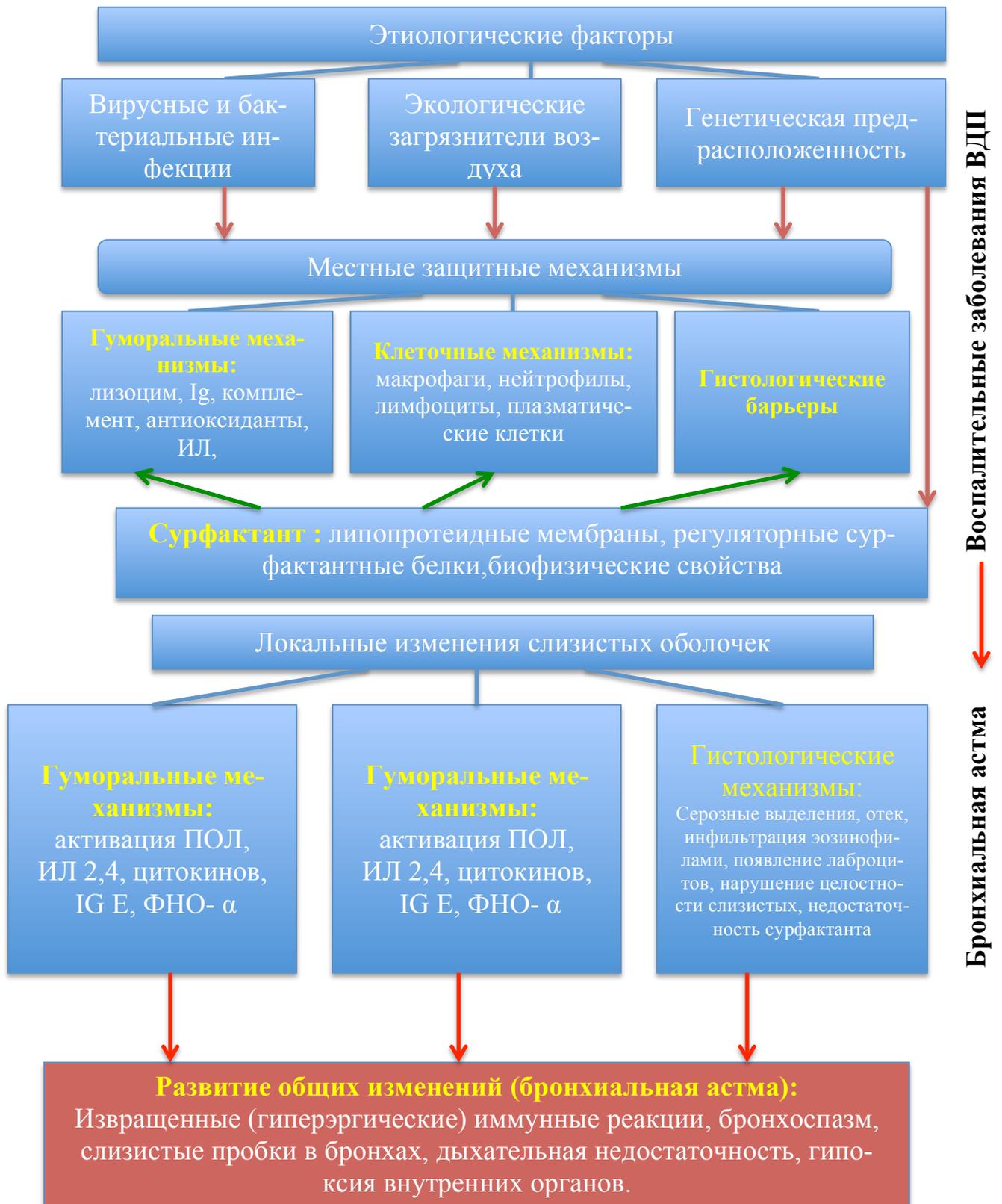
Все выше сказанное можно изложить графически рис 7.1. Имеются общие этиологические факторы приводящие к развитию воспалительных заболеваний ВДП и бронхиальной астмы. Это во-первых респираторные инфекции, во-вторых - загрязнители окружающей среды, пылевые частицы воздуха, токсические газы, аэрозоли, пыльца растений, споры грибков, растворенные в воде, пищевых продуктах вещества, и тому подобное, в-третьих это наследственные дефекты защитных барьеров, в частности сурфактантов слизистых и

легких.

В норме действию инфекционных агентов и поллютантов противостоят гуморальные и клеточные механизмы, подробно описанные выше и оцененные в наших исследованиях. Важное значение имеют гистологические барьеры: целостность слизистых, аэрогематический барьер, сурфактанты, образующие на поверхности липопротеидные пленки.

Существуют местные механизмы саморегуляции морфофункционального состояния эпителиальных тканей. В которых важное значение имеют медиаторы липидной природы – производные арахидоновой кислоты, других жирных кислот, их радикалы, а также медиаторы пептидной природы - коллектины, интерлейкины и др. При многократном действии этиологических факторов, отмеченных выше, регуляция гуморального и клеточного ответа на локальном уровне извращается. Анализ литературных и собственных данных показывает на важное значение при этом процессам активации ПОЛ, повышения интерлейкинов 2,4, появление цитотоксинов, ФНО-А, иммуноглобулина Е, нарушениям соотношения субпопуляций лимфоцитов. Развиваются гистологические изменения на клеточном уровне. Все эти изменения выявляются при казалось бы неопасных заболеваниях, даже просто насморке.

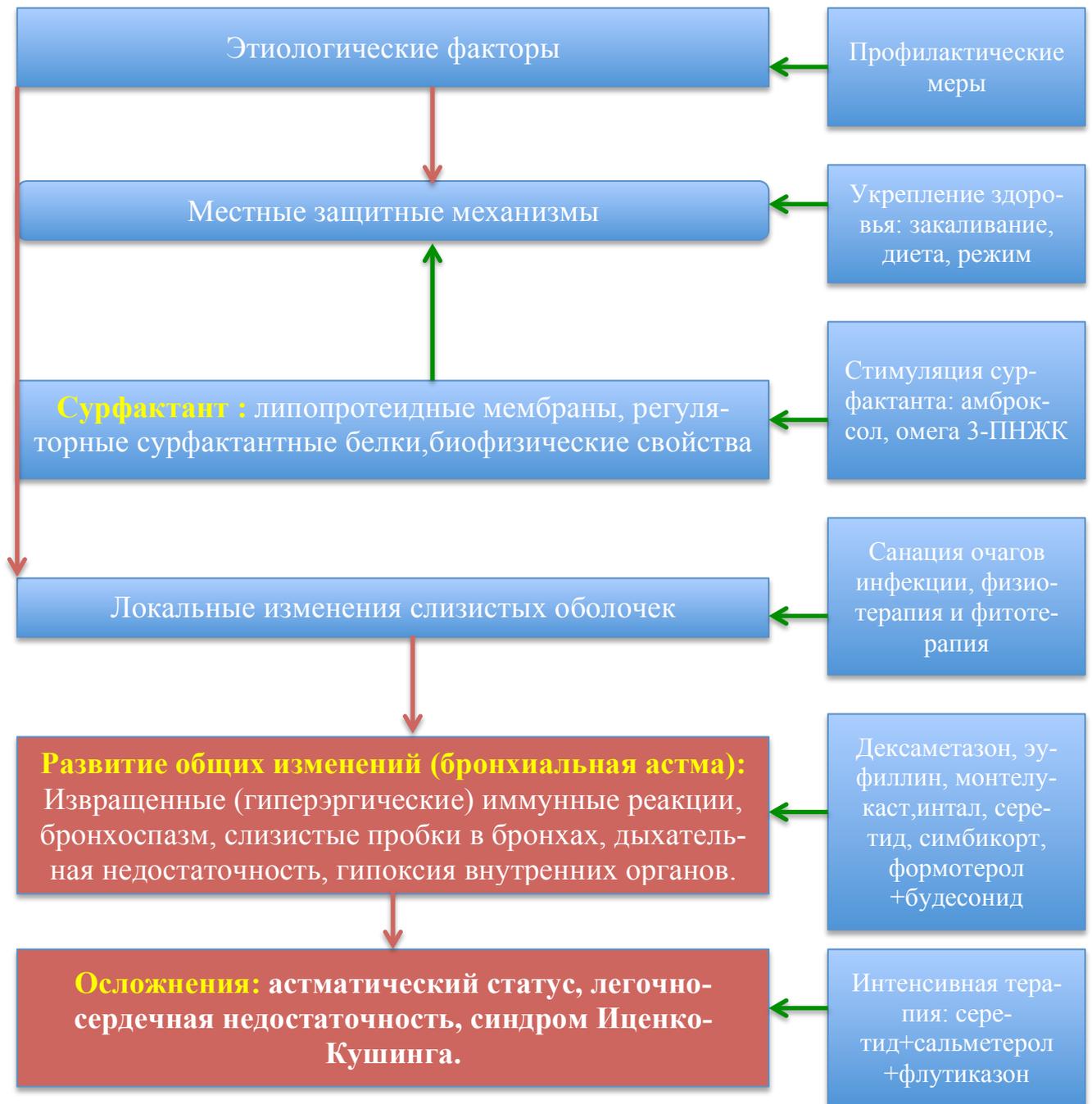
Задача врачей на этом этапе профилактика (исключение контакта с инфекционным агентом и другими аллергенами), восстановление (излечение простудных заболеваний) и укрепление здоровья (закаливание, формирование здорового образа жизни, соблюдение надлежащей диеты).



Примечание:

← Симулирующее действие ← Повреждающее действие

Рис.7.1 – Общие патогенетические механизмы развития заболеваний верхних дыхательных путей инфекционно-аллергической природы.



Примечание:

← Стимулирующее действие

← Повреждающее действие

Рис.7.2 – Основы патогенетического лечения заболеваний верхних дыхательных путей инфекционно-аллергической природы.

В восстановительном лечении воспалительных заболеваний ВДП (рис.7.2) важное значение имеют санация очагов физиотерапевтическими факторами и фитопрепаратами, а также стимуляция сурфактантной системы амброксолом, как это мы делали, или другими препаратами, влияющими на мета-

болизм сурфактанта или модификаторами сурфактанта.

В дальнейшем локальные изменения слизистых приводят к генерализации процесса, наступают глубокие изменения иммунной системы и бронхолегочной ткани. Увеличивается количество бокаловидных клеток слизистой, тучных клеток и эозинофилов в подслизистой, повреждается реснитчатый эпителий. Изменяются реологические свойства секрета слизистых, меняется реактивность бронхов, закрепляются нейрогуморальные механизмы бронхоспазма. На этом этапе при разработке схем лечения необходимо включать весь комплекс лекарственных средств корригирующих нарушения клеточного и гуморального иммунитета, гормонального статуса, вегетативной нервной системы, тонуса бронхов и сосудов, реологические свойства мокроты.

ВЫВОДЫ

1. Смывы слизистых оболочек носа, глаза, среднего уха, влагалища, обладают определенной ПА сравнимой с таковой для бронхоальвеолярного смыва, но менее выраженной. Снижение ИС идет по направлению конъюнктивный смыв <смыв влагалища< смыв внутреннего уха <эндонозальный смыв < бронхоальвеолярный смыв. При экспериментальном моделировании аллергического воспаления происходит достоверное снижение ПА смывов слизистых оболочек и КВВ, сопровождающихся повышением показателей свободнорадикального окисления этих биосубстратов. Амброксол обладает защитным действием при экспериментальном аллергическом воспалении.

2. Определение ПА эндонозального смыва, смыва внутреннего уха адекватно отображает количество и качество сурфактантов слизистых оболочек человека, что имеет определенное диагностическое значение в оториноларингологии и пульмонологии.

3. Сдвиги физико-химических характеристик эндонозальных смывов и конденсата выдыхаемого воздуха у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой проявляются повышением показателей поверхностного натяжения, снижением концентраций суммарных липидов, повышением содержания гидроперекисей и диеновых конъюгат в этих биологических средах. Более выраженными являются эти сдвиги в эндонозальных смывах детей с бронхиальной астмой.

4. У часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой наблюдается усиление активности процессов свободнорадикального окисления, в частности повышением концентраций малонового диальдегида и диеновых конъюгат в плазме крови, а также снижение функции антиоксидантной системы, проявляющееся ослаблением активности ферментов супероксиддисмутаза и каталазы. На фоне проведения терапии у этих больных наряду со снижением частоты клинических проявлений патологии наблюдается ослабление выраженности сдвигов СРО и активация антиоксидантной системы.

5. Изменения клеточного и гуморального иммунитета у часто болеющих детей проявляются: снижением количества CD3+ лимфоцитов, увеличением уровня CD19+ клеток, уменьшением уровня клеток с фенотипом CD16+ (естественных киллеров), повышением концентрации иммуноглобулинов М и G, увеличением уровня IgE, повышением концентраций ИЛ-2, ИЛ-4 и ФНО- α наряду со снижением уровня ИНФ- γ . При бронхиальной астме выраженность этих сдвигов усиливается, к ним присоединяются увеличение CD25+ лимфоцитов (несущих рецепторы в интерлейкину-2, многократное увеличение уровня иммуноглобулина E и повышением концентраций интерлейкинов 2, 4 и ФНО- α (при этом уровень интерферона- γ существенно не отличался от такового в контроле).

6. При разработке и совершенствовании лечебно-диагностических мероприятий в отношении часто болеющих детей следует учитывать характеристики состояния верхних дыхательных путей (минимальное поверхностное натяжение эндоназальных смывов, уровень диеновых конъюгат в эндоназальных смывах и конденсате выдыхаемого воздуха, уровни гидроперекисей в конденсате выдыхаемого воздуха), а также параметры интенсивности процессов свободнорадикального окисления (уровни диеновых конъюгат и малонового диальдегида) и активности антиоксидантной системы (ферментов супероксиддисмутазы и каталазы), которые имеют достоверные значимые корреляции с показателями иммунного статуса.

7. Патогенетически обоснованное лечение, включающее коррекцию изменений функции иммунной системы, активацию сурфактантов слизистых, снижение интенсивности свободнорадикального окисления, повышение активности антиоксидантной системы и проявляется снижением частоты жалоб: у детей с бронхиальной астмой и часто болеющих детей (затруднений дыхания, удушья, одышки, кашля, заложенности носа), а также снижением частоты обострений бронхиальной астмы в 2 раза, а у часто болеющих детей значимым снижением частоты ОРВИ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется для дальнейших клинико-экспериментальных работ методика определения поверхностной активности смывов слизистых глаза, носа, внутреннего уха, влагалища, конденсата выдыхаемого воздуха у экспериментальных животных и у человека.

2. Рекомендуется в деятельность врачей-оториноларингологов способ диагностики и лечения воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей и придаточных полостей путем назначения одного из фармацевтических препаратов фосфолипидов, искусственных аналогов сурфактанта, липотропных средств, витаминных препаратов, муколитиков, флюорокарбонов, дексаметазона или их комбинации, отличающийся тем, что с целью предупреждения передозировки и осложнений проводится предварительное промывание барабанной полости физиологическим раствором через евстахиеву трубу, смыв центрифугируется, определяется поверхностная активность смыва на поверхностных весах, рассчитывается индекс стабильности и при его величине менее 0,3 назначается курс впрыскиваний одного из данных препаратов.

3. Для ранней диагностики нарушений функции иммунной системы у рассматриваемых контингентов детей и повышения эффективности их лечения необходимо совершенствовать подходы с учетом современных представлений о молекулярно-клеточных основах патологии верхних дыхательных путей, для чего следует применять на практике методы оценки состояния слизистой оболочки носоглотки у часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой с использованием данных цитологических и микробиологических исследований.

4. При существующих на сегодняшний день методических возможностях исследование поверхностного натяжения конденсата выдыхаемого воздуха и эндоназальных смывов позволяет оценивать состояние слизистой оболочки верхних дыхательных путей у сравнимых групп детей и взрослых лиц с разной патологией, выявлять положительную или отрицательную динамику показателей на различных сроках лечения и реабилитации.

5. Комплекс лечебно-профилактических мероприятий в отношении часто болеющих детей и детей с бронхиальной астмой следует дополнить стимуляцией сурфактанта и коррекцией баланса про- и антиоксидантных систем организма.

6. Для больных с бронхиальной астмой и часто болеющих детей рекомендуется использование в комплексе иммунодиагностики оценки показателей неспецифической резистентности, локального иммунитета и цитологических характеристик слизистой оболочки верхних дыхательных путей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. **Абдрахманова, М.** Особенности экспрессии активных форм кислорода клетками крови у больных хроническим бронхитом [текст] /М. Абдрахманова, У.Р.Фархутдинов, Р.Р. Фархутдинов // Тер.архив. - 2001. - № 3. - С.45-48.
2. **Акулова, Е.А.** Сурфактант-терапия у пациентов с частично контролируемой и неконтролируемой персистирующей бронхиальной астмой [текст] / Е.А. Акулова, О.В.Степанова, В.С.Лазебных, Д.Р.Туктарова // В сборнике: Современные проблемы анестезиологии-реаниматологии материалы Всероссийской научно-практической конференции. Чита. - 2016. - С. 9-11.
3. **Анаев, Э.Х.** Неинвазивный метод (конденсат выдыхаемого воздуха) в диагностических и лечебных программах при заболеваниях органов дыхания [текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. Наук / Э.Х. Анаев - Москва, 2005. - 44 с.
4. **Анаев, Э.Х.** Конденсат выдыхаемого воздуха в диагностике и оценке эффективности лечения болезней органов дыхания [текст] / Э.Х. Анаев, А.Г. Чучалин // Пульмонология. - 2006. - № 4. - С.12-20.
5. **Андреева, И.** Амброксол в лечении и профилактике заболеваний дыхательной системы [текст] /И. Андреева // Врач. 2008. - № 5.- С. 65-66.
6. **Андриевская, И.А.** Свободнорадикальные реакции в организме матерей и новорожденных в условиях герпесной патологии [текст] /И.А. Андриевская // Бюл. физиол. и патол. дыхания. - 2007. - Вып.26. - С.41-43.
7. **Балаболкин, И.И.** Бронхиальная астма у детей [текст] / И.И. Балаболкин, Н.В Юхтина, Л.Д. Ксензова и др. - Москва, 2003. - 137 с.
8. **Белевский, А.С.** Тест контроля астмы – «новая игрушка» или важный инструмент [текст] /А.С. Белевский// Пульмонология и аллергология. – 2005. – № 1 (16). – С. 1–2.

9. **Белов, Г.В.** Методы исследования сурфактантной системы легких на секционном материале, в эксперименте и клинике: Методические рекомендации [текст] / Г.В. Белов, А.А. Арбузов Фрунзе.- 1986.-28с.
10. **Белов, Г.В.** Исследование поверхностного натяжения конденсата паров выдыхаемого воздуха у здоровых курящих лиц и больных хроническим бронхитом [текст] / Г.В. Белов, Н.Н.Бримкулов// Нереспираторные функции легких. Ленинград, 1988. - С.70-73.
11. **Белов, Г.В.** Устройство для имитации поверхностного натяжения сурфактанта легких А.С. №1790918 [текст] / Г.В. Белов, Н.Н.Бримкулов, Ю.Г.Ким - Бюл. N 4, 1993.
12. **Белов, Г.В.** Устройство для измерения поверхностного натяжения сурфактанта легких А.С. СССР N1621877 от 10.03.88 [текст] / Г.В. Белов, Н.Н.Бримкулов. - Бюл. Изобретения стран мира.1991.N3.
13. **Белов, Г.В.** Сравнение поверхностной активности конденсата выдыхаемого воздуха и смывов легких на экспериментальных моделях [текст] / Г.В. Белов, Н.Н. Бримкулов, Н.Е. Давлеталиева, К.Т. Акматов // Сурфактантная система легких в норме и патологии. - Ялта, 1992. - С. 12-14.
14. **Белов, Г.В.** Исследования поверхностной активности конденсата выдыхаемого воздуха: недостатки и перспективы [текст] / Г.В. Белов, Н.Н. Бримкулов, Н.Е. Давлеталиева, Ч.К.Оторбаев // Неинвазивные методы диагностики. – М., 1995. - С.126-128.
15. **Белов, Г.В.** Оценка состояния сурфактантной системы легких в норме и при патологии [текст] / Г.В.Белов, А.А. Арбузов, Н.Н. Бримкулов – Бишкек: КНИИКиВЛ, 2005. - 105 с.
16. **Белов, Г.В.** Поверхностная активность и состояние перекисного окисления липидов слизи цервикального канала у женщин репродуктивного возраста в норме, при воспалительных и гиперпластических заболеваниях шейки матки [текст] / Г.В.Белов, Д.Ю.Уметалиева, Ю.А.Балакирева// Материалы Четырнадцатой межрегиональной науч-

- но-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицины» - Абакан, 2011. - С.27-28.
17. **Беляков, Н.А.** Концентрация в крови и биологическая активность молекул средней массы при критических состояниях организма [текст] / Н.А. Беляков, А.С.Владыка, М.Я.Малахова // Анест. и реан. – 1987. - № 3. – С.41-44.
 18. **Бестужева, С.В.** Физико-химическое и биохимическое исследование конденсата паров выдыхаемого воздуха [текст] /С.Ф.Бестужева // Методические рекомендации. - Минск, 1983. – 18 с.
 19. **Болевич, С.** Бронхиальная астма и свободнорадикальные процессы. Патогенетические, клинические и терапевтические аспекты [текст] /С.Болевич// М.: Медицина, 2006. - 253 с.
 20. **Бондаренко, А.Л.** Особенности перекисного окисления липидов лимфоцитов при микстинфекции В и С [текст] /А.Л.Бондаренко // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2004. -№ 1. -С.33-36.
 21. **Бондаренко, В.М.** Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы [текст] /В.М.Бондаренко , Т.В.Мацулевич // М.: Гэотар-Медиа, 2007. - 300 с.
 22. **Бородин, Е.А.** Конденсат выдыхаемого воздуха как объект для биохимического исследования [текст] /Е.А.Бородин, М.А.Штарберг// В сборнике: Материалы IX международной научной конференции "Системный анализ в медицине" (САМ 2015) Под общей редакцией В.П. Колосова. - 2015. - С. 115-117.
 23. **Борукаева, И.Х.** Изменение показателей конденсата выдыхаемого воздуха у больных бронхиальной астмой после интервальной гипоксической тренировки и энтеральной оксигенотерапии [текст] /И.Х. Борукаева, Р.М. Арамисова// Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН. -2011.- № 3.- С.218-224.
 24. **Бримкулов, Н.Н.** Изменение поверхностной активности конденсата выдыхаемого воздуха у здоровых и больных бронхиальной астмой

- людей в процессе адаптации к высокогорью [текст] /Н.Н.Бримкулов, Г.В.Белов// Сурфактантная и антисурфактантная система легких. – Харьков, 1989. - С.44-46.
- 25. Бримкулов, Н.Н.** Высокогорная климатотерапия больных бронхиальной астмой: морфологические критерии эффективности [текст] / Н.Н.Бримкулов, Д.Н.Чернякова, Г.В.Белов // Здоровоохранение Кыргызстана. -1991.-№3.- С. 28-31.
- 26. Бримкулов, Н. Н.** Взаимосвязь иммунологических исследований и показателей поверхностной активности сурфактанта в бронхоальвеолярных смывах у больных бронхиальной астмой в процессе высокогорной климатотерапии [текст] /Н.Н.Бримкулов, М.Мирбакиева, Н.Э.Давлеталиева, Г.В.Белов // Материалы международного симпозиума по саногенному влиянию климатических факторов. - Андижан.- 1993. - С.23-24.
- 27. Бримкулов, Н.Н.** Влияние высокогорной климатотерапии на поверхностную активность конденсата выдыхаемого воздуха у больных бронхиальной астмой [текст] / Н.Н. Бримкулов, Г.В. Белов // Вопр. физиот. кур.и лечебн. физк.-1989. - №1.-С.61-63.
- 28. Бримкулов, Н. Н.** Горноклиматическое лечение больных бронхиальной астмой [текст] / Н.Н. Бримкулов: Автореф. дис. ... докт. мед.наук. Бишкек, 1993. – 43 с.
- 29. Величковский, Б.Т.** Экологическая пульмонология (роль свободно-радикальных процессов) [текст]/ Б.Т.Величковский // - Екатеринбург, 2001. - С.4-28.
- 30. Владимиров, Ю.А.** Перекисное окисление липидов в биологических мембранах [текст] /Ю.А.Владимиров, А.И.Арчаков// - М.: Наука, 1972. - 286 с.
- 31. Волков, И.К.** Антиоксидантная терапия при хронических заболеваниях легких у детей [текст] / И.К. Волков // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2007. № 1. С. 46-48.

32. **Воробьев, А.А.** Иммунология и аллергология [текст] /А.А.Воробьев, А.С.Быков, А.В. Караулов // - М.: Практическая медицина. - 2006. – С. 246-247.
33. **Гаврилов, В. Б.** Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови [текст] /В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. Дело. - 1983. - № 3. С. 33-36.
34. **Гаджимирзаев, Г.А.** Активность антиоксидантной защиты у больных аллергическим ринитом по данным биохимических соединений в носовом секрете / Г.А. Гаджимирзаев, З.Т. Михраилова // Российская ринология/ 2011. -№2. –С.28
35. **Геронина, С.А.** Показатели липидного обмена, фосфолипидов, системы “перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита” у больных хроническим катаральным необструктивным бронхитом [текст] / С.А. Геронина // Бюл. физиол. и патол. дыхания. - 2004. - Вып.19. - С.22-24.
36. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (Пересмотр 2007) / Пер. с англ. – М.: Атмосфера, 2008. - С. 21-28.
37. **Гусев, Е.Ю.** Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса [текст] / Е.Ю.Гусев, В.А.Черешнев, Л.Н.Юрченко// Цитокины и воспаление. – 2007. – Т.6. № 4. – С.9-21.
38. **Давлеталиева, Н.Е.** Оценка и возможные пути коррекции нарушений сурфактантной системы легких у больных бронхиальной астмой / Н.Е.Давлеталиева: Автореф. дис... канд. мед.наук. - Бишкек, 1994.
39. **Добрых, В.А.** Некоторые проблемы изучения конденсата выдыхаемого воздуха при патологии легких [текст] /В.А.Добрых, И.Е.Мун // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2005. - № 5. – С.33-35.
40. **Дугарова, И.Д.** О роли цитокинов при бронхиальной астме [текст] / И.Д. Дугарова И.Д., Э.Х. Анаев, А.Г. Чучалин // Пульмонология.- 2009. № 4. С. 96-102.

41. **Ерохин, В.В.** Клеточная биология легких в норме и при патологии [текст] / В.В. Ерохин, Л.К. Романова. – Москва: Медицина. - 2000. – 496 с.
42. **Ерюхин, И.А.** Экстремальное состояние организма. Элементы теории и практические проблемы на клинической модели тяжелой сочетанной травмы [текст] /И.А.Ерюхин, С.А.Шляпников - СПб.- 1997. - 296 с.
43. **Загорулько, А.К.** Сурфактантная система легких и заместительная сурфактантная терапия [текст] / А.К. Загорулько, А.А. Биркун, Н.Ю Новиков. - Симферополь.- 1995. - 71с.
44. **Зайцева, О.В.** Интерлейкин-1 альфа, фактор некроза опухолей-альфа и интерферон-гамма в сыворотке крови детей, больных бронхиальной астмой [текст] /О.В.Зайцева, А.В.Лаврентьев, С.В.Зайцева, С.В.Самсыгина // Аллергология. – 2000. - № 3 (Электронная версия журнала).
45. **Зарубина, И.В.** Повышение индивидуальной устойчивости к гипоксии производными бензимидазола [текст] /И.В. Зарубина, Л.А.Павленко, П.Д. Шабанов // Фармакотерапия гипоксии и ее последствий при критических состояниях: Сб. науч. тр. – СПб. 2004. - С.20-22.
46. **Захарова, И.Н.** Эффективность муколитических препаратов при кашле у детей [текст] / И.Н. Захарова., Ю.А. Дмитриева //Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2009. - № 3. - С. 72-77.
47. **Зенков, Н.К.** Окислительный стресс (биохимический и патофизиологический аспекты) [текст] /Н.К.Зенков, В.З.Ланкин, Е.Б.Меньщикова// - М., 2000. - С.56-58.
48. **Зыков, К.А.** Перспективы применения амброксола в пульмонологии [текст] / К.А. Зыков // Справочник поликлинического врача. 2009. - № 3. - С. 36-38.
49. **Иванов, К.П.** Современные фундаментальные проблемы кислородного транспорта и гипоксии [текст] /К.П.Иванов // Фармакотерапия гипоксии и ее последствий: Сб. тез.докл. – СПб., 2004. - С. 29-31.

- 50. Изтлеуов, М.К.** Нарушения сурфактантной системы легких и пути их коррекции: дискуссии по актуальным вопросам медицинской науки и образования [текст] / М.К. Изтлеуов // Медицинский журнал Западного Казахстана. 2013. - № 3. - С. 68-74
- 51. Казюкова, Т.В.** Часто болеющие дети: современные возможности снижения респираторной заболеваемости [текст] / Т.В. Казюкова, Г.С. Коваль, Г.А. Самсыгина и др. // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2012. - Т. 91. - № 5. - С. 42-48.
- 52. Караулов, А.В.** Клиническая иммунология.[текст] /А.В.Караулов // М.: Медицинское информационное агентство, 1999. - 604 с.
- 53. Карташова, О.Л.** Резидентное стафилококковое бактерионосительство как критерий экологической нагрузки населения [текст] /О.Л.Карташова, С.Б.Киргизова, О.В.Бухарин // Гигиена и санитария. – 2002. - № 5. – С. 42–44.
- 54. Карунас, А.С.** Анализ ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с бронхиальной астмой в Республике Башкортостан [текст] /А.С.Карунас, А.Р.Измайлова, Ш.З.Загидуллин и др. // Цитокины и воспаление. - 2007. - № 4. - С. 84-90.
- 55. Кетлинский, С.А.**Цитокины [текст] /С.А.Кетлинский, А.С.Симбирцев// – СПб.: Фолиант.- 2008. - 552 с.
- 56. Клячкина, И.Л.** Новые возможности лечения кашля / И.Л. Клячкина // Вестник оториноларингологии. -2015.- Т. 80.- № 5.- С. 85-90.
- 57. Клячкина, И.Л.** Муколитик амброксол в программе лечения заболеваний нижних дыхательных путей [текст] / И.Л. Клячкина //Справочник поликлинического врача. - 2010. -№ 10. - С. 15-19.
- 58. Княжеская, Н.П.** Применение амброксола в терапии респираторных заболеваний [текст] / Н.П. Княжеская // Фарматека. - 2014. - № 3. - С. 76-80.

- 59. Козлов, А.Е.** Функции белков сурфактанта в лёгких [текст] / А.Е. Козлов, А.Н. Микеров // Бюллетень медицинских интернет-конференций. - 2015. - Т. 5.- № 12. - С. 1648
- 60. Колычева, И.В.** Оценка риска профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний у пожарных [текст] /И.В.Колычева, В.С.Рукавишников // Медицина труда и промышленная экология. – 2005. - № 12. – С. 11–17.
- 61. Коненков, В.И.** Механизмы этиопатогенеза бронхиальной астмы [текст] / В.И.Коненков, М.Т.Луценко, А.Б.Пирогов// Новосибирск-Благовещенск. - 2002. - 240 с.
- 62. Костюк, В. А.** Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина [текст] / В.А.Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалева // Вопр. мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88–91.
- 63. Котляров, С.Н.** Анализ конденсата выдыхаемого воздуха в диагностике бронхиальной астмы [текст] / С.Н. Котляров, С.А. Качамина // Российский научный журнал. 2015. - № 6 (49).- С.- 370-374.
- 64. Ландышев, Ю.С.** Бронхиальная астма (нейроэндокринная система, иммунитет, клиника, диагностика, лечение) [текст] / Ю.С.Ландышев Благовещенск. 2006.
- 65. Ларюшкина, Р.М.** Изменения фосфолипидных компонентов легочного сурфактанта и их коррекция при атопической бронхиальной астме у детей [текст] / Р.М.Ларюшкина, А.И.Рывкин, Н.С.Побединская и др. // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. -2010. - Т. 89. - № 4. - С. 16-21.
- 66. Латышева Т.В.** Взаимосвязь дисбаланса Th1- и Th2- лимфоцитов и формы бронхиальной астмы [текст] / Т.В.Латышева, М.И.Варфоломеева, В.А.Удалова и др. // Иммунология. – 2005. - № 3. – С.164-167.

- 67. Лебедько, О.А.** Нарушения оксидативного метаболизма при хронических бронхообструктивных заболеваниях легких у детей [текст] / О.А.Лебедько, О.Е.Гусева, В.К. Козлов // Бюл. физиол. и патол. дыхания. - 2007. - Вып.27. - С.12-13.
- 68. Лисица, А.В.** Роль фосфолипидов в патогенезе и терапии бронхиальной астмы [текст] / А.В.Лисица, С.К.Соодаева, И.А.Климанов, А.Г.Чучалин // Пульмонология. -2006. -№ 4.- С.112-115.
- 69. Макарова, И.В.** Амброксол в лечении обострения бронхиальной астмы у детей [текст] / И.В. Макарова //Вопросы современной педиатрии. 2006. - Т. 5.- № 6.- С.102-103.
- 70. Малышев, И.Ю.** Стресс, адаптация и оксид азота /И.Ю.Малышев, Е.Б.Манухин // Биохимия. – 1999. - Т.63. - С.992-1006.
- 71. Мамонтова, Т.В.** Новые аспекты апоптоза мононуклеарных клеток в патогенезе атопической бронхиальной астмы [текст] /Т.В. Мамонтова, Т.В. Кайдашев // Аллергология. - 2005. - № 4. - С.15-23.
- 72. Меньшиков, В.В.** Лабораторные методы исследования в клинике [текст] /В.В.Меньшиков, Л.Н.Делекторская, Р.П.Золотницкая и др.// М., 1987. – 368 с.
- 73. Меньщикова, Е.В.** Окислительный стресс при воспалении [текст] /Е.В. Меньщикова, Н.К.Зенков // Успехи соврем. биологии. – 1997. - Т. 117. - Р. 155-171.
- 74. Метельская, В.А.** Характеристика колонизационной резистентности слизистых оболочек дыхательного тракта при бронхитах у детей: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2013. – 24 с.
- 75. Миррахимов, М.М.** Изменения поверхностной активности и клеточного состава бронхоальвеолярного смыва у больных бронхиальной астмой [текст] / М.М. Миррахимов, Н.Н. Бримкулов, В.Т.Лямцев, Г.В.Белов // Тер.архив.-1987. №3.- С.31- 36.

76. **Мороз, В.В.** Нарушения липидного обмена после тяжелой механической травмы [текст] / В.В. Мороз, Л.В. Молчанова, М.Ю. Муравьева и др. // Общая реаниматол. – 2006. – № 5-6. – С.40-43.
77. **Невзорова, В.А.** Неинвазивные методы диагностики воспаления при бронхиальной астме [текст] / В.А. Невзорова // Тихоокеанский медицинский журнал. 2004. - № 2.- С. 40-45.
78. **Ненашева, Н.М.** GINA 2014: обзор некоторых основных изменений [текст] / Н.М.Ненашева // Практическая пульмонология. – 2014. - № 3. – С.2-14.
79. **Несмеянова, Н.Н.** Микрофлора и цитологический статус слизистых оболочек полости рта и носа у пожарных [текст] / Н.Н.Несмеянова// Медицина труда и промышленная экология. – 2005. - № 12. – С. 37–41.
80. **Несмеянова, Н.Н.** Состояние эндозоологии слизистых оболочек верхних дыхательных путей у лиц, подвергающихся воздействию токсических веществ [текст] / Л.М. Соседова, И.В. Колычева // Экология человека. – 2009. - № 2. – С.3-7.
81. **Ниязбекова, Э.А.** Оценка состояния сурфактантной системы легких у детей, часто болеющих острыми респираторными заболеваниями, при реабилитации физическими факторами [текст] / Э.А. Ниязбекова, Ф.М. Тойчиева, М.Б. Азимова, Г.В. Белов // Медицина Кыргызстана. 2007. №4. - С.72-74
82. **Ниязбекова, Э.А.** Влияние ультрафиолетового облучения на поверхностно-активные свойства сурфактанта у часто болеющих детей [текст] / Э.А.Нияхбекова, М.Б. Азимова // Проблемы и перспективы экспериментальной и клинической медицины. - Бишкек, 1999. – С. 222 – 226.
83. **Овсянников, Д.Ю.** Врожденный дефицит белков сурфактанта [текст] / Д.Ю. Овсянников, М.А. Беляшова, А.А. Крушельницкий // Неонатология: новости, мнения, обучение. 2014. - № 1 (3).- С. 80-90
84. **Овсянников, Д.Ю.** Врожденный дефицит сурфактанта: генетика, патология, диагностика, терапия [текст] / Д.Ю. Овсянников, М.А. Беляшова,

- А.А. Крушельницкий, Н.А. Аммар, Е.В. Бойцова // Вопросы диагностики в педиатрии. 2013. - Т. 5. - № 1. - С. 12-20.
- 85. Плешко, Р. И.** Тяжелая астма и ее структурно-функциональные предикторы [текст] / Р. И. Плешко и др. // - Томск. 2010. - 95 с.
- 86. Поважная, Е.Л.** Влияние метеопатических эффектов атмосферы на состояние сурфактанта легких у детей, больных бронхиальной астмой [текст] / Ф.М. Тойчиева, Г.В. Белов // Актуальные вопросы немедикаментозного лечения заболеваний органов дыхания, сердечно-сосудистой и нервной систем. Ялта. 1996.- С.137.
- 87. Рамазанова, З.К.** Состояние иммунной системы и продукция цитокинов у часто болеющих детей и у детей с бронхиальной астмой [текст] / М.С. Бляхер, И.В. Капустин и др. // Медицинская иммунология. – 2005.- Т.7, № 2-3. - С. 135-138.
- 88. Розенберг, О.А.** Препараты легочного сурфактанта при острых и хронических заболеваниях легких (часть II) [текст] / О.А. Розенберг // Общая реаниматология. 2014. - Т. X. - № 5. - С. 69-86.
- 89. Рябов, Г.А.** Гипоксия критических состояний [текст] /Г.А.Рябов// М.: Медицина, 1988. - 287 с.
- 90. Семиголовский, Н.Ю.** Клиническая классификация антигипоксантов [текст] /Н.Ю. Семиголовский // Фармакотерапия гипоксии и ее последствий при критических состояниях: Сб. науч. тр. – СПб., 2004. - С.103-105.
- 91. Сидоренко, Г.И.** Поверхностно-активные свойства конденсата выдыхаемого воздуха (новый метод для изучения легочной функции)[текст] / Г.И. Сидоренко, Э.И. Зборовский, Д.И. Левина // Тер.архив. - 1980. - Т.52. - С.65-68.
- 92. Симонова, О.И.** Амброксол в терапии респираторной патологии у детей [текст] / О.И. Симонова // Вопросы современной педиатрии. 2007. - Т. 6. - № 6. - С. 118-121.

93. **Синюкова, Т. А.** Сурфактантные белки и их роль в функционировании дыхательной системы [текст] / Т.А. Синюкова, Л. В. Коваленко // Вестник СурГУ. Медицина. - 2011.- № 9.- С. 48-54
94. **Соловьева, Н.В.** Конденсат паров выдыхаемого воздуха и бронхиальная астма у детей [текст] / Н.В.Соловьева //Дальневосточный медицинский журнал. 2007. -№ 3. -С. -15-17.
95. **Соодаева, С.К.** Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания [текст] /С.К.Соодаева // Пульмонология. - 2006. - № 5. - С.122-126.
96. **Суровенко, Т.Н.** Прогностическое значение исследования IL-4, IFNГ И IGE в конденсате выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме и аллергическом рините у детей [текст] / Т.Н. Суровенко, Я.С. Шелудько, О.В. Овчинникова, Е.В. Маркелова, Б.И. Гельцер // Цитокины и воспаление. 2002. - Т. 1. - № 4. - С. 38-42.
97. **Сыромятникова, Н.В.**Метаболическая активность легких [текст]/ Н.В. Сыромятникова, В.А.Гончарова, Т.В.Котенко// Ленинград. 1987.– 187 с.
98. **Таганович, А.Д.** Получение конденсата выдыхаемого воздуха и анализ маркеров заболеваний легких [текст] / А.Д.Таганович// БМЖ. - 2002. - № 2. <http://217.21.36.82/msmi/bmm/02.2002/5.html>
99. **Тойчиева, Ф.М.** Состояние сурфактанта легких в процессе высокогорной спелеотерапии при бронхиальной астме у детей [текст] / Ф.М. Тойчиева, Д.А. Алымкулов, Е.Л. Поважная, Г.В. Белов // Материалы совместного съезда акушеров-гинекологов и педиатров Кыргызстана, Бишкек.- 1996. - с.80-81
100. **Федосеев, Г.Б.** Механизмы обструкции бронхов [текст] /Г.Б. Федосеев СПб. - 1995. - 333 с.
101. **Федосеев, Г.Б.** Бронхиальная астма [текст] / Г.Б. Федосеев - СПб: Нордмедиздат. - 2006. - С. 108.
102. **Хайтов, Р.М.** Аллергология. Клинические рекомендации [текст] / Р.М. Хайтов, Н.И. Ильина М.: ГЭОТАР-Медиа.- 2006. - 240 с.

103. **Хаитов, Р.М.** Физиология иммунитета [текст] /Р.М.Хаитов// Аллергия, астма и клиническая иммунология. - 2000. - № 2. - С. 3-16.
104. **Хаитов, Р.М.** Физиология иммунной системы [текст]/ Р.М.Хаитов// М.: ВИНТИ РАН. - 2001. -224 с.
105. **Хасина, М.А.** Функциональная роль липидов сурфактанта легких [текст] / М.А. Хасина, М.В. Палагина // Бюл. СО РАМН. - 1994. - №1. - С. 25-29.
106. **Хрипач, Л.В.** Роль свободнорадикального окисления в повреждении генома факторами окружающей среды [текст] /Л.В. Хрипач, Ю.А. Ревизова, Ю.З. Рахманин // Вестник РАМН. -2004. - № 3. -С.16-18.
107. **Целуйко, С.С.** Гистофизиология органов дыхания [текст] / С.С. Целуйко, Н.П. Красавина, Д.А. Семенов и др. // Амурская государственная медицинская академия. Благовещенск.- 2012.
108. **Чучалин, А.Г.** Биологические маркеры при респираторных заболеваниях [текст] / А.Г. Чучалин // Терапевтический архив. 2014.- Т. 86. - № 3. - С. 4-13.
109. **Чучалин, А.Г.** Бронхиальная астма: новые перспективы в терапии [текст] / А.Г. Чучалин // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т.92 (5). – С.676-684.
110. **Шанин, Ю.Н.** Теория и практика анестезии и интенсивной терапии при тяжелых ранениях и травмах [текст] / В.Ю. Шанин, В.И. Захаров и др.// Респ. сб. науч. трудов. - СПб., 1993. - С.11-23.
111. **Эсперестер, А.** Содержащая амброксол композиция для местного применения / А.Эсперестер, Ф.У. Мэрц, К. Мюллер // патент на изобретение RUS 2381794 22.04.2005
112. **Эсперестер, А.** Амброксол для лечения болей в полости рта и глотки / А.Эсперестер, У. Пшорн, Ж.М. Виск // патент на изобретение RUS 2311176 25.02.2003

113. **Яковлева, О.А.** Диагностические возможности изучения конденсата выдыхаемого воздуха [текст] / О.А. Яковлева // Тер. Архив. - 1990. - №1.- С.102-107.
114. **Akella, A.** Pulmonary surfactants and their role in pathophysiology of lung disorders [text] / A. Akella, SB.Deshpande // Indian J Exp Biol. 2013 Jan; vol.51.-№1. –P.5-22.
115. **Alevizos, M.** Rupatadine inhibits inflammatory mediator release from human laboratory of allergic diseases 2 cultured mast cells stimulated by platelet-activating factor [text] /M Alevizos., A.Karagkouni, M.Vasiadi et al. // Ann. Allergy Asthma Immunol. – 2013. – Vol.111.-№6 – P.542-547
116. **Alexis, N.E.** Biomarker sampling of the airways in asthma [text] /N.E.Alexis // Curr. Opin. Pulm. Med. – 2014. – Vol.20.-№1. - P.46-52.
117. **Alexis, N.E.** The glutathione-S-transferase Mu 1 null genotype modulates ozone-induced airway inflammation in human subjects [text] /N.E.Alexis, H.Zhou, J.C. Lay et al. // J. Allergy Clin. Immunol. - 2009. – Vol. 124. – P.1222–1228.
118. **Al-Harbi, N. O.** Oxidative airway inflammation leads to systemic and vascular oxidative stress in a murine model of allergic asthma [text] / N. O.Al-Harbi, A. Nadeem, M. M. Al-Harbi et al. //Int Immunopharmacol, 2015 May; Vol.-26.-№ 1.-P .237-45
119. **Al-Ramli, W.** TH17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma [text] /W.Al-Ramli, D.Prrefontaine, F.Chouiali et al. // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2009. - Vol. 123 .-№5. – P.1185–1187.
120. **Anandan, C.** Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies [text] /C.Anandan, U.Nurmatov, O.C.Van Schayck, A. Sheikh // Allergy. – 2010. - Vol. 65.-№2. – P.152–167.

121. **Andersson, C.K.** Mast cell-associated alveolar inflammation in patients with atopic uncontrolled asthma [text] /C.K.Andersson, A.Bergqvist, M.Mori et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* - 2011. – Vol.127. – P. 905–912.
122. **Aoki, H.** Proton-sensing ovarian cancer G protein-coupled receptor 1 on dendritic cells is required for airway responses in a murine asthma model [text] / H.Aoki, C.Mogi, T. Hisada et al. // *PLoS One.* – 2013. – Vol.8.- №11. – P.79985.
123. **Asquith, K.L.** Interleukin-13 promotes susceptibility to chlamydial infection of the respiratory and genital tracts [text] / K.L.Asquith, J.C.Horvat, G.E. Kaiko et al. // *PLoS Pathog.* - 2011. – Vol. 7.-№5. – P.1001339.
124. **Aujla, S.J.** TH17 cells in asthma and inflammation [text] /S.J.Aujla , J.A. Alcorn // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2011. - Vol. 1810.-№11. – P.1066– 1079.
125. **Balzar, S.** Mast cell phenotype, location, and activation in severe asthma: data from the severe asthma research program [text] /S.Balzar, M.L.Fajt, S.A. Comhair et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol.183. – P.299–309.
126. **Bannelykke, K. A.** Genome-wide association study identifies CDHR3 as a susceptibility locus for early childhood asthma with severe exacerbations [text] /K.Bannelykke, P.Sleiman, K. Nielsen et al. // *Nat. Genet.* – 2014. – Vol.46.-№1. – P.51-55.
127. **Barnes, P.J.** Intrinsic asthma: not so different from allergic asthma but driven by superantigens [text] /P.J. Barnes // *Clinical and Experimental Allergy.* – 2009. - Vol. 39 .-№8. – P.1145–1151.
128. **Barnes, P.J.** The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease [text] / P.J. Barnes // *Journal of Clinical Investigation.* – 2008. - Vol. 118.-№11. – P.3546–3556.
129. **Beissert, S.** Regulatory T cells [text] /S.Beissert, A.Schwarz, T.Schwarz // *J. Invest. Dermatol.* . – 2006. – Vol.126. – P.15–24.

130. **Bergeron, C.** Remodeling in asthma [text] /C.Bergeron, W.Al-Ramli, Q.Hamid // Proceedings of the American Thoracic Society. – 2009. - Vol. 6 . - №3. – P.301–305.
131. **Bergstrom, K.G.** Evidence for supplement use in atopic dermatitis [text] /K.G. Bergstrom // J. Drugs Dermatol. – 2012. – Vol. 11.-№10. – P.1245-1247.
132. **Berry, M.A.** Evidence of a role of tumor necrosis factor- α in refractory asthma [text] /M.A.Berry, M.Hargadon, M. Shelley et al. // The New England Journal of Medicine. – 2006. - Vol. 354.-№7. –P. 697–708.
133. **Bisgaard, H.** Childhood asthma after bacterial colonization of the airway in neonates [text] /H.Bisgaard, M.N.Hermansen, F. Buchvald et al. // N Engl. J. Med. – 2007. – Vol.357.-№15. – P.1487–1495.
134. **Bodini, A.** Exhaled breath condensate eicosanoids and sputum eosinophils in asthmatic children: a pilot study [text] /A.Bodini, D.Peroni, L. Vicentini et al. // Pediatr. Allergy Immunol. - 2004. -Vol.15. - P.26-31.
135. **Boulet, L.P.** Influence of comorbid conditions on asthma[text] /L.P. Boulet // European Respiratory Journal. – 2009. - Vol. 33.-№4. – P. 897–906.
136. **Breton, C.V.** DNA methylation intharginase–nitric oxide synthase pathway is associated with exhaled nitric oxidein children with asthma [text] / C.V.Breton, H.-M Byun,, X.Wang, et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2011. – Vol.184. – P.191.
137. **Brightling, C.** Targeting TNF- α : a novel therapeutic approach for asthma [text] /C.Brightling, M.Berry, Y.Amrani // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2008. - Vol. 121.-№1. – P.5–10.
138. **Brimkulov, N.** Investigation of pulmonary surfactant evacuatory function [text] / Brimkulov N., Belov G.// Tubercle and Lung Disease. 1995. Vol.76. - October. - P.25
139. **Brochner, A.C.** Pathophysiology of the systemic inflammatory response after major accidental trauma [text] /A.C.Brochner, P. Toft // Scand. J. Trauma, Resuscitation and Emergency Med. - 2009. - Vol.17. - P.43- 53.

140. **Burmeister, Getz E.** Human pharmacokinetics/pharmacodynamics of an interleukin-4 and interleukin-13 dual antagonist in asthma [text] /E.Burmeister Getz, D.Fisher, R.Fuller // Journal of Clinical Pharmacology. – 2009. -Vol. 49 .-№ 9. – P.1025–1036.
141. **Busse, W.** Safety profile, pharmacokinetics, and biologic activity of MEDI-563, an anti- IL-5 receptor antibody, in a phase I study of subjects with mild asthma [text] /W.Busse, R.Katial, D.Gossage et al. // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2010. - Vol. 125.-№6. – P.1237–1244.
142. **Cardozo, D.M.** Prevalence and risk factors for nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* among adolescents [text] /D.M.Cardozo, C.M.Nascimento-Carvalho, A.L. Andrade et al. // J. Med. Microbiol. - 2008. – Vol.57.-№ 2. – P.185–189.
143. **Carlsten, C.** Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphisms and lung cancer: a literature based systematic HuGE review and meta-analysis [text] /C.Carlsten, G.S.Sagoo, A.J. Frodsham et al. // Am. J. Epidemiol. - 2008. – Vol. 167. – P.759–774.
144. **Caruso, M.** Disabling inflammatory pathways with biologics and resulting clinical outcomes in severe asthma [text] / M.Caruso, E.Crisafulli, S.Demma et al. // Expert Opinion on Biological Therapy. – 2013. - Vol. 13.-№3. – P.393–402.
145. **Champaiboon, C.** Calprotectin S100A9 calcium-binding loops I and II are essential for keratinocyte resistance to bacterial invasion [text] / C.Champaiboon, K.J.Sappington, B.D. Guenther et al. // J. Biol. Chem. – 2009. – Vol. 284. – P.7078–7090.
146. **Chen, M.R.** Particle size distributions of oil mists in workplace atmospheres and their exposure concentrations to workers in a fastener manufacturing industry [text] / M.R.Chen, P.J., Tsai C.C. Chang et al.// J. Hazard Mater. – 2007. – Vol. 146 .- P.393–398.
147. **Cheng, W.Y.** Linking oxidative events to inflammatory and adaptive gene expression induced by exposure to an organic particulate matter com-

- ponent [text] /W.Y.Cheng, J.Currier, P.A. Bromberg et al. // Environ Health Perspect. - 2012. – Vol. 120. – P.267–274.
148. **Chini, L.** Novel treatments of asthma and allergic diseases [text] / L.Chini, E.Monteferrario, S.Graziani, V Moschese // *Pediatr. Respir. Rev.* – 2013. - Nov 5.
149. **Chung, K.F.** Defining phenotypes in asthma: a step towards personalized medicine [text] /K.F. Chung // *Drugs.* – 2014. – Vol.74 .-№7. – P.719-728.
150. **Cloots, R.H.** Ablation of Arg1 in hematopoietic cells improves respiratory function of lung parenchyma, but not that of larger air ways or inflammation in asthmatic mice [text] /R.H.Cloots, S.Sankaranarayanan, C.C. De-Theije et al.// *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2013. - Vol.5. - P364–376.
151. **Contoli, M.** Role of deficient type III interferon- γ production in asthma exacerbations [text] /M.Contoli, S.Message, V.Laza-Stanca et al.// *Nature Medicine.* – 2006. - Vol. 12 .-№9. – P.1023–1026.
152. **Cosmi, L.** Th17 cells: new players in asthma pathogenesis[text] /L. Cosmi, F.Liotta, E.Maggi et al. // *Allergy.* – 2011. - Vol. 66.-№8. – P. 989–998.
153. **Crystal, R.G.** Airway epithelial cells: current concepts and challenges [text] / R.G.Crystal, S.H.Randell, J.F Engelhardt. et al. // *Proc. Am. Thorac. Soc.* - 2008. – Vol. 5. – P.772–777.
154. **D’Agostino, B.** Activation of protease-activated receptor-2 reduces airways inflammation in experimental allergic asthma [text] /B.D’Agostino, F.Roviezzo, R.De Palma et al. // *Clinical and Experimental Allergy.* – 2007. - Vol. 37 .-№10. – P.1436–1443.
155. **Davis, C.C.** Use of porcine vaginal tissue ex-vivo to model environmental effects on vaginal mucosa to toxic shock syndrome toxin-1 [text] / C.C Davis, M. Baccam, M.J. Mantz, T.W. Osborn, D.R. Hill, C.A.Squier // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2014 Jan 15.- Vol. 274.-№2.-P.240-8.

156. **Delestrain, C.** Lung diseases in children associated with inherited disorders of surfactant metabolism [text] / C.Delestrain, F.Flamein, L.Jonard R. Couderc, L. Guillot, P. Fanen, R.Epaud // *Rev. Pneumol. Clin.* 2013 Aug. Vol. 69.-№4.-P.183-9.
157. **Desai, D.** Cytokine and anti cytokine therapy in asthma: ready for the clinic? [text] / D.Desai, C.Brightling // *Clinical and Experimental Immunology.* - 2009. – Vol.158. – P. 10-19.
158. **Di, Y.P.** Dual Acute Pro- Inflammatory and Anti-Fibrotic Pulmonary Effects of SPLUNC1 After Exposure to Carbon Nanotubes[text] /Y.P Di., A.V Tkach., N.Yanamala et al. // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* - 2013. - Vol.59. – P.242-248.
159. **Diego, D.** Network analysis identifies a putative role for the PPA Randtype1 interferon pathways in glucocorticoid actions in asthmatics [text] /D.Diego, S.Goto, J.V. Fahy et al. // *BMC Med.Genomics.* – 2012. – Vol. 5. – P.27.
160. **Dillon, M.A.** Enhancement of systemic and sputum granulocyte response to inhaled endotoxin in people with the GSTM1 null genotype[text] /M.A.Dillon, B.Harris, M.L. Hernandez et al.// *Occup. Environ. Med.* - 2011. – Vol. 68. – P.783–785.
161. **Doherty, T.A.** *Alternaria* induces STAT6-dependent acute airway eosinophilia and epithelial FIZZ1 expression that promotes airway fibrosis and epithelial thickness [text] /T.A Doherty., N.Khorram, K.Sugimoto. et al.// *J. Immunol.* – 2012. – Vol.188. – P. 2622–2629.
162. **Dougherty, R.H.** Accumulation of intraepithelial mast cells with a unique protease phenotype in Th-2 high asthma [text] /R.H.Dougherty, S.S.Sidhu, K.Raman et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 5. – P.1046–1053.
163. **Dougherty, R.H.** Acute exacerbations of asthma: epidemiology, biology and the exacerbation-prone phenotype [text] /Dougherty R.H., J.Fahy // *Bi-*

- oMed Research International 9 Clinical and Experimental Allergy. – 2009. - Vol. 39 .-№ 2. – P.193–202.
164. **Dudda, J.C.** Foxp3+ regulatory T cells maintain immune homeostasis in the skin [text] /J.C.Dudda, N.Perdue, E.Bachtanian // J. Exp. Med. – 2008. – Vol. 205. – P.1559–1565.
165. **Durrant, D.M.** Emerging roles of T helper subsets in the pathogenesis of asthma [text] /D.M.Durrant, D.W. Metzger // Immunological Investigations. -2010. - Vol. 39.-№4-5. – P.526–549.
166. **Edwards, M.R.** IL-1beta induces IL-8 in bronchial cells via NF-kappaB and NF-IL6 transcription factors and can be suppressed by glucocorticoids [text] /M.R.Edwards, N.Mukaida, M.Johnson, S.L. Johnston // Pulm. Pharmacol. Ther. - 2005. – Vol. 18. – P.337–345.
167. **Emmanouil, P.** Sputum and BAL Clara cell secretory protein and surfactant protein D levels in asthma [text]/ P. Emmanouil, S. Loukides, K. Kostikas, G. Papatheodorou, A. Papaporfyriou, G. Hillas, I. Vamvakaris, R. Triggidou, P. Katafigiotis, A. Kokkini, S. Papiris, N. Koulouris, P.Bakakos // Allergy. 2015 Jun.- Vol. 70.-№6.-P.711-4.
168. **Erpenbeck, V. J.** Therapeutic use of surfactant components in allergic asthma [text] /V. J.Erpenbeck, N.Krug, J. M.Hohlfeld // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2009. Mar. -Vol. 379.- №3.- P. 217-24
169. **Fanta, C.H.** Asthma [text] /C.H. Fanta // The New England Journal of Medicine. – 2008. – Vol. 360. – P. 1002–1014.
170. **Fietta, A.** Analysis of bronchoalveolar lavage fluid proteome from systemic sclerosis patients with or without functional, clinical and radiological signs of lung fibrosis [text] /A.Fietta, A.Bardoni, R. Salvini et al.// Arthritis Res. Ther. 2006. – Vol. 8. – P. 160.
171. **Fitzpatrick, A.M.** Alveolar macrophage phagocytosis is impaired in children with poorly controlled asthma [text] /A.M.Fitzpatrick, F.Holguin,

- W.G.Teague, L.A.Brown // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol.121.- № 6. – P.1372–1378.
172. **Fitzpatrick, A.M.** Glutathione oxidation is associated with airway macrophage functional impairment in children with severe asthma [text] /A.M.Fitzpatrick, W.G.Teague, L.Burwell et al. // *Pediatr. Res.* - 2011. – Vol.69.-№ 2. – P.154–159.
173. **Foell, D.** S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules[text] /D.Foell, H.Wittkowski, T.Vogl, J.Roth // *J. Leukoc. Biol.* - 2007. - Vol. 81. – P.28–37.
174. **Fokkens, W.J.** European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps[text] / W.J.Fokkens, V.J.Lund, J.Mullol et al. // *Rhinol. Suppl.* – 2012. – Vol.3.- P.298.
175. **Fornander, L.** Airway irritation among indoor swimming pool personnel: trichloramine exposure, exhaled NO and protein profiling of nasal lavage fluids [text] /L.Fornander,B. Ghafouri, M.Lindahl, P.Graff // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* - 2013. – Vol. 86. – P.571–580.
176. **Fornander, L.** Airway symptoms and biological markers in nasal lavage fluid in subjects exposed to metalworking fluids [text] / L.Fornander, P.Graff, K. Wahlen et al. // *PLoS One.* - 2013. – Vol. 8.-№12. – P.83089.
177. **Fournier, B.** Recognition of *Staphylococcus aureus* by the innate immune system [text] /B.Fournier, D.J. Philpott // *Clin. Microbiol. Rev.* - 2005. – Vol.18 .-№ 3. – P.521–540.
178. **Fu, J.J.** Systemic inflammation is associated with differential gene expression and airway neutrophilia in asthma [text] /J.J.Fu, K.J.Baines, L.G.Wood, P.G. Gibson // *OMICS.* – 2013. – Vol.17. – P.187–199.
179. **Fujita, J.** Interleukin-33 induces interleukin-17F in bronchial epithelial cells [text] /J.Fujita, M.Kawaguchi, F Kokubu. et al. // *Allergy.* – 2012. - Vol. 67.-№ 6. – P. 744–750.

180. **Fulkerson, P.C.** Targeting eosinophils in allergy, inflammation and beyond [text] /P.C.Fulkerson, M.E. Rothenberg // Nature Reviews Drug Discovery. – 2013. - Vol. 12. – P.117–129.
181. **Gakhar, L.** PLUNC is a novel airway surfactant protein with anti-biofilm activity [text] /L.Gakhar, J.A.Bartlett, J.Penterman et al.// PLoS One. – 2010. – Vol. 5.- P. 90-98.
182. **Garland, A.L.** Molecular basis for pH-dependent mucosal dehydration in cystic fibrosis airways [text] /A.L., Garland W.G.Walton, R.D. Coakley et al. // Proc. Natl Acad Sci USA. - 2013. – Vol. 110. – P. 15973–15978.
183. **Gascon, M.** Persistent organic pollutants and children's respiratory health: The role of cytokines and inflammatory biomarkers [text] /M.Gascon, J.Sunyer, D.Martinez et al. // Environ. Int. – 2014. – Vol.69 . – P.133-140.
184. **Gaunsbaek, M.Q.** Surfactant proteins A, B, C and D in the human nasal airway: associated with mucosal glands and ciliated epithelium but absent in fluid-phase secretions and mucus [text] / M.Q.Gaunsbaek, A.D. Kjeldsen, V. Svane-Knudsen, M.L. Henriksen, S.Hansen // ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2014. Vol. 76.-№5.-P.288-301.
185. **Gauvreau, G.M.** Effects of interleukin-13 blockade on allergen-induced airway responses in mild atopic asthma [text] /G.M.Gauvreau, L.P.Boulet, D.W.Cockcroft et al. // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2011. -Vol. 183.-№ 8. – P.1007–1014.
186. **Ghosh, S.** Nitric oxide metabolism in asthma pathophysiology [text] /S.GhoshS.C., Erzurum // Biochim. Biophys. Acta. – 2011. - Vol.11. – P.1008–1016.
187. **Gowdy, K.** Modulation of pulmonary inflammatory responses and anti-microbial defenses I mice exposed to diesel exhaust [text] / K.Gowdy, Q.T Krantz., M.Daniels et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 2008. - Vol. 229. - P.310–319.

188. **Goyette, J.** Inflammation-associated S100 proteins: new mechanisms that regulate function [text] /J.Goyette, C.L. Geczy // *Amino Acids*. – 2010. – Vol. 75. – P. 127-130.
189. **Graff, P.** Occupational rhinitis caused by tolyltriazole in metalworking fluids[text] /P.Graff, L.Elmsjo, J.Bjorkander, U. Flodin // *Scand J. Work Environ. Health*. – 2008 .- Vol. 34. – P.403–404.
190. **Guillot, L.** Alveolar epithelial cells: master regulators of lung homeostasis [text] / L. Guillot N. Nathan, O. Tabary, G. Thouvenin, P. Le Rouzic, H. Corvol, S. Amselem, A. Clement // *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2013 Nov.- Vol. 45.-№11.-P.2568-73.
191. **Guzik, T.J.** Adipocytokines novel link between inflammation [text] /T.J Guzik., D.Mangalat, R.Korbut // *J. Physiol. Pharmacol*. – 2006. –Vol. 4. – P.505–528.
192. **Hackett, T.L.** Induction of epithelial-mesenchymal transition in primary airway epithelial cells from patients with asthma by transforming growth factor- β 1 [text] /T.L.Hackett, S.M.Warner, D.Stefanowicz et al. // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2009. - Vol. 180.-№ 2. – P.122–133.
193. **Halayko, A.J.** S100A8/A9: a mediator of severe asthma pathogenesis and morbidity [text] /A.J.Halayko, S.Ghavami // *Can. J. Physiol. Pharmacol*. – 2009. – Vol. 87.- P.743–755.
194. **Hambly, N.** Monoclonal antibodies for the treatment of refractory asthma [text] /N.Hambly, P.Nair // *Curr. Opin. Pulm. Med*. - 2014. – Vol.20.-№ 1. – P.87-94.
195. **Hammad, H.** Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma [text] /H.Hammad, B.N. Lambrecht // *Nat. Rev. Immunol*. – 2008. – Vol. 8.-№ 3. – P.193–204.

196. **Hammad, H.** House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells [text] /H.Hammad, M. Chieppa., F.Perros et al.// Nature Medicine. – 2009. - Vol. 15. – P.410–416.
197. **Hansbro, P.M.** Th2 cytokine antagonists: potential treatments for severe asthma [text] /P.M.Hansbro, G.V.Scott, A.T. Essilfie et al. // Expert Opinion on Investigational Drugs. – 2013. - Vol. 22 .-№ 1. –P.49–69.
198. **Hansel, N.N.** Analysis of CD4+ T-cell gene expression in allergic subjects using two different microarray platforms [text] /N.N.Hansel, N.Cheadle, C.Diette et al. // Allergy. – 2008. –Vol. 3. – P.366–369.
199. **Hatwalne, M.S.** Free radical scavengers in anaesthesiology and critical care [text] /M.S. Hatwalne // Indian J. Anaesth. – 2012. –Vol.56 .-№ 3. – P.227-233.
200. **Hawkshaw, C.** LAPCs contribute to the pathogenesis of allergen-induced allergic airway inflammation in mice [text] /Hawkshaw C., Scott J.A., Chow C.W., Fish E.N// Allergy. – 2014. - May 17.
201. **He, X.** Effect of interleukin-33 on Th1/Th2 cytokine ratio in peripheral lymphocytes in asthmatic mice[text] /X He., W.Wu, Y. Lu et al. // Chin. Med. J. (Engl). – 2014. - Vol.127.-№ 8. – P.1517-1522.
202. **Hewson, C.A.** Rhinovirus induces MUC5AC in a human infection model and in vitro via NF-kappaB and EGFR pathways [text] /C.A.Hewson, J.J.Haas, N.W. Bartlett et al. // Eur. Respir. J. - 2010. – Vol. 36.- № 6. – P.1425–1435.
203. **Hillaire, M.L.** Pulmonary surfactant protein D in first-line innate defence against influenza A virus infections [text] / M.L.Hillaire H.P. Haagsman, A.D. Osterhaus, G.F. Rimmelzwaan, van Eijk M.// J. Innate Immun. 2013 Vol. 5.- №3.-P.97-208.
204. **Holgate, S.T.** A new look at the pathogenesis of asthma [text] / S.T.Holgate, H.S.Arshad, G.C. Roberts et al. // Clinical Science. – 2010. - Vol. 118, № 7. – P. 439–450.

205. **Holgate, S.T.** Efficacy and safety of etanercept in moderate-to-severe asthma: a randomised, controlled trial [text] /S.T.Holgate, M.Noonan, P.Chanez et al.// *European Respiratory Journal*. – 2011. - Vol. 37.-№ 6. – P.1352–1359.
206. **Holgate, S.T.** Pathophysiology of asthma: what has our current understanding taught us about new therapeutic approaches [text] /S.T.Holgate // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2011. - Vol. 128 .-№ 3. - P. 495–505.
207. **Holt, P.G.** Interaction between adaptive and innate immune pathways in the pathogenesis of atopic asthma: operation of a lung/bone marrow axis [text] /P.G.Holt, D.Sly // *Chest*. – 2011. - Vol. 139 .-№ 5. – P.1165–1171.
208. **Honjo, A.** Targeted reduction of CCR4 cells is sufficient to suppress allergic airway inflammation [text] /A.Honjo, H.Ogawa, M.Azuma Et al.// *Respir. Investig.* - 2013. – Vol.51 .-№ 4. – P.241-249.
209. **Huang, F.Y.** Ag43/Fc3 chimeric protein expressed by a novel bacterial surface expression system as an effective asthma vaccine [text] /F.Y.Huang, C.C.Wang, Y.H. Huang et al. // *Immunology*. - 2014. - Apr 21.
210. **Islam, T.** Glutathione-S-transferase (GST) P1, GSTM1, exercise, ozone and asthma incidence in school children [text] /T.Islam, K.Berhane, R.McConnell et al. // *Thorax*. - 2009. – Vol. 64. – P.197–202.
211. **Islam, T.** Role of inducible nitric oxide synthase in asthma risk and lung function growth during adolescence [text] /T.Islam, C.Breton, M.T. Salam et al. // *Thorax*. – 2010. – Vol.65. – P.139–145.
212. **Jaakkola, M.S.** Respiratory symptoms and conditions related to occupational exposures in machine shops [text] /M.S., Jaakkola K.Suuronen, R.Luukkonen et al.// *Scand. J. Work Environ. Health*. – 2009. – Vol. 35. – P.64–73.
213. **Jacobsen, E.** The expanding role(s) of eosinophils in health and disease [text] /E.Jacobsen,R. Helmers, J.Lee, N.Lee // *Blood*. – 2012. -Vol. 120 .-№ 19. – P.3882–3890.

214. **Jalali, S.** The effect of carvacrol on serum cytokines and endothelin levels of ovalbumin sensitized Guinea-pigs [text] /S.Jalali, M.H.Boskabady, A., Haeri Rohani A.Eidi // Iran. J. Basic. Med. Sci. – 2013. – Vol.16 .-№ 4. – P.615-619.
215. **Ji, N.F.** Ligustrazine corrects Th1/Th2 and Treg/Th17 imbalance in a mouse asthma model [text] /N.F.Ji, Y.C.Xie, M.S. Zhang et al. // Int. Immunopharmacol. - 2014. – Vol.21.-№ 1. – P.76-81.
216. **Jiang, D.** Human neutrophil elastase degrades SPLUNC1 and impairs airway epithelial defense against bacteria [text] /D.Jiang, S.E., Wenzel Q. Wu et al. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – P.64689.
217. **Johnson, J.R.** IL-22 contributes to TGF- β 1-mediated epithelial-mesenchymal transition in asthmatic bronchial epithelial cells [text] /Johnson J.R., Nishioka M., Chakir J. et al. // Respir. Res. - 2013. –Vol.14. – P.118.
218. **Kaiko, G.E.** New insights into the generation of Th2 immunity and potential therapeutic targets for the treatment of asthma [text] /G.E.Kaiko, P.R.Foster // Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology. – 2011. - Vol. 11. - P. 39–45.
219. **Kaiko, G.E.** NK Cell Deficiency Predisposes to Viral-Induced Th2-Type Allergic Inflammation via Epithelial-Derived IL-25 [text] /G.E.Kaiko., S.Phipps, P.Angkasekwina et al. // J. Immunol. - 2010. - Vol. 185. - P. 4681-4690.
220. **Kaminsky, D.A.** Systems biology approach for subtyping asthma; where do we stand now? [text] /D.A.Kaminsky// Curr. Opin. Pulm. Med. – 2014. – Vol.20 (1). – P.17-22.
221. **Kanazawa, H.** Validity of measurement of two specific biomarkers for the assessment of small airway inflammation in asthma [text] / H.Kanazawa, S. Kyoh, K. Asai, K. Hirata // J. Asthma. - 2010. - Vol. 47. – P. 400–406.
222. **Kanoh, S.** IL-13-induced MUC5AC production and goblet cell differentiation is steroid resistant in human air way cells [text] / S.Kanoh, T. Tanabe, B.K.Rubin // Clin. Exp.Allergy. – 2011. – Vol.41.- P.1747–1756.

223. **Karaaslan, C.** The role of SCCA1 in asthma related physiological events in the airway epithelium and the effect of promoter variants on asthma and gene function [text] / C.Karaaslan, E. Birben, O. Keskin et al. // *Respir. Med.* – 2012. – Vol.107. – P.368–379.
224. **Katoh, S.** Preventive effect of galectin-9 on double-stranded RNA-induced airway hyperresponsiveness in an exacerbation model of mite antigen-induced asthma in mice [text] /S.Katoh, H. Shimizu, Y. Obase et al. // *Exp. Lung Res.* – 2013. – Vol.39 (10). – P.453-462.
225. **Kearley, J. K.** Resolution of allergic inflammation and airway hyperactivity is dependent upon disruption of the T1/ST2-IL-33 pathway [text] / J.K. Kearley, S. Mathie, C. Lloyd // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* – 2009. - Vol. 179 (9). – P. 772–781.
226. **Khandaker, G.M.** A population-based study of atopic disorders and inflammatory markers in childhood before psychotic experiences in adolescence [text] /G.M.Khandaker, S. Zammit, G. Lewis, P.B. Jones // *Schizophr. Res.* – 2014. – Vol.152 (1). – P.139-145.
227. **Kitamura, K.** Critical role of the Fc receptor γ -chain on APCs in the development of allergeninduced airway hyperresponsiveness and inflammation [text] / K.Kitamura, K. Takeda, T. Koya et al. // *Journal of Immunology.* – 2007. - Vol. 178. – P.480–488.
228. **Klingbeil, E.C.** Polycyclic aromatic hydrocarbons, tobacco smoke, and epigenetic remodeling in asthma [text] / E.C. Klingbeli , K.M. Hew, U.C. Nygaard, K.C. Nadeau // *Immunol. Res.* - 2014. – Vol.58 (2-3). – P.369-373.
229. **Koike, M.** Establishment of humanized anti-interleukin-5 receptor alpha chain monoclonal antibodies having a potent neutralizing activity [text] / M.Koike, K. Nakamura, A. Furuya et al. // *Hum. Antibodies.* – 2009. – Vol.18. – P.17–27.

230. **Krinner, E.** A human monoclonal IgG1 potently neutralizing the pro-inflammatory cytokine GM-CSF [text] / E.Krinner, T.Raum, S. Petsch et al. // *Molecular Immunology*. – 2007. – Vol. 44 (5). – P.916–925.
231. **Kuman, M.** Let-7-microRNA-mediated regulation of IL-13 and allergic airway inflammation [text] / M.Kuman, T. Ahmad, A. Sharma et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 5. – P.1077–1085.
232. **Lajoie, S.** IL-21 Receptor Signaling Partially Mediates Th2-Mediated Allergic Airway Responses [text] /S.Lajole, I. Lewkowich, N.S. Herman et al. // *Clin. Exp. Allergy*. – 2014. – May 8. [Epub ahead of print]
233. **Larchu, M.** Regulatory T Cells in Allergy and Asthma [text] /M.Larchu// *Chest*. – 2007. – Vol.132. – P. 1007-1014.
234. **Le Moual, N.** Environment and asthma in adults [text] / N. Le Moual , B.Jacquemin R.Varraso et al./ *Presse Med*. 2013. Vol. 42- № 9. – P.317-33.
235. **Ledford, JG.** Eosinophil-associated lung diseases. A cry for surfactant proteins A and D help [text] / J.G. Ledford, K.J. Addison, M.W. Foster, L.G. Que // *Am. J Respir. Cell Mol. Biol*. 2014 Nov. Vol. 51.-№5.-P.604-14.
236. **Lee, T.H.** Elevation of S100 calcium binding protein A9 in sputum of neutrophilic inflammation in severe uncontrolled asthma [text] / T.H. Lee, A.S. Jang, J.S. Park et al. // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2013. – Vol.111. – P.268–275.
237. **Leung, J.M.** Biomarkers in airway diseases [text] / J.M. Leung , D.D. Sin // *Can. Respir. J*. 2013 May-Jun. Vol. 20.-№3.-P.180-2.
238. **Li, J.** IL-27/IFN- γ induce MyD88-dependent steroid-resistant airway hyperresponsiveness by inhibiting glucocorticoid signaling in macrophages [text] / J.Li, W. Wang , K. Baines et al. // *Journal of Immunology*. – 2010. – Vol. 185 (7). – P.4401–4409.
239. **Li, J.J.** Activation of olfactory receptors on mouse pulmonary macrophages promotes monocyte chemoattractant protein-1 production [text] / H.L. Tay, M. Plank et al. // *PLoS One*. – 2013. – Vol.21; 8(11). – P.80148.

240. **Li, S.** Aliyeva M., Daphtary N. et al. Antigen-induced mast cell expansion and bronchoconstriction in a mouse model of asthma [text] /S.Li, M.Aliyeva, N.Daphtary et.al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2014. – Vol.306 (2). – P.196-206.
241. **Li, Y.** Adenovirus expressing IFN- γ 1 (IL-29) attenuates allergic airway inflammation and airway hyperreactivity in experimental asthma [text] /Y.Li, Q. Gao, X. Yuan et al. // *Int. Immunopharmacol.* – 2014. - May 9; 21(1). – P.156-162.
242. **Li, Y.** Mechanisms of pathogenesis in allergic asthma: Role of interleukin-23 [text] / Y.Li, S. Hua // *Respirology.* – 2014. - Vol. 19 (5). – P.663-669.
243. **Li, Y.** Airway inflammatory responses to oxidative stress induced by prolonged low-dose diesel exhaust particle exposure from birth differ between mouse BALB/c and C57BL/6 strains [text] / Y.Li, J. Kawada T., Takizawa H. et al. // *Exp. Lung Res.* - 2008. – Vol.34. – P.125–139.
244. **Lillienberg, L.** Exposure to metalworking fluid aerosols and determinants of exposure [text] / L.Lillienberg, A. Burdorf, L. Mathiasson et al. // *Ann. Occup. Hyg.* – 2008. – Vol. 52.- P.597–605.
245. **Liu, F.** Peripheral natural killer cell counting and its clinical significance blood in patients with bronchial asthma [text] / F.Liu, Y.L. Luo, Y.X. Wu, Q.Y. Kong // *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* - 2008. - Vol. 28 (5). - P. 780-782.
246. **Lloyd, C.M.** Dust mites' dirty dealings in the lung [text] /C.M.Lloyd // *Nature Medicine.* – 2009. - Vol.15 (4). – P.366–367.
247. **Lloyd C.M.** Functions of T cells in asthma: more than just TH2 cells [text] /C.M.Lloyd, E.M.Hessel // *Nature Reviews Immunology.* – 2010. - Vol. 10 (12). – P.838–848.
248. **Lofgren, S.** New therapies in pediatric dermatology [text] /S.Lofgren, A. Krol // *Curr. Opin. Pediatr.* - 2011. – Vol.23 (4). – P.399-402.

249. **López, E** Gene expression profiling in lungs of chronic asthmatic mice treated with galectin-3: downregulation of inflammatory and regulatory genes [text] / E. Lopez, M.P. Zafra, B. Sastre et al. // *Mediat. Inflamm.* – 2011. – Vol.823. –P.279.
250. **Louten, J.** Biomarkers of disease and treatment in murine and cynomolgus models of chronic asthma [text] /J.louten, J.D. Mattson, M.C. Malinao et al. // *Biomark.Insights.* – 2012. – Vol. 7. – P. 87.
251. **Lovinsky-Desir, S.** Epigenetics, asthma, and allergic diseases: a review of the latest advancements [text] / S. Lovinsky-Desir, R.L. Miller // *Curr. Allergy Asthma Rep.* -2012. – Vol.12. – P.211–220.
252. **Lu, T.X.** MicroRNA-21isup-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35expression [text] / T.X.Lu, A. Munitz, M.E. Rothenberg // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 8. – P.4994–5002.
253. **Lukinskiene, L.** Antimicrobial activity of PLUNC protects against *Pseudomonas aeruginosa* infection [text] / L.Lukinskiene, Y. Liu, S.D. Reynolds et al. // *J. Immunol.* – 2011. – Vol. 187. – P.382–390.
254. **Ma,C.H.** Tang ameliorates asthma though modulation of Th1/Th2 cytokines and inhibition of Th17 cells in ovalbumin-sensitized mice [text] / C.H.Ma, Z.Q. Ma, Q. Fu et al. // *Chin. J. Nat. Med.* – 2014. – Vol.12 (5). – P.361-366.
255. **Ma, Z.** Protective effect of pulmonary surfactant on cilia of Eustachian tube in otitis media with effusion [text] //Z.Ma C.Dai S.Yang et al. // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2007 Dec.- Vol. 711.-№2.-P.1889-95.
256. **Magrone,T.** Characterization of the Immune Inflammatory Profile in Obese Asthmatic Children / T.Magrone, M. Simone, M. Altamura, I. Munno // *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug. Targets.* - 2014. - Vol.14 (3). – P.187-195.
257. **Mahmutovic-Persson, I.** Inhaled d-RNA and rhinovirus evoke neutrophilic exacerbation and lung expression of thymic stromal lymphopoietin in

- allergic mice with established experimental asthma [text] / I.Mahmutovich – Persson, H. Akbarshahi, N. Bartlett et al. // *Allergy*. – 2014. – Vol.69 (3). – P.348-358.
258. **Malik, NA.** Solubilization and Interaction Studies of Bile Salts with Surfactants and Drugs: a Review [text] / NA. Malik // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2016 Jan -19. Vol.
259. **Marchand, G.** Evaluation of bacterial contamination and control methods in soluble metalworking fluids [text] / G.Marchand, J. Lavoie, L. Racine et al. // *J. Occup. Environ. Hyg.* – 2010. - Vol. 7. – P.358–366.
260. **Martinez-Nunez, R.T.** The interleukin 13 (IL-13) pathway in human macrophages is modulated by microRNA-155 via direct targeting of interleukin 13 receptor $\alpha 1$ (IL13R $\alpha 1$) [text] /R.T.Martinez-Nunez, F. Louafi, T. Sanchez-Elsner // *J. Biol.Chem.* – 2011. – Vol. 3. – P. 1786–1794.
261. **Maslan, J.** What is asthma? Pathophysiology, demographics, and health care costs [text] / J.Maslan, J.W. Mims // *Otolaryngol. Clin. North Am.* – 2014. – Vol.47 (1). – P.13-22.
262. **Mathias, L.J.** Alveolar macrophages are critical for the inhibition of allergic asthma by mesenchymal stromal cells [text] / L.J.Mathias, S.M. Khong, L. Spyroglou et al. // *J. Immunol.* – 2013. – Vol.191 (12). – P.5914-5924.
263. **Matsumoto,K.** Frequency of Foxp3+CD4+CD25+ T cells is associated with the phenotypes of allergic asthma [text] /K.Matsumoto, H.Inoue, S.Fukuyama et al. // *Respirology*. – 2009. - Vol. 14 (2). – P.187–194.
264. **McLean, W.H.** Filaggrin variants confer susceptibility to asthma [text] /W.N.McLean, C.N. Palmer, J. Henderson et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* - 2008. – Vol.121. – P.1294–1296.
265. **Meng, L.** Expression and significance of pulmonary surfactant protein D and IL-16 in allergic rhinitis and nasal polyps [text] / L.Meng, M.Geng, B.

Yan, X. Lu. // Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2013 Mar. -Vol. 27.-№5.-P.233-6. Chinese.

266. **Meyer, N.** Differential serum protein markers and the clinical severity of asthma [text] / N.Meyer, S.J. Nuss, T. Rothe et al. // J. Asthma Allergy. – 2014. – Vol.25. – P.67-75.
267. **Michail, S.K.** Efficacy of probiotics in the treatment of pediatric atopic dermatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials [text] /S.K.Michail, A. Stolfi, T. Johnson, G.M. Onady // Ann. Allergy Asthma Immunol. - 2008. - Vol.101. – P.508–516.
268. **Michel, O.** Expression of calgranulin A/ B heterodimer after acute inhalation of endotoxin: proteomic approach and validation [text] / O.Michel, V. Doyen, Leroy et al. // BMC Pulm. Med. – 2013. – Vol.13. – P.65.
269. **Miller, R.L.** Ho S.-M. Environmental epigenetics and asthma: current concepts and call for studies [text] //R.L.Miller. Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2008. – Vol.177. - P. 567.
270. **Molfino, N.** Molecular and clinical rationale for therapeutic targeting of interleukin-5 and its receptor [text] / N.Molfino, D. Gossage, R. Kolbeck et al. // Clinical and Experimental Allergy. – 2012. - Vol. 42 (5). - P. 712–737.
271. **Motomura, Y.** Basophil-Derived Interleukin-4 Controls the Function of Natural Helper Cells, a Member of ILC2s, in Lung Inflammation [text] /Y.Motomura, H. Morita, K. Moro et al. // Immunity. – 2014. – Vol.40 (5). – P.758-771.
272. **Murdoch, J.R.** Chronic inflammation and asthma [text] / J.R.Murdoch, C.M. Lloyd // Mutation Research. – 2010. - Vol. 690 (1-2). – P.24–39.
273. **North, M.L.** Functionally important role for arginase 1 in the airway hyperresponsiveness of asthma [text] / M.L. North, N. Khanna, P.A. Marsden et al. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 2009. –Vol.296. – P.911–920.

274. **Noutsios, G.T.** Childhood asthma: causes, risks, and protective factors; a role of innate immunity [text] / G.T.Noutsios, J.Floros // *Swiss Med Wkly*. 2014 Dec 24.- Vol. 144.-P.14036.
275. **O’Riordan, S.** Risk factors and outcomes among children admitted to hospital with pandemic H1N1 influenza [text] / S.O’Riordan, M. Barton, Y. Yau et al. // *CMAJ*. – 2010. – Vol.182 (1). – P.39–44.
276. **Oh, C.K** Biology of the interleukin-9 pathway and its therapeutic potential for the treatment of asthma [text] / C.K.Oh, D. Raible, G. Geba, N. Molfino // *Inflammation and Allergy*. – 2011. - Vol. 10 (3). – P.180–186.
277. **Oh, C.K.** Investigational therapeutics targeting the IL-4/IL-13/STAT-6 pathway for the treatment of asthma [text] / C.K.Oh, G. Geba, N. Molfino // *European Respiratory Review*. – 2010. - Vol.19 (115). – P.46– 54.
278. **Oyoshi, M.K.** Filaggrin-deficient mice exhibit TH17- dominated skin inflammation and permissiveness to epicutaneous sensitization with protein antigen [text] / M.K. Oyoshi, G.F. Murphy, R.S. Geha // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2009. – Vol.124. - P.485–493.
279. **Park, S.G.** Genome-wide profiling of antigen-induced time course expression using murine models for acute and chronic asthma [text] / S.G.Park, J.W. Choi, H.J. Kim et al. // *Int. Arch.Allergy Immunol.* – 2008. –Vol.146. – P.44–56.
280. **Park, S.J.** Interleukin-17 regulation: an attractive therapeutic approach for asthma [text] / S.G.Park , Y.C. Lee // *Respir. Res.* – 2010. – Vol.11. – P.78-88.
281. **Parker, J.** Safety profile and clinical activity of multiple subcutaneous doses of MEDI-528, a humanized anti-interleukin-9 monoclonal antibody, in two randomized phase 2a studies in subjects with asthma [text] / J.Parker, C. Oh, C. La Force et al. // *BMC Pulmonary Medicine*. – 2011. -Vol. 11, article 14.

282. **Parra, E.** Composition, structure and mechanical properties define performance of pulmonary surfactant membranes and films [text] / E.Parra, J.Pérez-Gil // *Chem Phys Lipids*. 2015 Jan.-Vol.-185.-P.153-75.
283. **Pascual, M.** (CCTTT) n polymorphism of NOS2A in nasal polyposis and asthma: a case-control study [text] / M.Pascual, C. Sanz, M. Isidoro-Garcia et al. // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* – 2008. –Vol. 18. – P.239.
284. **Pasenkiewicz-Gierula, M.** Computer modelling studies of the bilayer/water interface [text] / M.Pasenkiewicz-Gierula, K.Baczynski, M.Markiewicz, K.Murzyn // *Biochim Biophys Acta*. 2016 Jan 26. Vol. - Epub 2016 Jan 26.
285. **Pavord, I.D.** Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial [text] / I.D.Pavord, S. Korn, P. Howarth et al.// *Lancet.* – 2012. - Vol. 380 (9842). – P.651–659.
286. **Pechkovsky, D.V.** Human lung parenchyma but not proximal bronchi produces fibroblasts with enhanced TGF-beta signaling and alpha-SMA expression [text] / D.V.Pechkovsky, T.L. Hackett, S.S. An et al. // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* - 2010. – Vol. 43. – P. 641–651.
287. **Pelaia, G.** Molecular mechanisms underlying airway smooth muscle contraction and proliferation: implications for asthma [text] / G.Pelaya, T. Renda, L. Gallelli et al. // *Respiratory Medicine.* -2008. - Vol. 102 (8). – P.1173–1181.
288. **Pelaia, G.** Omalizumab decreases exacerbation frequency, oral intake of corticosteroids and peripheral blood eosinophils in atopic patients with uncontrolled asthma [text] /G.Pelaya, L. Gallelli, P. Romeo et al. // *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics.* – 2011. - Vol. 49 (12). – P.713–721.

289. **Pelaia, G.** The potential of biologics for the treatment of asthma [text] / G.Pelaya, A. Vatrella, R. Maselli // *Nature Reviews Drug Discovery*. -2012. - Vol. 11 (12). – P.958–972.
290. **Piper, E.** A phase II placebo controlled study of tralokinumab in moderate-to-severe asthma [text] / E/Piper, C. Brightling, R. Niven et al. // *European Respiratory Journal*. – 2013. - Vol. 41. – P.330–338.
291. **Ple, C.** Natural killer cells accumulate in lung-draining lymph nodes and regulate airway eosinophilia in a murine model of asthma [text] /C.Ple, M. Barrier, L. Amniai et al.// *Scand. J. Immunol.* – 2010. - Vol. 72 (2). - P. 118-127.
292. **Provoost, S.** Decreased FOXP3 protein expression in patients with asthma [text] / S.Provoost, T. Maes, Y. VanDurme et al. // *Allergy*. – 2009. - Vol. 64 (10). – P.1539–1546.
293. **Qaseem, AS.** Linking surfactant protein SP-D and IL-13: implications in asthma and allergy [text] / AS. Qaseem, S. Sonar, L. Mahajan // *U.Mol. Immunol.* 2013 May. -Vol. 54. -№1.-P98-107.
294. **Rahman, I.** Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD [text] /I.Rahman, I. Adcock // *Eur. Respir. J.* - 2006. - Vol.28. - P.219-242.
295. **Ren, J.** Protective effects of exogenous surfactant protein A in allergic rhinitis: a mouse model [text] / J.Ren, Y. Deng, B. Xiao, G. Wang, Z.Tao // *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 2013 Apr. -Vol. 122.-№4.-P.240-6.
296. **Ris C.** U.S. EPA health assessment for diesel engine exhaust: a review [text] //C.Ris. *Inhal. Toxicol.* - 2007. – Vol. 19 (Suppl.1). – P.229–239.
297. **Rosenman, K.D.** Asthma, hypersensitivity pneumonitis and other respiratory diseases caused by metalworking fluids [text] // K.D.Rosenman. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 9. – P.97–102.

298. **Runswick, S.** Pollen proteolytic enzymes degrade tight junctions / T. Mitchell, P. Davies et al. [text] // S.Runswick. *Respirology*. – 2007. – Vol. 12 (6). – P.834–842.
299. **Sagar, S.** Bifidobacterium breve and Lactobacillus rhamnosus treatment is as effective as budesonide at reducing inflammation in a murine model for chronic asthma [text] / S.Sagar, M.E. Morgan, S. Chen et al.// *Respir. Res.* – 2014. - Vol.15 (1). – P.46-50.
300. **Sanchez-Vidaurre, S.** Sputum inflammatory profile before and after specific inhalation challenge in individuals with suspected occupational asthma [text] / S. Sanchez-Vidaurre, M.J. Cruz, S. Gomez-Ollis et al.// *PLoS One*. – 2013. – Vol.8 (11). – P.78304.
301. **Sanchez-Zauco, N.** High expression of Toll-like receptors 2 and 9 and Th1/Th2 cytokines profile in obese asthmatic children [text] / N.Sanchez-Zauco, B. Del Rio-Navarro, C. Gallardo-Casas et al.// *Allergy Asthma Proc.* – 2014. – Vol.35 (3). – P.34-41.
302. **Sathish, V.** Inflammation, caveolae and CD38-mediated calcium regulation in human airway smooth muscle / V.Sathish, M.A. Thompson, S. Sinha et al. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2014. – Vol.1843 (2). – P.346-351.
303. **Schleich, F.N.** Exhaled nitric oxide thresholds associated with a sputum eosinophil count $\geq 3\%$ in a cohort of unselected patients with asthma [text] /F.N.Schleich, L. Seidel, J. Sele et al. // *Thorax*. - 2010. - Vol. 65. – P. 1039–1044.
304. **Schleimer, R.P.** Epithelium: at the interface of innate and adaptive immune responses [text] / R.P.Schleimer, A. Kato, R. Kern et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol.120 (6). – P.1279–1284.
305. **Schofield, M.L.** Asthma pharmacotherapy [text] // M.L.Schofield, *Otolaryngol. Clin. North Am.* – 2014. – Vol.47 (1). – P.55-64.
306. **Semic-Jusufagic, A.** Assessing the association of early life antibiotic prescription with asthma exacerbations, impaired antiviral immunity, and genetic variants in 17q21: a population-based birth cohort study [text] /

- A.Semic-Jusufagic, D.M Belgrave, A. Pickles et al. // *Lancet Respir. Med.* – 2014. - May 14. Epub ahead of print.
307. **Sethi, J.M.** Bronchoprovocation testing in asthma: effect on exhaled monoxides [text] /J.M.Sethi, A.M. White, S.A. Patel et al. // *J. Breath Res.* - 2010. – Vol. 4. – P.47104.
308. **Shi, L.** Local blockade of TSLP receptor alleviated allergic disease by regulating airway dendritic cells [text] /L.Shi, S. Leu, F. Xu et al. // *Clinical Immunology.* – 2008. - Vol. 129 (2). – P.202–210.
309. **Shinyashiki, M. A.** Electrophilic and redox properties of diesel exhaust particles [text] / M.A.Shinyashiki, Eiguren-Fernandez, D.A. Schmitz et al. // *Environ. Res.* - 2009. – Vol. 109. – P.239–244.
310. **Shurin, M.R.** Graphene Oxide Attenuates Th2-Type Immune Responses, but Augments Airway Remodeling and Hyperresponsiveness in a Murine Model of Asthma [text] / M.R.Schurin, N. Yanamala, E.R. Kisin et al. // *ACS Nano.* - 2014. - May 23. [Epub ahead of print]
311. **Siddiqui, S.** Broncho-alveolar macrophages express chemokines associated with leukocyte migration in a mouse model of asthma [text] /S.Siddiqui, R.S. Eric, K.S. Lawrence // *Cell. Immunol.* – 2013. – Vol.2. – P.159–169.
312. **Sircar, G.** Allergic asthma biomarkers using systems approaches / B.Saha, S. Bhattacharya [text] / G.Sircar, B. Otulana, G. Hawkins et al. // *Front. Genet.* – 2014. – Vol.4. – P.308.
313. **Slager, R.** IL-4 receptor polymorphisms predict reduction in asthma exacerbations during response to an anti-IL-4 receptor antagonist [text] //R.Slager. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* – 2012. - Vol. 130. – P. 516–522.
314. **Spann, K.M.** Viral and host factors determine innate immune responses in airway epithelial cells from children with wheeze and atopy [text] / K.M.Spann, E. Baturcam, J. Schagen et al. // *Thorax.* – 2014. - Vol. 69 (10). – P.918-925.

315. **Staab, E.B.** Treatment with the C5a receptor/CD88 antagonist PMX205 reduces inflammation in a murine model of allergic asthma [text] / E.B.Staab, S.D. Sanderson, S.M. Wells, J.A. Poole // *Int. Immunopharmacol.* – 2014. – May 21. [Epub ahead of print]
316. **Stein, M.L.** Anti IL-5 (mepolizumab) therapy reduces eosinophil activations ex vivo and increases IL-5 and IL-5 receptor levels [text] / M.L.Stein, J.M. Villanueva, B.K. Buckmeier et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 121 (6). – P.1473–1483.
317. **Stremnitzer, C.** Epicutaneously applied Der p 2 induces a strong TH 2-biased antibody response in C57BL/6 mice, independent of functional TLR4 [text] /C.Stremnitzer, K. Manzano-Szalai, P. Starkl et al. // *Allergy.* – 2014. – Vol.69 (6). – P.741-751.
318. **Strimbu, K.** What are biomarkers? [text] /K.Strimbu, J.A. Tavel // *Curr. Opin. HIVAIDS.* – 2010. – Vol. 6. – P.463–466.
319. **Subbarao, P.** Asthma: epidemiology, etiology and risk factors [text] /P.Subbarao, P.J. Mandhane, M.R. Sears // *Can. Med. Assoc. J.* – 2009. – Vol.181.- P.181–190.
320. **Subhashini.** Ovalbumin-induced allergic inflammation lead to structural alterations in mouse model and protective effects of intranasal curcumin: A comparative study [text] /Subhashini, P. S Chauhan, R Singh.// *Allergol. Immunopathol. (Madr).* 2016. May-Jun. -Vol. 44.-№3.-P.246-56.
321. **Suuronen, K.** Respiratory exposure to components of water-miscible metalworking fluids /K.Suuronen, M.L. Henriks-Eckerman, R. Riala, T. Tuomi // *Ann. Occup. Hyg.* – 2008. – Vol. 52. – P.607–614.
322. **Swart, D.** Effects of IL-4R blockade on lung inflammation and airway hyperresponsiveness using Mu317RAXMu, a murine surrogate for AMG 317, in a treatment model of cockroach allergen-induced 10 / D.Swart, P.M. Anders-Bartholo, J.E. Tocker // *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* – 2008. - Vol. 121 (2). – P.267.

323. **Takizawa, H.** Diesel exhaust particles and their effect on induced cytokine expression in human bronchial epithelial cells [text] // H.Takizawa. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* - 2004. - Vol. 4. - P.355–359.
324. **Tamachi, T.** IL-25 enhances allergic airway inflammation by amplifying a TH2 cell-dependent pathway in mice [text] / T.Tamachi, Y. Maezawa, K. Ikeda et al. // *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* - 2006. - Vol. 118 (3). - P.606–614.
325. **Tang, W.** IL-25 and IL-25 receptor expression on eosinophils from subjects with allergic asthma [text] / W.Tang, S.G. Smith, S. Beaudin et al. // *Int. Arch. Allergy Immunol.* - 2014. - Vol.163 (1). - P.5-10.
326. **Theoharides, T.** Allergic inflammation and adipocytokines [text] / T.Theoharides, C. M. Makris, D. Kalogeromitros [text] // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* - 2008. - Vol.1. - P. 1–4.
327. **Tilg, H.** Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity [text] / H.Tilg, Moschen A.R. // *Nat. Rev. Immunol.* - 2006. - Vol.6. - P. 772–783.
328. **Torrone, D.Z** Reproducibility and intraindividual variation overdays in buccal cell DNA methylation of two asthma genes, interferong (IFNg) and inducible nitricoxide synthase (iNOS) [text] / D.Z.Torrone, J.S.Kuriakose, K. Moors et al. // *Clin. Epigenet.* - 2012. - Vol.4. - P.323.
329. **Trafny, E.A.** Microorganisms in metalworking fluids: Current issues in research and management [text] //E.A.Trafny. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* - 2013. - Vol. 26. - P.4–15.
330. **Tumes, D.J.** Expression of survivinin lung eosinophils is associated with pathology in a mouse model of allergic asthma [text] / D.J.Tumes, A. Connolly, L.A. Dent // *Int.Immunol.* - 2009. -Vol.6. - P.633–644.
331. **Turato, G.** Nonatopic children with multitrigger wheezing have airway pathology comparable to atopic asthma [text] / G.Turato, A.Barbato, S. Baraldo et al. // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* - 2008. - Vol. 178 (5). - P.476–482.

332. **Turk, V.** Cystatins: biochemical and structural properties, and medical relevance [text] / V.Turk, V. Stoka, D. Turk // *Front Biosci.* - 2008. – Vol. 13. – P.5406–5420.
333. **Vawda, S.** Associations between inflammatory and immune response genes and adverse respiratory outcomes following exposure to outdoor air pollution: a HuGE systematic review [text] /S.Vawda, R.Mansour, A.Takeda et al. // *Am. J. Epidemiol.* – 2014. – Vol.179 (4). – P.432-442.
334. **Verbanck, S.** Inflammation and airway function in the lung periphery of patients with stable asthma [text] / S.Verbanck, D. Schuermans, W. Vincken // *J. Allergy Clin. Immunol.* - 2010. – Vol. 125. – P. 611–616.
335. **Vogl, T** Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock [text] /T.Vogl, K.Tenbrock, S. Ludwig et al. // *Nat. Med.* - 2007. – Vol. 13. - P.1042–1049.
336. **Wagner, P.D.** The biology of oxygen [text] //P.D. Wagner. *Eur. Respir. J.* - 2008. - Vol.31. - P.887-890.
337. **Wakashin, H.** IL-23 and Th17 cells enhance Th2-cell-mediated eosinophilic airway inflammation in mice [text] / H.Wakashin, K. Hirose, Y. Maezawa et al. // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* – 2008. - Vol. 178 (10). – P.1023–1032.
338. **Wang, JY.** The immunoregulatory roles of lung surfactant collectins SP-A, and SP-D, in allergen-induced airway inflammation [text] / JY Wang, KB.Reid // *Immunobiology.* 2007. Vol.212 №4-5.P.417-25.
339. **Wang JY.** The immunoregulatory roles of lung surfactant collectins SP-A, and SP-D, in allergen-induced airway inflammation [text] / J.Y.Wang, K.B.Reid // *Immunobiology.* 2007. Vol.212 №4-5.P.417-25.
340. **Wei, H.** Involvement of human natural killer cells in asthma pathogenesis: natural killer 2 cells in type 2 cytokine predominance [text] / H.Wei, J. Zhang, W. Xiao et al. // *J. Allergy. Clin. Immunol.* - 2005. - Vol. 115 (4).- P. 841-847.

341. **Wenzel, S.E** Dupilumab in persistent asthma with elevated eosinophil levels [text] / S.E.Wenzel, L. Ford, D. Pearlman et al. // The New England Journal of Medicine. - 2013. – Vol.115. – P.2256-2259.
342. **Wenzel, S.E.** A randomized, double-blind, placebo-controlled study of tumor necrosis factor- α blockade in severe persistent asthma/ P. Barnes, E. Bleecker et al. [text] // S.E.Wenzel. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2009. - Vol. 179 (7). – P. 549–558.
343. **Whitsett, JA.** Diseases of pulmonary surfactant homeostasis [text] / JA Whitsett, SE Wert, TE. Weaver // Annu. Rev. Pathol. 2015 Jan 24.-Vol.-10.-P.371-93.
344. **Williams, H.** International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase One and Three Study Groups. Is eczema really on the increase worldwide? [text] / H.Williams, A. Stewart, E. Von Mutius et al.// J. Allergy Clin. Immunol. - 2008. – Vol.121. – P.947–954.
345. **Williamson, P.A.** Assessment of small-airways disease using alveolar nitric oxide and impulse oscillometry in asthmaand COPD [text] / P.A.Wiliamson, K.Clearie, D. Menzies et al. // Lung. - 2011. – Vol.189. – P. 121–129.
346. **Winkler, C.** Impact of a Met(11)Thr single nucleotide polymorphism of surfactant protein D on allergic airway inflammation in a murine asthma model [text] / C. Winkler, O. Bahlmann, J. Viereck et al// // Lung Res. 2014 Vol . 40.-№4. –P. 154-63.
347. **Winkler, C.** Surfactant and allergic airway inflammation [text]/ C. Winkler, J.M. Hohlfeld. //Swiss Med Wkly. 2013 Jul 29.- Vol. 143.-P.13818.
348. **Woodruff P.G.** Genome-wide profil in g identifies epithelial cell genes associated with asthma and with treatment response to corticosteroids [text] / H.A. Boushey, G.M. Dolganov et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2007. – Vol.40. – P.15858–15863.

349. **Woodruff, P.G.** T-helper type 2- driven inflammation defines major subphenotypes of asthma [text] / P.G.Woodruff, B.Modrek, D. Choy et al. // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2009. - Vol. 180 (5). – P.388–395.
350. **Woodworth, B.A.** Immunolocalization of surfactant protein A and D in sinonasal mucosa [text] /B.A.Woodworth, D.Lathers, J.G. Neal et al. // Am. J. Rhinol. 2006 Jul-Aug. Vol. 20.-№4.-P.461-5.
351. **Woodworth B.A.** Sinonasal surfactant protein A1, A2, and D gene expression in cystic fibrosis: a preliminary report [text]/ B.A.Woodworth, R.Wood, J.E. Baatz, R.J. Schlosser // Otolaryngol Head Neck Surg. 2007 Jul. Vol. 137.-№1.-P.34-8.
352. **Wright, J.R.** Pulmonary surfactant: a front line of lung host defense [text] /JR.Wright // J Clin Invest. 2003 May. Vol.111.-№10.-P.1453-5.
353. **Wu, W.** Glutathione-S-transferase M1 regulation of diesel exhaust particle-induced pro-inflammatory mediator expression in normal human bronchial epithelial cells [text] / W.Wu, D. Peden, R. McConnell et al. // Particle and Fibre Toxicology. - 2012. – Vol. 9. – P.31-41.
354. **Wu, W.** Role of GSTM1 in resistance to lung inflammation /W.Wu, D.B. Peden, D. Diaz-Sanchez [text] // Free Radic. Biol. Med. - 2012. – Vol. 53. –P.721–729.
355. **Xiao, C.** Defective epithelial barrier function in asthma [text] / C.Xiao, S.M. Puddicombe, S. Field et al. // J. Allergy Clin. Immunol. – 2011. – Vol. 128(3). – P.549–556.
356. **Yamada, K.H.** Targeted gene inactivation of calpain-1 suppresses cortical degeneration due to traumatic braininjury and neuronal apoptosis induced by oxidative stress [text] / K.H.Yamada, D. Kozlowski, S. Seidl et al. // J. Biol. Chem. – 2012. – Vol.287 (16). – P.13182-13193.
357. **Yan, G.H.** Phellinus linteus Extract Exerts Anti-asthmatic Effects by Suppressing NF-kB and p38 MAPK Activity in an OVA-induced Mouse

- Model of Asthma [text] / G.H. Yan, Y.H. Choi. // Immune Netw. – 2014. – Vol.14 (2). – P.107-115.
- 358. Zhang, G.** Interleukin-10/interleukin-5 responses at birth predict risk for respiratory infections in children with atopic family history [text] /G.Zhang, J. Rowe, M. Kusel et al.// Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2009. - Vol. 179 (3). - P.205–211.
- 359. Zhang, Q.G.** Critical role of NADPH oxidase in neuronal oxidative damage and microglia activation following traumatic brain injury [text] / Q.G.Zhang, M. Laird, D. Han et al. // PLoS One. – 2012. – Vol.7 (4). – P.34504.
- 360. Zhao, Y.** Rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor agonist, attenuates airway inflammation by inhibiting the proliferation of effector T cells in a murine model of neutrophilic asthma [text] / Y.Zhao, Y. Huang, J. He et al. // Immunol. Lett. – 2014. – Vol.157 (1-2). – P.9-15.
- 361. Zhao, Y.** Th17 immunity in patients with allergic asthma [text] // Y.Zhao. International Archives of Allergy and Immunology. – 2010. - Vol. 151 (4). – P. 297–307.
- 362. Zhu, J.** Heterogeneity and plasticity of T helper cells [text] / J.Zhu, W.E. Paul J. Yang, Y. Gao, W. Guo // Cell Res. – 2010. – Vol.20. – P.4–12.
- 363. Zietkowski, Z.** Anti-IgE therapy with omalizumab decreases endothelin-1 in exhaled breath condensate of patients with severe persistent allergic asthma [text] / Z.Zietkowski, R. Skiepmo, M. Tomasiak-Lozowska et al. // Respiration. - 2010. – Vol. 80. – P.534–542.
- 364. Zietkowski, Z.** Eotaxin-1 in exhaled breath condensate of stable and unstable asthma patients [text] / Z.Zietkowski, M.M. Tomasiak-Lozowska, R. Skiepmo et al. // Respir. Res. - 2010. – Vol. 11. – P.110.
- 365. Zietkowski, Z.** Rantes in exhaled breath condensate of patients with severe persistent allergic asthma during omalizumab therapy [text] / Z.Zietkowski, R. Skiepmo, M.M. Tomasiak-Lozowska et al. // Int. Arch. Allergy Immunol. - 2011. – Vol. 154.- P.25–32.

- 366. Zoratti, E.** Differentiating asthma phenotypes in young adults through polyclonal cytokine profiles [text] / E.Zoratti, S. Havstad, G. Wegienka et al. // *Ann Allergy Asthma Immunol.* – 2014. - May 3. [Epub ahead of print]
- 367. Zuo, L.** Molecular mechanisms of reactive oxygen species-related pulmonary inflammation and asthma [text] /L.Zuo, N.P. Otenbaker, B.A. Rose, K.S. Salisbury // *Mol. Immunol.* – 2013. –Vol.1. – P.57–63