Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр
Сибирского отделения Российской академии наук»
«Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»

На правах рукописи

Лазарева Анна Михайловна

Сравнительная характеристика микробиологических, иммунологических и метаболических показателей различных клинико-патогенетических вариантов респираторной аллергии

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология, медицинские науки

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор Смирнова С.В.

Красноярск-2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 4
ВВЕДЕНИЕ 6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 15
1.1 Этиопатогенез аллергического риносинусита и бронхиальной астмы. 15
1.2 Микробиоценоз слизистой оболочки носа при атопическом риносинуситеи атопической бронхиальной астме, полипозном риносинусите и астматической триаде 21
1.2 Иммунологические механизмы в патогенезе атопического и псевдоатопического воспаления респираторного тракта 24
1.4. Особенности внутриклеточного метаболизма лимфоцитов крови при атопическом и псевдоатопическомвоспалении респираторного тракта 35
ГЛАВА 2.МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 46
2.1. Объекты и материалы исследования 46
2.2. Методы исследования 48
2.2.1. Клинико-анамнестические методы исследования 48
2.2.2.Методы специфической аллергологической диагностики 49
2.2.3. Микробиологические методы исследования 51
2.2.4. Иммунологические методы исследования 53
2.2.5.Биолюминесцентный метод 56
2.2.6. Статистические методы исследования 59
2.2.7. Перечень и объем выполненных исследований 60
ГЛАВА 3. МИКРОБИОЦЕНОЗ СЛИЗИСТОЙ НОСА ПРИ РАЗЛИЧНОМ ГЕНЕЗЕ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА 62
ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ПОРАЖЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПРИ АТОПИИ И ПСЕВДОАТОПИИ 68
4.1 Особенности клеточного и гуморального звеньев иммунитета при атопическом и полипозном риносинусите, атопической бронхиальной астме и астматической триаде 68
4.2. Концентрация IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN-γ и TNFα в периферической крови и назальных смывах при атопическом и полипозном риносинусите, атопической бронхиальной астме и астматической триаде 72
ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ НАД(Ф)Н-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ПОРАЖЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПРИ АТОПИИ И ПСЕВДОАТОПИИ 77
ГЛАВА 6. КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ И НЕЙРОСЕТЕВОЙ АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ, МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ПОРАЖЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПРИ АТОПИИ И ПСЕВДОАТОПИИ 86
6.1 Корреляционный анализ иммунологических, метаболических и микробиологических показателей при атопическом риносинусите и атопической бронхиальной астме, полипозном риносинусите и астматической триаде 86

6.2 Оценка информативности иммунологических, метаболических и микробиологических показателей с помощью нейросетевого классификатора..... 98
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ..... 117
ВЫВОДЫ..... 119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 122

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБА –атопическая бронхиальная астма

АГ – антиген

АПК –антиген-презентирующие клетки

АР – аллергическая риносинусопатия

АТ –астматическая триада

БА – бронхиальная астма

ПРС – полипозный риносинусит

НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты

АТ–астматическая триада

ARIA –Allergicrhinitisanditsimpactonasthma

CD –claster of differentiation

$CD16^+$ –натуральные киллеры

$CD19^+$ – В-лимфоциты

$CD3^+$- Т-лимфоциты

$CD4^+$ – Т-хелперы

$CD8^+$– Т - цитотоксические/супрессоры

$CD4^+$ /CD8+ –иммунорегуляторный индекс

EAACI - Европейская академия аллергологии и клинической иммунологии

GINA – Global Initiative for Asthma

IFN- γ - интерферонγ

Ig E, A, M, G - иммуноглобулины E, A, M, G

LT –лейкотриены

Th – Т-хелперы

TNFα –фактор некроза опухоли - α

NK– натуральные, естественные киллеры

Г6ФДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

Г3ФДГ–глюкозо-3-фосфатдегидрогеназа

НАД-ЛДГ –НАД-зависимая лактатдегидрогеназа

НАД-МДГ –НАД-зависимая малатдегидрогеназа

НАД-ГДГ – НАД-зависимая глутаматдегидрогеназа

НАД-ИЦДГ –НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа

НАДФ-ГДГ – НАДФ-зависимаяглутаматдегидрогеназа

НАДФ-ИЦДГ –НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа

НАДФ-МДГ –НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа(малик фермент)

НАДФН-ЛДГ - НАДФН-зависимая лактатдегидолгеназа

НАДН-МДГ– НАДН-зависимая малатдегидрогеназа

НАДН-ГДГ– НАДН-зависимая глутаматдегидрогеназа

НАДФН-ГДГ–НАДФН-зависимая глутаматдегидрогеназа

ГР – глутатионредуктаза

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Слизистая оболочка носа является первым барьером для вдыхаемого воздуха, очищая его от различных поллютантов, аллергенов, бактерий и вирусов. Пребывание чужеродных веществ на слизистой носовой полости может вызывать множество реакций со стороны макроорганизма, направленных на их обезвреживание и дальнейшую элиминацию. В условиях современного общества, такие особенности, как загрязнение воздуха в больших городах и изменение качества пищи приводит к увеличению количества людей с аллергическими заболеваниями.

Обтурация носовой полости вследствие воспаления носа и его придаточных пазух, не только снижает качество жизни пациента, но может провоцировать патологические изменения в функционировании верхних и нижних дыхательных путей.

Риносинусит и бронхиальная астма – это основные клинические признаки респираторной аллергии. Частота встречаемости аллергического ринита у больных БА варьирует от 80% до 90%процентов [130]. Между аллергическим ринитом и бронхиальной астмой существует тесная связь, этому вопросу посвящен основанный на принципах доказательной медицины документ ВОЗ «Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA)», опубликованный в 2012 г.

Общность механизмов воспаления и общий генетический фон дают основание рассматривать бронхиальную астму и аллергический ринит как единую болезнь респираторного тракта (one way, one disease, allergicrhinobronchitis). Поэтому аллергический ринит можно расценивать как основу для развития бронхиальной астмы.

Особым патогенетическим вариантом бронхиальной астмы является аспириновая астма, характеризующаяся развитием бронхоспастического синдрома после приёма ненаркотических анальгетиков и нестероидных противовоспалительных препаратов. Удельный вес аспириновой астмы среди

других форм бронхиальной астмы составляет от 10 до 40% [124, 131].

Аспириновая астма входит в состав клинического неиммунологического (псевдоаллергического или псевдоатопического) симптомокомплекса – астматической триады (непереносимость ненаркотических анальгетиков и нестероидных противовоспалительных препаратов, бронхиальная астма и полипозный синусит). Бронхиальная астма у этой категории больных довольно часто развивается после оперативного лечения полипозного риносинусита– полипотомии. Таким образом, полипозный риносинусит можно рассматривать как начальные явления неиммунологической бронхиальной астмы или неразвернутой астматической триады. Литература, посвященная исследованиям патогенеза риносинуситов и бронхиальной астмы, имеет достаточно противоречивые результаты. [2,3,36,176].

Особенности иммунологических реакций проявляются в повреждении собственных тканей организма, а характер аллергического воспаления во многом определяется причиной, вызвавшей его. Запуск иммунного ответа инициируется цитокинами, которые определяют тип иммунной реакции [39, 88]. Цитокины регулируют межклеточные взаимодействия: регуляцию иммунных реакций, процессов пролиферации, миграции и дифференцировки клеток, координации функционирования иммунной системы. В основе развития аллергической реакции лежит комплекс иммунопатологических механизмов, приводящих к избыточной продукции антител или пролиферации Т-лимфоцитов. Многочисленные клинико-иммунологические исследования подтвердили, что системное аллергическое воспаление, в основном, обусловлено дисбалансом между Th1 и Th2–лимфоцитами, гиперпродукцией IL–4, активацией эозинофилов, тучных клеток и др. На данный момент внутриклеточная экспрессия IFN-γ и IL–4 является наиболее достоверными маркерами Th1– и Th2-клеток, соответственно.

Формирование этих двух типов клеток из «наивных» $CD4^+$–лимфоцитов (Th0) зависит от сочетания некоторых факторов: тип и доза антигена, природа антигенпредставляющих клеток, контактные взаимодействия, цитокины. Активация Th1-лимфоцитов, секретирующих IL-2 и IFN-γ, ведет к стимуляции,

главным образом, функций Т-лимфоцитов и макрофагов и развитию клеточного типа иммунного ответа, тогда как синтез Th2-клеток, в основном, через IL-4 и IL-6 стимулирует преимущественно гуморальное звено иммунной системы [1].

На сегодняшний день установлено, что функциональные свойства лимфоцитов, такие как дифференцировка, пролиферация, синтез рецепторов цитокинов, тесно связаны с активностью внутриклеточных ферментов [62]. Клетки иммунной системы имеют богатый набор рецепторов, что делает их высокочувствительными к разнообразным нарушениям системы гомеостаза организма. Индикаторами внутриклеточного метаболизма являются НАД(Ф)-зависимые дегидрогеназы в связи с тем, что, во-первых, основными переносчиками электронов в клетках являются пиридиновые нуклеотиды, а отсюда – активное участие оксидоредуктаз в биоэнергетических процессах; во-вторых, НАД(Ф)-зависимые дегидрогеназы, участвуя в направленной координации сопряженных метаболических потоков, в значительной степени обусловливают адаптивные изменения клеточного обмена веществ [7]. Следовательно, одним из перспективных направлений, позволяющих охарактеризовать нарушение иммунореактивности при аллергическом воспалении, является изучение внутриклеточного метаболизма клеток иммунной системы.

Нормальная микрофлора человека играет важную или даже пусковую роль в механизме формирования иммунного ответа и неспецифических защитных реакций организма человека. Существует связь аллергических заболеваний с персистированием отдельных представителей условно-патогенной микрофлоры (*Streptococcusspp., Staphylococcusspp., Nesseriaspp.*) [40]. Наличие дисбактериоза ведет к нарушению функционального состояния иммунной системы. Тип иммунного реагирования может зависеть от изменения микробного пейзажа – степени и особенностей дисбактериоза. Присутствие условно-патогенной флоры при риносинуситах может инициировать само заболевание и далее может являться причиной формирования хронического аллергического воспаления.

Проведение комплексного исследования, включающего изучение функционального состояния иммунной системы, активности окислительно-

восстановительных ферментов лимфоцитов и микробиоценоза слизистой оболочки носа в зависимости от уровня поражения респираторного тракта и генеза аллергического воспаления, позволит не только получить новые сведения о иммунопатогенезе аллергического риносинусита и бронхиальной астмы, но и разработать новые патогенетически обоснованные методы дифференциальной диагностики клинико-патогенетических вариантов респираторной атопии и псевдоатопии.

Цель исследования

На основании полученных данных о микробиоценозе слизистой оболочки носа, состоянии клеточного и гуморального звеньев иммунитета и внутриклеточного метаболизма лимфоцитов выделить дифференциально-диагностические показатели респираторной аллергии в зависимости от генеза воспаления и уровня поражения респираторного тракта.

Задачи исследования

1. Изучить количественный и качественный состав микрофлоры слизистой оболочки носа в зависимости от генеза аллергического воспаления и уровня поражения респираторного тракта.
2. Провести сравнительный анализ показателей гуморального и клеточного звеньев иммунитета в зависимости от генеза аллергического воспаления и уровня поражения респираторного тракта.
3. Изучить концентрацию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNFα, IFN-γ) в назальных смывах и сыворотке крови и выявить приоритетный характер иммунного реагирования в зависимости от генеза аллергического воспаления и уровня поражения респираторного тракта.
4. Оценить функциональную активность внутриклеточных ферментов лимфоцитов и установить особенности внутриклеточного метаболизма в

зависимости от генеза аллергического воспаления и уровня поражения респираторного тракта.

5. Провести корреляционный и нейросетевой анализ микробиологических, иммунологических, метаболических показателей атопии и псевдоатопии в зависимости от уровня поражения респираторного тракта.

Научная новизна исследования

Впервые установлено нарушение микробиоценоза слизистой оболочки носа в зависимости от уровня поражения и генеза воспаления респираторного тракта при атопии и псевдоатопии. При респираторной атопии и псевдоатопии отмечается дизбиоз слизистой оболочки носа. Установлено повышение количества семейства *Enterobacteriaceae* при атопическом риносинусите относительно полипозного риносинусита.

Впервые на основании изучения показателей гуморального и клеточного звеньев иммунитета, концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в периферической крови и назальных смывах установлен приоритетный характер иммунного реагирования в зависимости от генеза воспаления и уровня поражения респираторного тракта при атопии и псевдоатопии. Атопический риносинусит и атопическая бронхиальная астма, а также полипозный риносинусит и астматическая триада характеризуются разнонаправленными иммунопатологическими изменениями: при атопии (АР и АБА) наблюдалась девиация в сторону Th2-лимфоцитов, при псевдоатопии (ПРС и АТ) – Th1-клеток.

Впервые установлены изменения активности внутриклеточных ферментов в лимфоцитах крови в зависимости от генеза воспаления и уровня поражения респираторного тракта при атопии и псевдоатопии. При атопическом риносинусите и атопической бронхиальной астме определено усиление пластических процессов, а при полипозном риносинусите – активизация пластических и энергетических процессов (активность ниже при АТ). При патологии верхнего и нижнего отделов респираторного тракта, независимо от генеза аллергического воспаления установлена низкая концентрация ферментов НАДФ-ГДГ и НАДН-ЛДГ.

На основании полученных результатов впервые с помощью нейросетевого и корреляционного анализа доказано наличие имеющихся специфических дифференциально-диагностических маркеров респираторной атопии и псевдоатопии в зависимости от генеза воспаления и уровня поражения респираторного тракта. При респираторной атопии наибольшую значимость имеют: относительное количество клеток CD19+, CD4+ и C3d; активность ферментов НАДФ-МДГ, Г6ФДГ, НАД-ЛДГ. При респираторной псевдоатопии (ПРС и АТ) наиболее информативными являются: количество CD16+-клеток и концентрация IL–4 в сыворотке крови, а также активность ферментов НАДФ-ГДГ, НАД-ГДГ, НАДФ-ИЦДГ, НАД-ИЦДГ. Нейросетевой и корреляционный анализ подтвердил значимость иммунологических показателей и активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов крови в развитии и прогрессировании аллергического воспаления респираторного тракта.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы состоит в углублении знаний об иммунопатогенезе атопического риносинусита и атопической бронхиальной астмы, полипозного риносинусита и астматической триады на основании изучения микробиоценоза слизистой оболочки носа, иммунологических показателей, внутриклеточного метаболизма лимфоцитов крови. Результаты, полученные при комплексном исследовании, расширяют представления об иммунометаболических нарушениях при атопии и псевдоатопии в зависимости от генеза воспаления и уровня поражения респираторного тракта.

Практическая значимость работы состоит в установлении дифференциально-диагностических маркеров атопии и псевдоатопии, отражающих состояние назального микробиоценоза, приоритетную направленность иммунного реагирования и активность внутриклеточных ферментов лимфоцитов при различном генезе воспаления и уровне поражения респираторного тракта.

С целью прогнозирования формирования развернутой астматической триады после полипотомии у больных полипозном риносинуситом, рекомендуется

определение активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов: глутаматдегидрогеназы (НАДФ–ГДГ) и лактатдегидрогеназы (НАДН–ЛДГ). Получен патент №2679414 «Способ прогнозирования формирования развернутой астматической триады после полипотомии у больных полипозном риносинуситом», опубликован 08.02.2019 бюл. №4.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Микробный пейзаж слизистой оболочки носа в зависимости от генеза аллергического воспаления и уровня поражения респираторного тракта характеризуется дисбиотическими нарушениями видового состава бактериальной микрофлоры.
2. Иммунологическая реактивность в зависимости от генеза аллергического воспаления и уровня поражения респираторного тракта проявляется разнонаправленным дисбалансом иммунного ответа: при атопическом риносинусите и атопической бронхиальной астме – девиация в сторону гуморальных механизмов, при полипозном риносинусите и астматической триаде – клеточных механизмов.
3. Активность внутриклеточных ферментов в лимфоцитах крови в зависимости от генеза аллергического воспаления и уровня поражения респираторного тракта характеризуется нарушением равновесия энергетических и пластических процессов, происходящих на фоне дисбаланса иммунной системы: при атопическом риносинусите и атопической бронхиальной астме – активизация пластических процессов, а при полипозном риносинусите и астматической триаде – усиление пластических и энергетических процессов.

Апробация материалов диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XII, XIII, XIV, XV научно-практических конференциях молодых ученых «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (г. Красноярск, 2014, 2015, 2016,2017, 2018, 2019 гг.), на XXIV Национальном конгрессе по болезням органов

дыхания (г. Москва, 2014), на XV Всероссийском научном форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (г. Санкт-Петербург, 2015 г.), II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины в России и за рубежом» (г. Новосибирск, 2015 г.), 18-й межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» (г. Абакан, 2015 г.), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Дни иммунологии в Сибири» (г. Новосибирск, 2015 г.), European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress (Barcelona, 2015 г.; Munich, 2018), Конкурсе-конференции молодых ученых Красноярского научного центра СО РАН (г. Красноярск, 2016, 2017 гг.), конференции, посвященной 70-летию ФМБА России «Фундаментальные и прикладные аспекты биотехнологии и иммунофармакологии» (Санкт–Петербург, 2017); на Всероссийской конференции "Клиническая иммунология и аллергология – практическому здравоохранению" (Москва, 2018), 20th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence, (Nantes, France, 2018); ERS International Congress (Paris, France, 2018) ; ERS International Congress (Madrid, Spain, 2019).

В 2015г. награждена дипломом III степени за вклад в развитие медико-биологической науки Сибири и активное участие в конкурсе молодых ученых XIII Научно-практической конференции «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (г. Красноярск).

В 2018 г. награждена дипломом I степени за вклад в развитие медико-биологической науки Сибири и активное участие в конкурсе молодых ученых XIII Научно-практической конференции «Актуальные вопросы охраны здоровья населения регионов Сибири» (г. Красноярск).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую работу врачей оториноларингологов, иммунологов, терапевтов НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН, ООО «Декамед», а также используются в учебном процессе НИИ МПС при

подготовке ординаторов и аспирантов, в Сибирском клиническом центре ФМБА России, клинике «Доктор» и «Allergoclinic» .

Личный вклад автора

Состоит в планировании дизайна научной работы, формировании групп пациентов, сборе материала, проведении клинико-лабораторного обследования.

Анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, статистическая обработка полученных результатов, их анализ и написание диссертации выполнено лично автором.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 26 печатных работ, из них 8 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ для диссертаций на соискание ученой степени.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав, содержащих результаты собственных исследований и их обсуждения, заключения и выводов. Работа иллюстрирована 36 рисунками и 11 таблицами. Список литературы содержит 106 отечественных и 98 иностранных источников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Этиопатогенез аллергического риносинусита и бронхиальной астмы

Полость носа и околоносовых пазух является первой преградой на пути бактерий, вирусов, аллергенов и других различных поллютантов, находящихся в воздухе. В нормальном состоянии, чужеродные вещества, попавшие на слизистую оболочку, подвергаются неспецифическим факторам защиты иммунитета - системе фагоцитов. Большая нагрузка на слизистую оболочку является физиологической особенностью носа и околоносовых пазух.

Для нормального функционирования слизистая оболочка носа состоит из бокаловидных и реснитчатых клеток. Бокаловидные клетки вырабатывают слизь, а реснитчатые, посредством колебания ресничек, осуществляют движение этой слизи и очищение полости носа. Так происходит очищение вдыхаемого воздуха, его согревание, увлажнение и очищение от бактерий, аллергенов и различных поллютантов.

В современном обществе с каждым годом идет увеличение численности больных аллергическими заболеваниями [23,58]. Наиболее частыми проявлениями аллергии являются аллергический риносинусит и бронхиальная астма. В появлении АР и БА главное значение играют два фактора: наследственная предрасположенность и факторы окружающей среды. Тесное взаимодействие генетических и экологических факторов влияет на фенотипическое проявление атопического воспаления.

Изучение молекулярных механизмов аллергии привело к созданию Джеллом и Кумбсом в 1968 г. классификации, актуальной и сегодня. В соответствии с ней различают четыре основных типа аллергии: анафилактический (I тип), цитотоксический (II тип), иммунокомплексный (III тип) и опосредованный клетками (IV тип). Первые три типа относятся к ГНТ, четвертый — к ГЗТ. Ведущая роль в запуске ГНТ играют антитела (IgE, G и M), а ГЗТ — лимфоидно-макрофагальная реакция.

Для атопического риносинусита и атопический бронхиальной астмы характерна аллергическая реакция I типа. Аллергическая реакция I типа связана с биологическими эффектами IgE и IgG4, которые обладают цитофильностью — родством к тучным клеткам и базофилам. Эти клетки несут на поверхности рецептор, связывающий IgE и IgG4 и использующий их как ко-рецепторный фактор специфического взаимодействия с эпитопом аллергена. В этих реакциях так же принимают участие тучные клетки, эозинофилы, базофилы, тромбоциты.

С учетом большой распространенности патологии, аллергическим процессам дыхательным путей в литературе посвящено большое количество работ [2,60,163]. На фоне исследований выявлено, что аллергические поражения респираторного тракта достаточно гетерогенны в своем патогенезе.

В дыхательных путях выделяют верхний отдел, включающий полость носа и нижние отделы респираторного тракта - бронхолегочный отдел. Таким образом, риносинусит – это поражение начального отдела респираторного тракта (носа и околоносовых пазух), а вовлечение нижних отделов проявляется развитием бронхиальной астмы.

Аллергический ринит (АР) — гетерогенное заболевание, обусловленное IgE-опосредованными реакциями гиперчувствительности, которое характеризуется наличием одного и более симптомов: чихание, зуд, выделения из носа и заложенность носа [99]. Согласно этому определению, для истинного аллергического ринита характерно появление специфических IgE к виновному аллергену. Актуальность исследования аллергического ринита подтверждена тем фактом, что его распространенность по разным данным в Российской Федерации составляет от 20 до 40 млн человек [56]. Около 20% случаев АР обусловлено воздействием сезонных аллергенов, 40% – круглогодичных аллергенов и 40% – обоих типов аллергенов [77]. Таким образом, в структуре атопического ринита можно выделить сезонный и круглогодичный. Сезонный АР обусловлен контактами с двумя основными группами аллергенов: пыльцой растений и спорами плесневых грибов. У пациентов с круглогодичным АР основными причинно-значимыми аллергенами являются клещи домашней и библиотечной пыли,

антигены плесневых грибов, тараканов, перхоть и компоненты слюны домашних животных, перо одеял и подушек. Реже АР возникает под действием профессиональных и пищевых аллергенов.

Для аллергического риносинусита характерна ринорея с большим количеством водянистого отделяемого, пароксизмальные приступы чихания. Отек носовых раковин приводит к заложенности носа, снижению обоняния. Нарушается воздухообмен, уменьшается или полностью прекращается сообщение с придаточными пазухами носа, отекают устья слуховых труб. Все эти факторы ухудшают самочувствие больного: возникает головная боль, снижается слух, возможна боль в ушах. В большинстве случаев, к вышеописанным симптомам добавляется слезотечение и дискомфорт в глазах. Характерные темные круги под глазами, вызванные венозным застоем слизистой оболочки носа и ППН. На фоне раздражения слизистой оболочки большим количеством отделяемого, пациентов может беспокоить ощущение дискомфорта в носоглотке, кашель, утомляемость, тошнота и снижение аппетита. Таким образом, наличие аллергического ринита может значительно снизить качество жизни пациента, и, соответственно, продуктивность работы, учебы и привести к депрессивным расстройствам.

Еще в 2012 году ВОЗ приняла документ, рассматривающий аллергический ринит и бронхиальную астму как единую болезнь респираторного тракта (один путь, одна болезнь). Теория об единстве дыхательных путей говорит о том, что введение аллергена на слизистую носа провоцирует воспалительную реакцию в бронхах и наоборот, введение аллергена в бронхи, вызывает аллергическое воспаление в носу. При этом, есть данные о том, что БА одинаково часто сочетается с аллергическим и неаллергическим ринитом. Это доказывает тесную взаимосвязь верхних и нижних дыхательных путей независимо от характера ринита.

Бронхиальная астма (БА) – хроническое гетерогенное воспалительное заболевание дыхательных путей, характеризующееся гиперреактивностью бронхов, определяется историей респираторных симптомов, таких как приступы удушья, преимущественно в ночные и утренние часы, с затрудненным выдохом, часто

сопровождающиеся дистанционными хрипами (свистящее дыхание), одышкой и/или кашлем вследствие частично или полностью обратимой (спонтанно или вследствие лечения) обструкции, гиперсекреции и отека слизистой оболочки бронхов. БА считается одним из самых частых хронических заболеваний легких. По крайней мере 300 млн. пациентов во всем мире страдают БА [143]. В нашей стране по данным недавнего эпидемиологического исследования распространенность БА среди взрослых составляет 6,9% [131].

В структуре аллергических риносинуситов особое место занимает полипозный риносинусит (ПРС). Это хроническое заболевание слизистой оболочки носа и околоносовых пазух, основным клиническим проявлением которого является образование и рецидивирующий рост полипов. Распространенность клинически манифестированных форм среди различных групп населения составляет от 1 до 5%. Эпидемиологические исследования, проведенные в России, выявили ПРС у 1-1,3% обследованных. Таким образом, этим заболеванием в нашей стране может страдать до 1,5 млн. человек [52] . Несмотря на такое широкое распространение, патогенез полипоза на сегодня является до конца неизученным. В литературе встречаются данные как о Th1 [39,120], так и Тн2 иммунном ответе [30,37]. ПРС относят к неиммунологическим (псевдоаллергическим) риносинуситам, так как в его формировании отсутствует фаза сенсибилизации с виновным аллергеном. Однако, в литературе встречаются мнения о роли атопических механизмов и повышении уровня IgE у пациентов с ПРС [95].

Возможно, это связано с тем, что в группу исследования ПРС вовлекаются пациенты с атопией. Встречаются данные о том, что у 70% больных ПРС присутствует атопия, при этом, распространённость аллергии к пыльце растений у больных ПРС и в общей популяции одинакова и составляет примерно 10% [124,141]. Исследования показали, что у больных ПРС и сопутствующим поллинозом рост полипов не ускоряется во время сезона пыления растений [183]. Скорее всего, IgE-зависимая аллергия является не одним из этиологических факторов, а сопутствующим заболеванием, способным утяжелять течение ПРС и ускорять рецидивирование процесса.

Основываясь на гистологические исследования, большая часть полипов представлена эозинофилами, вероятно, на фоне их усиленной миграции, либо увеличение продолжительности их жизни, либо сочетание этих двух механизмов.

Эозинофилы играют основную роль в патогенезе полипозного синусита, но неизвестно, каким именно образом эозинофильное воспаление приводит к образованию и росту полипов. Предполагают, что процесс рекрутирования эозинофилов может регулироваться цитокинами.

У пациентов с ПРС часто встречается БА. Сочетание БА и ПРС характеризуется клинически более тяжелым течением БА. Показано, что ПРС является фактором риска формирования тяжелой, плохо контролируемой БА. Этим больным чаще бывает показано стационарное лечение во время обострения БА.

При обследовании пациентов с ринитом без БА были выявлены воспалительные изменения и процессы ремоделирования в нижних дыхательных путях, схожие с таковыми при БА, но менее интенсивные [87].

Особым клинико-патогенетическим вариантом бронхиальной астмы является аспириновая астма. Ввиду отсутствия специфических иммуноглобулинов Е, этот симптомокомплекс относят к псевдоаллергическим. Чаще всего, аспириновая астма входит в состав клинического неиммунологического комплекса под названием астматической триады (полипозный риносинусит, непереносимость ненаркотических анальгетиков и нестероидных противовоспалительных препаратов и бронхиальная астма). Распространенность заболевания среди взрослых пациентов с бронхиальной астмой (БА) составляет от 1 до 35% [94,108].

Данные противоречивы в связи с отсутствием унифицированных диагностических подходов.

Аспириновая астма или развернутая астматическая триада характеризуется тяжелым течением, не всегда поддающаяся терапии, часто требующая тяжелой системной глюкокортикоидной терапии. Для астматической триады характерен более поздний дебют (20-40 лет) заболевания, в отличии от атопических поражений респираторного тракта, которые начинаются в детском или молодом возрасте и не

характерен отягощенный аллергический анамнез. При тяжелом течении может формироваться необратимая бронхиальная обструкции и стероидная зависимость.

Аспириновая астма нередко развивается на фоне атопии (до 70% случаев). Многие ученые согласны с тем, что астматическая триада – это гетерогенная патология [161].Чаще, аспириновая триада начинается с неразвернутой формы - непереносимости НеНА и НПВС или полипозного риносинусита. По мере прогрессирования разрастания полипозной ткани, приводящей к обтурациии носа и ОНП и, как следствие - возникновение хронического гнойного полипозного-риносинусита на фоне обтурации естественных соустьев пазух, возникает вопрос о хирургическом лечении этой патологии. После оперативного вмешательства – полипотомии, чаще всего возникает расширение шоковых территорий, то есть неразвернутая астматическая триада становится развернутой. Полипотомия может способствовать выбросу большого количества лейкотриенов в кровоток, так и после оперативного вмешательства пациент может впервые получить наркотические анальгетики или НПВС.

Безусловно, тяжесть состояний пациента, длительность времени лечения, с учетом большой вовлеченности трудоспособных лиц, осложнения системной глюкокортикоидной терапии и повышение частоты встречаемости этой патологии, являются причиной неугасающего интереса к этой патологии.

Интерес к этой проблеме поддерживается еще и тем фактом, что выводы изучения патогенеза часто диаметрально противоположны друг другу. Большую часть исследований занимает изучение терапевтических подходов для полипозного риносинусита и развернутой астматической триады на фоне гистологического исследования полипозной ткани.

Несомненно, только изучив процесс формирования патологии, можно воздействовать на звенья его патогенеза для предотвращения прогрессирования патологии. Таким образом, изучив изменения в местном и системном ответе организма при поражении верхних дыхательных путей –при риносинуситах и при прогрессировании аллергического воспаления респираторного тракта-

бронхиальной астме, можно на ранних этапах обращения к врачу оценить риск присоединения бронхиальной астмы и предотвратить его.

1.2 Микробиоценоз слизистой оболочки носа при атопическом риносинусите и атопической бронхиальной астме, полипозном риносинусите и астматической триаде

Болезни респираторного тракта инициируются такими внешними факторами как микроорганизмы, так и системными внутренними факторами, из которых основное значение имеют иммунная системы [72,165,169,193].

Количественные и качественные изменения микрофлоры слизистой оболочки носа могут быть как следствием нарушения в работе иммунной системы, так и являться фактором, запускающим иммунные реакции. На наш взгляд, изучение микробного пейзажа, играет важную роль и при аллергическом поражении респираторного тракта. Во-первых, при выявлении дисбиотических нарушений, с помощью их коррекции, можно предотвратить запуск иммунного воспаления, а во-вторых, установив бактериальные особенности слизистой оболочки носа для каждого заболевания, можно выявить предикторы появления патологии с учетом генеза и уровня поражения респираторного тракта при аллергии.

Несомненно, при развитии респираторной аллергии, в микробиоценозе следует ожидать изменения. Изучая литературу, посвященную этому вопросу, мы не встретили единого мнения о тенденциях в изменениях мукозального иммунитета и каких-либо специфических изменений для каждой из рассматриваемых нами патологий [145,147,155] .

Способность условно-патогенных микроорганизмов вызывать гнойно-септические осложнения связывают не только с вирулентными свойствам возбудителя, сколько с ослаблением защитных сил макроорганизма.

Взаимосвязь аллергии и инфекции активно изучается последние годы. Существует мнение о том, что у атопических больных именно персистирующая инфекция провоцирует формирование «порочного круга», который и является

основой формирования хронических аллергических заболеваний. Работы этой школы исследователей доказали наличие IgE-антител к бактериальным антигенам у аллергических больных [45,135].

При аллергическом рините часто описывают численное увеличение условно-патогенной флоры. Повышено количество *S. aureus, S. epidermidis, S. haemolyticus,* и семейство Энтерококка [35]. При этом, в группе здоровых условно-патогенные микроорганизмы высеивались лишь у 36% [4,132].

Возникновение полипозных изменений слизистой оболочки с формированием в последующем полипов носа и околоносовых пазух можно рассматривать как продолжение развития продуктивного процесса вследствие иммунопатологических изменений при хронических инфекционно-аллергических риносинуситах. Бактерии могут участвовать в развитии воспаления при ПРС [22]. Положительные кожные пробы к одному бактериальному антигену были выявлены у 27,3% больных ПРС, а у 54,2% пациентов - к нескольким бактериальным антигенам. Чаще у этих пациентов наблюдалась сенсибилизация стафилококком и стрептококком [243].

Thunberg и соавторы исследовали 182 пациентов в момент хирургического лечения пазух при ПРС [193]. Наиболее распространенные организмы были коагулазонегативные стафилококки (КНС) (45%), грамотрицательные палочки (25%) и золотистый стафилококк (24%). Преобладающие организмы включали золотистого стафилококка (31,3%), коагулазонегативного стафилококка (44,2%) и грамотрицательных палочек (34,3%), в том числе синегнойной палочки и кишечной палочки. Эти бактерии могут быть обнаружены в отдельности, но чаще они являются представителями полимикробной ассоциации.

Золотистый стафилококк присутствует у множества людей без диагноза ПРС, занимая преддверия носа почти у трети человеческой популяции. Помимо того, что он часто встречается среди пациентов с полипами, это также вызывает множество других заболеваний и внутрибольничных инфекций, в том числе сепсис и эндокардит. В то время как его присутствие часто отмечается в культурах пациентов с полипами, его точная роль в этиологии ПРС является неясной.

Золотистый стафилококк часто встречается в биопленках, выявленных у больных с ПРС. Bonfils и др. собрали образцы синоназальной ткани у 39 пациентов после функциональной эндоскопической хирургии при лечении ПРС. [120]. Биопленки были выявлены в 30 из 39 пациентов, и в 70% из этих биопленок присутствовал золотистый стафилококк. Кроме того, пациенты с биопленками золотистого стафилококка имели более тяжелые признаки болезни и качество их жизни было ниже.

Предполагают, что энтеротоксин золотистого стафилококка может играть роль суперантигена, который вызывает бурный рост полипов и стимулирует развитие симптомов бронхиальной астмы [22]. Эти энтеротоксины имеют значительную стимулирующую активность, что может способствовать характерному ответу ткани, который наблюдается у пациентов с полипами.

Примерно 50% пациентов с ПРС присутствует ответов лимфоцитов в соответствии с воздействием суперантигена [11]. Кроме того, IgE, специфичные для стафилококкового токсина были обнаружены у 18 из 23 пациентов с полипами носа [20]. Неясно, однако, является ли энтеротоксины стафилококка этиологическим фактором или лишь модифицируют болезнь. Повышение содержания IgE в назальных полипах обусловлено высвобождением *Staphylococcus* aureus энтеротоксина, выступающего в роли суперантигена, а не аллергической реакцией, вызванной летучими агентами, так как аллергическая сенсибилизация не увеличивает степень эозинофилии и медиаторов в ткани [5].

Выявлена связь бронхиальной астмы, крапивницы, атопического дерматита с персистированием отдельных представителей условно-патогенной микрофлоры (*Neisseriaspp., Streptococcusspp., Staphylococcusspp.*) [26,35]. .

Такое изменение структуры возбудителей инфекций во многом связано с нарушением иммунобиологического статуса, взаимоотношений макро- и микроорганизма, характера микробиоты, возможности персистирования и латентного течения ряда бактериальных инфекций: стафилококковой инфекции и др.

Стафилококк относится к инфекционным возбудителям, активизирующимся в условиях пониженной сопротивляемости организма, что особенно проявляется при респираторных инфекциях. Многими авторами доказана большая роль стафилококка в этиологии ЛОР-заболеваний. Патогенными для человека являются главным образом коагулазоположительные стафилококки - *S. aureus*, среди коагулазоотрицательных стафилококков заболевания способны вызывать - *S. epidermidis, S. haemolyticus* и другие сапрофитные виды [15, 24,155]

В исследованиях часто встречаются микроорганизмы семейства стафилококков и стрептококков. Для ПРС характерно повышение содержания стафилококков до 10^6 КОЕ/мл (при норме 10^3). При видовой идентификации стафилококков большинство были представлены *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis* в равных количествах до 10^5 соответственно (КОЕ/мл) [21].

Методом масс-спектрометрии обнаружено повышенное количество бактерий при ПРС преимущественно двух таксонов, а именно анаэробных видов Eubacterium/Clostridium бактерий и семейства *Enterobacteriacea*, угнетен рост лактобактерий [47].

Таким образом, от состояния местного иммунитета слизистой оболочки носа зависит, попадет ли вдыхаемая частица в организм и разовьется ли системная воспалительная реакция. Исходя из этого, частые (хронические) воспаления в полости носа могут являться первым сигналом о несостоятельности иммунитета.

Таким образом, до настоящего времени не установлено закономерное изменение состава микрофлоры верхних дыхательных путей при различных нозологических формах респираторной аллергии.

1.2 Иммунологические механизмы в патогенезе атопического и псевдоатопического воспаления респираторного тракта.

Иммунная система имеет огромное значение, защищая организм от воздействий окружающей среды. Большую роль в формировании иммунного ответа играют клетки - лимфоциты. С учетом их роли в формировании иммунитета

лимфоциты разделяют на субпопуляции. Выделяют Т, В и NK-клетки. От количественного состава субпопуляций зависит специфика иммунного ответа. В норме, большая часть клеток (80-85%) представлена Т-лимфоцитами. Они отвечают за формирование клеточного иммунитета, при этом они активируют В-лимфоциты, которые в свою очередь регулируются цитокинами. Это регуляторные белки, не являющиеся антигенспецифическими факторами, но мониторинг показателей их содержания в крови позволяет сделать заключение об интенсивности антигенной стимуляции моноцитарно–макрофагальной и лимфоидной систем, степени активности патологических процессов или заболеваний [52].

Цитокины оказывают множественные биологические эффекты на различные типы клеток, главным образом, участвуя в формировании и регуляции защитных реакций организма. Защита на местном уровне развивается путем формирования типичной воспалительной реакции после взаимодействия патогенов с паттерн-распознающими рецепторами с последующим синтезом провоспалительных цитокинов. Синтезируясь в очаге воспаления, цитокины воздействуют практически на все клетки, участвующие в развитии воспаления, включая гранулоциты, макрофаги, фибробласты, клетки эндотелия и эпителиев, а затем уже на Т- и В-лимфоциты. В иммунной системе цитокины осуществляют взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом.

К системе цитокинов в настоящее время относят около 200 индивидуальных полипептидных веществ. Все они имеют ряд общих биохимических и функциональных характеристик, среди которых важнейшими считаются следующие: плейотропность и взаимозаменяемость биологического действия, отсутствие антигенной специфичности, проведение сигнала путем взаимодействия со специфическими клеточными рецепторами, формирование цитокиновой сети.

Каскадный механизм действия цитокинов объясняется тем, что один цитокин индуцирует продукцию другого цитокина (например, IL-1 индуцирует продукцию IL-2, IL-6, IL-8 и TNF и других цитокинов). Не менее распространено взаимодействие цитокинов путем влияния на экспрессию цитокиновых рецепторов

(например, ИЛ-1 усиливает продукцию Т-лимфоцитами IL-2 и экспрессию его рецепторов). Взаимодействие цитокинов характеризуется синергизмом (TNFα и IFN-γ) или антагонизмом (IL-4 и IFN-γ) [88]. Действие цитокинов основывается на равновесии альтернативных по биологической активности пулов молекул, нарушение которого, ведет к развитию патологии.

Исследования иммунопатогенеза аллергических заболеваний показали, что в процесс аллергического воспаления вовлекается ряд клеток, за активацию которых ответственны цитокины. Разные стадии течения аллергического процесса характеризуются различным цитокиновым профилем, определяющим направленность действия лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов и других клеток. В последнее время общепринятой считается теория, согласно которой аллергические заболевания обусловлены нарушениями регуляции в иммунной системе, связанной с активацией аллерген-сцепифических клонов Т-лимфоцитов хелперов, называемых Т-хелперами 2-го типа (Th2). Инициирующим механизмом хронического течения воспаления при аллергических заболеваниях является иммунный дисбаланс Th1/Th2 с нарушением в системе цитокинов. Преобладание Th2-поляризованного цитокинового профиля формирует иммунный ответ и развитие аллергического воспаления. В процессе индукции синтеза антигенпрезентирующие клетки, соответствующие субпопуляции Т-хелперов, продуцирующие и секретирующие цитокины, необходимые для пролиферации, дифференцировки и активации В-лимфоцитов [1,93]. В эффекторной фазе аллергических реакций немедленного типа участвуют тучные клетки, базофилы, нейтрофилы, эозинофилы, эндотелиальные и эпителиальные клетки, тромбоциты, при активации которых начинается синтез и секреция целого ряда цитокинов – интерлейкинов 1, 6, 8, 12, TNFα, IFN-γ. Локальный эффект цитокинов при аллергической реакции инициирует воспаление, определяет повышение проницаемости и расширение сосудов, накопление экссудата, индуцирует экспрессию на эндотелиальных клетках адгезивных молекул, способствует миграции лейкоцитов в ткань. [103].

Система цитокинов обеспечивает рекрутирование к месту аллергической реакции нейтрофилов и/или эозинофилов, опосредуя развитие поздней воспалительной фазы. Цитокины регулируют взаимодействие клеток в аллергических реакциях, созревание из предшественников основных клеток участников, их пролиферацию, дифференцировку, активацию и мобилизацию к месту протекания аллергической реакции, участвуют в реализации специфического ответа на аллерген [38, 49] .

Попадающие в организм аллергены приводят к преимущественной активации клонов Т-лимфоцитов, синтезирующих набор цитокинов, характерных для Т-хелперов 2-го типа. Однако первый источник цитокинов при развитии аллергического воспаления в тканях – тучные клетки, которые содержат преформированные цитокины (IL–4, TNFα) в гранулах. На фоне антигенной стимуляции прежде всего возникает секреция цитокинов Th1 типа с выраженной провоспалительной активностью (IL–1, IL–6, TNFα), которые индуцируют биосинтез центрального регуляторного цитокина IL–2, а затем противовоспалительных цитокинов IL–4, IL–10, TGFB и др. Такое разделение цитокинов на про– и противоспалительные соединения далеко не всегда оправдано: так, IL–4 обеспечивает развитие IgE–зависимых атопических воспалительных реакций, а IL–10 подавляет продукцию ряда провоспалительных цитокинов, обеспечивающих формирование защитных реакций в зоне воспаления.

Достаточно четко определено участие Th в продукции цитокинов. Так Th1 продуцируют IFNγ, IL–2, TNFα, а Th2 – IL4, IL–5, Il–9 ,IL–10, IL–13 [93]. Эти цитокины попадают в межклеточное пространство при дегрануляции в первые минуты после контакта, связанного тучными клетками IgE с аллергеном. Они обладают провоспалительной активностью, вызывают усиление продукции хемокинов и усиление молекул адгезии на эндотелии, что ведет к активному привлечению в ткани эозинофилов, базофилов и Т-лимфоцитов [88]. Далее основной источник синтеза IL–4, IL–5, IL–10, IL–13 (около 70% синтеза при аллергическом рините) – активированные Th2. В периферической крови лиц с разными формами аллергии существенно выше число клонов Т-лимфоцитов,

синтезирующих указанные цитокины. CD4+-лимфоциты лиц с аллергией продуцируют IL–4 в ответ на бактериальные аллергены, которые у здоровых людей обычно вызывают развитие ответа по типу активации Th1 [103,108]. IL-4 стимулирует синтез IgE, играющего решающую роль в развитии атопических реакций.

В ряде исследований предприняты попытки изучить роль Th1 и синтезируемых ими цитокинов в иммунопатогенезе аллергии. В результате подобных исследований получены противоречивые данные, которые ученые разделили на 2 группы. С одной стороны, получены данные о взаимосвязи аллергии и уровнем продукции IFN-γ, которые свидетельствуют о возможном протективном значении повышенного синтеза цитокинов Th1 для развития аллергических заболеваний [101]. С другой стороны, имеется ряд данных о возможном участии IFN-γ в поддержании аллергического воспаления в тканях, когда он действует совместно с цитокинами Th2 типа [159,192].

Между Thl и Th2 клетками существуют конкурентные отношения, при которых цитокины Thl клеток (IL-2, IFN-γ) тормозят активность Th2 клеток. При снижении активности Thl клеток происходит увеличение активности Th2 клеток, при этом синтезируемые ими цитокины (IL-4, IL-5, IL-13) индуцируют образование IgE В-клетками, что приводит к угнетению клеточного и, соответственно, гуморальных звеньев иммунитета [71,167].

Механизм формирования атопического ринита и атопической бронхиальной астмы относится к I типу аллергических реакций по Джеллу и Кумбсу и протекает в 3 стадии:

В иммунологической стадии аллерген попадает в организм и синтезируются антигенспецифические антитела класса IgE. При повторном попадании аллергена через слизистые в определенном участке активируется синтез В-лимфоцитами специфических антител IgE, запускается иммунное воспаление, опосредованное Th2, провоспалительными цитокинами (IL-4, IL-6, IL-10) и хемотаксисом других клеток (тучные клетки, эозинофилы, нейтрофилы, лимфоциты).

В патохимической стадии формируется иммунный комплекс АГ-АТ и дегрануляция биологически активных веществ. Среди метаболитов тучных клеток выделяют медиаторы ранней фазы – высвобождаются через 20-30 минут (гистамин, серотонин, факторы хемотаксиса и др.) и медиаторы поздней фазы – нарабатываются через 6-12 часов (лейкотриены, простагландины, супероксид, PAF и др.). Медиаторы поздней фазы являются продуктами метаболизма арахидоновой кислоты мембран тучных клеток.

Патофизиологическую стадию называют стадией клинических проявлений, обусловленных действием гистамина и проявляющейся спазмом гладкой мускулатуры, гиперсекрецией экзокринных желез, отеками.

Таким образом, при атопическом риносинусите и атопической бронхиальной астме превалирующим является иммунный ответ Th2 типу. Однако, изучая литературу, посвященную патогенезу атопии, мы не встретили единых тенденций о составе и концентрациях цитокинов и содержанию отдельных субпопуляций лимфоцитов и иммуноглобулинов. Многие ученые описывают повышенное содержание IL-4, который выделяется Th2-клетками, эозинофилами, базофилами, естественными клетками-киллерами и тучными клетками. IL-4 стимулирует развитие Th0-лимфоцитов в Th2-клетки и ингибирует апоптоз активированных Т-клеток. IL-4 является не только регулятором синтеза IgE, но и фактором роста В-лимфоцитов. Это основной цитокин, ответственный за формирование IgE фенотипа иммуноглобулинов.

Большое значение в регуляции В-лимфоцитов играет IL-2, который хорошо известен как фактор роста Т-лимфоцитов, так и В-лимфоцитов. IL-2 осуществляет как стимуляцию ранних этапов созревания В-лимфоцитов, так и контроль над конечными этапами – дифференцировкой в плазматические клетки [52].

Важную роль в формировании атопической бронхиальной астмы играет IL-6 посредством влияния на лимфоциты и эпителиальные клетки бронхиального дерева и способствует синтезу провоспалительных цитокинов, которые являются хемоаттрактантами для моноцитов и Т-лимфоцитов. Количество IL-6 выше у больных атопической формой бронхиальной астмой [52,101]

Недавние исследования показали важное значение IL-10 в патогенезе АБА. IL-10 продуцируется Th2-лимфоцитами, он способен угнетать синтез IL-2 и IFN-γ Т-лимфоцитами, усиливая пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, при этом, он обладает иммуносупрессивными эффектами, индуцируя Treg1-клеток. Уровень IL-10 был выше среди пациентов с контролируемой БА и ниже среди пациентов с неконтролируемой БА [49]. Этот цитокин обладает выраженным противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектом, но его главное значение – подавление биосинтеза провоспалительных цитокинов и, соответственно, подавление воспалительного процесса [192]. Встречаются исследования, в которых описывают нормальное содержание IL-10 при атопической бронхиальной астме [53, 193,198]. Исходя из этого, его значение при аллергии неоднозначно.

Для ПРС и АТ, как псевдоаллергических заболеваний, характерно отсутствие первой фазы и причинно-значимого аллергена. Запуском формирования полипозной ткани может быть воздействие триггеров на мерцательный эпителий слизистой оболочки. Механизм IgE-зависимой аллергической реакции в патогенезе ПРС не доказан, несмотря на то что этой теме посвящено значительное количество работ [183,186].

Учитывая отсутствие единой концепции патогенеза ПРС, во всех существующих теориях его генеза существенную роль авторы отводят участию иммунной системы, особенно состоянию иммунитета слизистой оболочки полости носа.

В литературе встречаются противоречивые данные о состоянии клеточного и гуморального иммунитета у пациентов при ПРС. Есть информация как о снижении уровня IgA, так и о его повышении в сыворотке крови [3,4,16]. При этом, дефицит sIgA встречался в сочетании с повышенным содержанием сывороточного IgA. При ПРС в сочетании с атопией наблюдалось повышенное содержания sIgA и IgE, в то время как при неаллергической форме – снижение количества всех классов иммуноглобулинов [28] В одной работе мы встретили данные о снижении Т-лимфоцитов, повышение NK-клеток на фоне эозинофилии крови [39,138].

Возможно, здесь в группу ПРС были включены пациенты с атопией или смешанными механизмами.

При ПРС выраженность назальных симптомов коррелирует с уровнем снижения CD4+-лимфоцитов [37]. У больных ПРС с непереносимостью НПВС доминировали провоспалительные цитокины, в том числе γ-интерферон, в отличие от других пациентов, у которых доминировал IL-4.

Многие ученые описывают выраженный агрессивный характер эозинофильного воспаления, уменьшение апоптоза эозинофилов, повышение количества эозинофильного катионного протеина в группе ПРС с установленным нарушением метаболизма арахидоновой кислоты.

Тем не менее, в соответствии с решениями Международных консенсусных конференций, эта форма воспалительного процесса представляется как хроническое продуктивное Th-2-зависимое эозинофильное воспаление, приводящее к ремоделированию слизистой оболочки носа, её отёку с последующим пролапсом слизистой оболочки и формированием носовых полипов [59].

Воспаление и отёк при ПРС, прогрессирующий рост носовых полипов, формирование двустороннего полипозного процесса в носу и околоносовых пазухах имеет уникальные особенности, связанные в первую очередь с нарушением местного и системного иммунного гомеостаза [59]. Уникальность этого патологического процесса состоит в том, что интерпретация местного эозинофильного продуктивного воспаления связывается со всеми достижениями фундаментальной иммунологии и, прежде всего с изменениями адаптивного иммунитета.

По данным иммуногистохимического исследования полипозной ткани установлено, что активация тучных клеток при полипозном риносинусите играет важную роль на ранних стадиях заболевания и при сопутствующей непереносимости нестероидных противовоспалительных препаратов [136,140].

Эозинофилы играют основную роль в патогенезе полипозного синусита, но пока неизвестно, каким именно образом эозинофильное воспаление приводит к

образованию и росту полипов. Предполагают, что процесс рекрутирования эозинофилов может регулироваться цитокинами.

Формирование носовых полипов является следствием хронического воспаления, приводящего к ремоделированию слизистой оболочки [64]. Такой тип воспалительного ответа приводит, во-первых, к увеличению синтеза провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1, IL-5, IL-8, IL-13, эозинофильных факторов воспаления (ESP, MBP, эотаксинов 1, 2, 3), трансформирующего фактора роста B (TGF B), факторов ангио-и неогенеза (VEGFs, VEGF-A, VEGF-B), хемокинов (RANTES, Eotaxin), адгезионных молекул (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin, P- selectin), во-вторых, к активации клеток иммунной системы insitu и их активному участию в воспалении СО. Эозинофилы, продуцирующие упомянутые провоспалительные факторы, в свою очередь активируют фибробласты и тромбоциты, в которых в условиях хронического воспаления синтез ростовых факторов становится неконтролируемым. Речь идет о TGF-B, тромбоцитарном и эпителиальном факторах роста, вызывающих нарушение целостности коллагенового каркаса СО и ее дальнейшее ремоделирование. Так же доказано участие активированных Т- и В-лимфоцитов, плазматических и тучных клеток, несущих IgE-рецепторы [103,149].

Таким образом, значение иммунных процессов в патогенезе ПРС несомненно. Не менее важно и то, что изучение иммунитета при ПРС позволит предложить новые лечебно-профилактические мероприятия этим больным. Однако клинико-иммунологических работ по изучению изменений показателей иммунитета при ПРС, приводящие к единому мнению, мы не встретили.

У пациентов с аспириновой астмой в 36—96% присутствует ПРС [156,163]. Патогенез аспириновой астмы связывают с нарушением метаболизма арахидоновой кислоты. Арахидоновая кислота образуется из липидов клеточных мембран под действиемя фермента фосфолипазы A_2.У арахидоновой кислоты существует два пути распада - циклооксигеназный и липоксигеназный. Первый путь приводит к образованию простагландинов и тромбоксана А2, а второй – к образованию лейкотриенов. Ингибирование фермента циклооксигеназы ведет к

активизации альтернативного пути метаболизма арахидоновой кислоты, катализируемого 5-липоксигеназой. Вырабатывающиеся при этом лейкотриены LTC-4, LTD-4, LTE-4 являются мощными медиаторами воспаления, стимулируя воспаление, расширение сосудов и повышение их проницаемости, хемотаксис клеток, увеличение секреции слизи и брохоспазм. Бронхоконстрикторное действие лейкотриенов мощнее гистамина в 1200 раз. Хотя детальный анализ не выявил разницы в гистологической картине носовых полипов за исключением Т-лимфоцитов, концентрации альбумина, секреторных белков (лактоферрин, лизоцим) и медиаторов воспаления (гистамин, PGD2, LTC4/LTD4) в назальной жидкости пациентов с непереносимостью НПВС и аспирин-толерантных больных, обе группы имели различные профили цитокинов [161]. У пациентов с непереносимостью НПВС в ткани полипов преобладали провоспалительные цитокины, в том числе IFN-γ, в отличие от других пациентов, у которых доминировали IL-4, IL-13. Все исследователи отмечают выраженный агрессивный характер эозинофильного воспаления, снижение апоптоза эозинофилов, увеличение количества эозинофильного катионного протеина в группе с нарушением метаболизма арахидоновой кислоты. При упорном рецидивирующем течении ПРС всегда выявляется иммунная дисфункция. Нарушение фагоцитирующей способности макрофагов, низкий уровень sIgA, снижение экспрессиии рецепторов к IgA на клетках назального эпителия приводят к дефекту иммунной защиты слизистой оболочки и имеют прямую связь с развитием Th2-зависимого эозинофильного воспаления дыхательных путей.

По данным различных авторов уровень IL-4 при АТ был в пределах нормы, а при АБА значительно выше, но уровень IL-4 был ниже при тяжелом течении БА, независимо от генеза [153]. Уровень IL-6 был выше при АБА, его уровень повышался при тяжелом течении АБА, а при АТ был в диапазоне нормы. В группе АТ уровень IL-6 выше только в подгруппе у пациентов с высоким уровнем IgE. При АТ описано высокое содержание CD8+лимфоцитов [101,149].

Установлено, что гранулоциты при АТ производят значительно больше лейкотриенов, чем в норме и они более устойчивы к угнетающему действию

простагландинов. Этот факт объясняет особенности персистирующего воспаления дыхательных путей [157].

Теории патогенеза АТ существуют самостоятельно и не объясняют особенности течения и развития полной астматической триады в отдельных клинико-иммунологических группах. Так, до настоящего времени не выяснены причины избыточного образования лейкотриенов, быстрого прогрессирования заболевания и формирования глюкокортикостероидной зависимости у больных, которые исключали из приема НПВС и аспирин.

Современная концепция астматической триады не выделяет формы, степени тяжести, этапы развития и комбинации основных клинических проявлений заболевания — бронхиальной астмы и полипозного риносинусита.

Не рассматриваются группы риска и не учитываются условия, при которых начальные клинические БА и ПРС в финале заболевания способны формировать картину полной астматической триады. Не изучено влияние отдельных симптомов — БА, ПРС, непереносимости НПВС и НеНА на конечное формирование полного синдрома АТ и не исследованы этапы развития заболевания для отдельных групп больных БА.

Интересно, что до настоящего времени не существует данных полноценного аллергологического обследования пациентов с полной астматической триадой и различными комбинациями основных ее проявлений — аллергическим ринитом, полипозным риносинуситом, бронхиальной астмой.

В литературе отсутствует классификация и не исследованы этапы развития полной клинической картины астматической триады для отдельных форм бронхиальной астмы, нет практических рекомендаций по профилактике и системного лечебно — диагностического подхода этой тяжелой категории пациентов.

Выделение групп риска развития полной клинической картины АТ и системный лечебно-диагностический подход к заболеванию возможен только при условии целостного взгляда на патогенез, клинико-иммунологические особенности АТ и изучения взаимного влияния основных проявлений АТ.

1.4. Особенности внутриклеточного метаболизма лимфоцитов крови при атопическом и псевдоатопическом воспалении респираторного тракта

Метоболизм клетки представляет собой баланс между катаболизмом и анаболизмом. Регуляторные особенности метаболической системы проявляются в ее способности координировано изменять величины субстратных потоков и концентраций интермедиатов в изменяющихся условиях, так чтобы в клетке поддерживалось стационарное состояние ключевых метаболитов и основных физиологических характеристик [6,33].

В иммунной системе эффекторной клеткой является лимфоцит. После активации различными факторами в них происходит усиление биохимической активности. Это вызвано как медиаторами иммунной системы, такими как цитокины и хемотаттрактанты, так и самими антигенами.

Наиболее значимыми показателями внутриклеточного метаболизма являются оксидоредуктазы. Это связано с тем, что основными переносчиками электронов в клетке являются пиридиновые нуклеотиды, а отсюда активное участие оксидоредуктаз в биоэнергетических процессах. Кроме того, оксидоредуктазы, участвуя в координации метаболических потоков, в значительной степени обусловливают адаптивные изменения внутриклеточного обмена веществ. Механизм обменных процессов представляет собой как циклы, в которых процесс начинается с участием интермедиата, воспроизводимого в последней реакции цикла, так и цепи, не приводящие к образованию какого-либо исходного компонента [7].

В основе проявлений функций лимфоцитов могут быть их метаболические реакции. Для осуществления биохимических процессов клетке нужна энергия в виде АТФ. Уже через несколько секунд после контакта лимфоцита с антигеном или митогеном в клеточной мембране наступает ряд изменений. Активируется Na+,K+-АТФаза, накачивающая ионы K+ в клетку, а ионы Na+ из клетки против градиентов их концентраций. Повышается активность мембраных метилтрансфераз. Возрастает поток Ca2+ внутрь клетки, который является

необходимым условием для осуществления процессов, приводящих к активации гуанилатциклазы и ингибированию аденилатциклазы [101].

Уменьшение содержания АТФ в течении часа после действия митогена можно объяснить действием энергопотребляющих ионных насосов, активацией ферментов метаболизма, появлением ростовых факторов. Известно, что при обнаружении клетки –эффектора своей мишени, в межклеточное пространство выбрасывается АТФ.

С первых минут реакции бласттрансформации в иммунокомпетентных клетках увеличивается потребление аденозинтрифосфата (АТФ). Так, 20-минутная инкубация лимфоцитов с Кон А приводит к снижению внутриклеточной концентрации АТФ на 20 %. К 60 минуте снижение концентрации АТФ в митоген-стимулированных лимфоцитах зафиксировано на уровне 35%, после чего в течение 24-72 часов отмечается медленное нарастание содержания макроэрга [89,91]. Установлено, что этот процесс прекращается, когда концентрация внутриклеточного АТФ падает более чем на 80 % (при снижении АТФ на 50 %, кэппинг подавляется приблизительно на 80 %).

Этот эффект не зависит от того, чем вызвано снижение АТФ: добавлением ингибиторов дыхания (валиномицина) или другими факторами. Снижение концентрации АТФ в течение первого часа после воздействия митогена объясняется стимуляцией АТФаз ионных насосов, активацией ферментов путем фосфорилирования, синтезом ростовых факторов и рецепторов к ним. Кроме того, выдвинута гипотеза, что при распознавании эффектором клетки-мишени осуществляется локальный выброс АТФ в межклеточную щель, образующуюся в зоне контакта взаимодействующих клеток. Эта гипотеза позволяет объяснить причину, по которой ингибиторы митохондриальной энергетики частично подавляют реакцию активации лимфоцитов. Через 1-2 часа активируется митохондриальное дыхание лимфоцитов, что позволяет клеткам перейти на более высокий энергетический уровень и синтез АТФ начинает преобладать над его потреблением. Этот этап совпадает по времени с переходом активированных митогеном клеток в G-, а затем в S-фазу клеточного цикла [75,80].

Активация энергетического обмена во время реакции бласттрансформации лимфоцитов проявляется не только в ускорении обмена АТФ, но и в увеличении синтеза пиридиннуклеотидов. Обнаружено, что после обработки выделенныхТ-лимфоцитов здоровых людей форболовым эфиром 12-О-тетрадеканоилом или форбол-13-ацетатом активируются пирофосфорилаза, аденилилтрансфераза и НАД-киназа.

В результате этого наблюдается значительное увеличение внутриклеточного уровня НАД (в 6-11 раз) и НАДФ (в 10-21 раз) [63,68,80].

Анализ кинетических данных позволяет заключить, что распределение потока пирувата между пируватдегидрогеназным комплексом (ПДГК) и пируваткарбоксилазой в митохондриях, координация цикла трикарбоновых кислот и изменение потока электронов в дыхательной цепи осуществляется главным образом через изменение окислительно-восстановительного состояния НАД/НАДН. На этом же принципе регуляции основывается динамическое равновесие между окислением глюкозы в НАД-зависимом гликолизе и НАДФ-зависимом пентозофосфатном пути [39,62].Кроме того, НАД является субстратом в реакциях АДФ-рибозилирования, ведущих к образованию АДФ-рибозы и ее гомополимера поли-АДФ-рибозы. Последний, присоединяясь к акцепторным ядерным белкам (например, к гистонам), в значительной степени определяет интактность структуры ДНК и хроматина. НАД в качестве обязательного компонента ДНК-лигазной реакции участвует и в процессах репарации ДНК [197]. Таким образом, активация синтеза пиридиновых нуклеотидов в активированных иммунокомпетентных клетках необходима не только для поддержания оксидоредуктазных реакций, но и для синтеза ДНК и репарационных реакций, что делает этот процесс необходимым условием для осуществления реакции бласттрансформации.

Высокую значимость в поддержании функциональной активности клеток имеют глутатион и ферменты глутатионового метаболизма. Обнаружено, что глутатион может непосредственно модулировать пролиферацию Т-лимфоцитов

[6,39]. Лимфоциты, истощенные по глутатиону, не развивали в полной мере реакцию бласттрансформации на митогенные лектины.

Экзогенный глутатион частично поддерживал уровень внутриклеточного глутатиона и полностью восстанавливал пролиферацию. Предполагается, что эндогенный глутатион играет ключевую роль в метаболических реакциях связанных с синтезом ДНК, а также опосредует эффекты экзогенных тиолов.

Метаболическую роль глутатиона и ферментов глутатионового обмена также связывают с антиоксидантными процессами. Предполагается, что синтез и восстановление глутатиона через глутатионредуктазу (ГР) обеспечивает полноценные эффекторные функции естественных киллеров, направленные на элиминацию инфицированных вирусом гепатоцитов. У больных хроническим обструктивным бронхитом обнаружено снижение активности глутатионпероксидазы и ГР в альвеолярных макрофагах [31]. В качестве одной из гипотез причин развития бронхиальной астмы выдвигается предположение о недостаточной активности глутатион-S-трансферазы. Предполагается, что низкая активность ферментов биотрансфармации ксенобиотиков приводит к изменению иммунного гомеостаза через образование реактивных метаболитов ксенобиотиков с последующим их ковалентным связыванием с макромолекулами клеток и образованием “конъюгированных антигенов”.

Особенно высокой информативностью для исследования метаболизма активированных лимфоцитов обладают окислительно-восстановительные ферменты. Это связано с тем, что, являясь основными переносчиками электронов в клетке, они осуществляют ключевые реакции клеточного метаболизма и координируют сопряженные метаболические пути [7].Инкубация лимфоцитов крови человека в течение 48-72 часов с митогенами приводит к параллельному увеличению активности всех ферментов гликолиза и цикла Кребса[39]. Так как вместе с уровнем активности гликолитических ферментов увеличивается синтез белка и РНК, авторы предполагают, что возросший уровень метаболических ферментов целиком определяется синтезом denovo.

Значимость изменений уровней активности оксидоредуктаз для реализации эффекторных функций лимфоцитов подтверждается исследованиями метаболизма лимфоцитах при иммунопатологических состояниях.Г6ФДГ – осуществляет дегидрирование глюкозо-6-фосфата и кофермента НАДФ. Образовавшийся в ходе данной реакции 6-фосфоглюконо-□-лактон является нестабильным и гидролизуется либо спонтанно, либо с помощью фермента 6-фосфоглюконолактоназы с образованием 6-фосфоглюконата [7]. Г6ФДГ катализирует инициализирующую и ключевую реакцию пентозофосфатного цикла.

В норме доля пентозофосфатного цикла в количественном превращении глюкозы обычно невелика и варьирует в зависимости от типа ткани и функционального состояния клеток. У человека активность пентозофосфатного цикла относительно высока в печени, надпочечниках, эмбриональной ткани, активированных иммунокомпетентных клетках и молочной железе в период лактации [63].

Пентозофосфатный цикл имеет важное значение для системы внутриклеточного метаболизма. Он поставляет восстановленные НАДФН для реакций биосинтеза жирных кислот, холестерина и др. За счет пентозофосфатного цикла приблизительно на 50 % покрывается потребность клеток в НАДФН. Кроме того, продуктами пентозофосфатного цикла являются также различные пентозофосфаты, которые необходимы для реакций синтеза нуклеиновых кислот и ряда коферментов.

Глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (Г3ФДГ) – НАД-зависимая оксидоредуктаза, осуществляющая обратимое окисление глицеро-3-фосфата в диоксиацетонфосфат. Фермент занимает центральное положениев реакциях липидного обмена. В реакциях синтеза липидов Г3ФДГ осуществляет образование глицеро-3-фосфата из диоксиацетонфосфата, в то время как последний генерируется в реакциях гликолиза и глюконеогенеза. В то же время, образовавшийся в реакциях липидного катаболизма, глицерол-3-фосфат переводится на реакции анаэробного окисления глюкозы с помощью Г3ФДГ.На примере некоторых тканей доказана возможность образования комплекса Г3ФДГ с

альдолазой. Причем установлено, что альдолаза связывается только с активным димером дегидрогеназы, увеличивая при этом активность фермента.

Синтезированный в цитоплазме НАДН не способен сам проникать через митохондриальную мембрану. Однако электроны НАДН способны включаться в дыхательную цепь с помощью □-глицерофосфатного водородного шунта (Рис. 1.2.6). Цитоплазматический НАДН сначала реагирует с диоксиацетонфосфатом, образуя глицерол-3-фосфат [62]. Реакция катализируется НАД-зависимой цитоплазматической Г3ФДГ. Образовавшийся глицерол-3-фосфат легко проникает через митохондриальную мембрану. Внутри митохондрии другая (митохондриальная ФАД-зависимая) Г3ФДГ окисляет глицеро-3-фосфат до диоксиацетонфосфата. ФАДН2 вводит приобретенные им электроны на уровне коэнзима Q в систему дыхательной цепи, а диоксиацетонфосфат выходит из митохондрий в цитоплазму, где снова взаимодействует с НАД-зависимой Г3ФДГ.

Наибольшая значимость системы □-глицерофосфатного шунта выявляется в метаболизме скелетных мышц и клетках мозга.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) — фермент гликолитического цикла, обратимо катализирующий окисление лактата в пировиноградную кислоту с участием в качестве кофермента НАД. В варьирующих количествах ЛДГ содержится во всех органах и тканях организма; наибольшая ее активность отмечается в гладкой и поперечно-полосатой мускулатуре, печени, почках и форменных элементах крови.

Установлено существование 5 изоферментов ЛДГ, различающихся по сочетанию составляющих ее полипептидных цепей; для разделения изоферментов обычно пользуются электрофорезом на ацетатцеллюлозных пленках. Каждый изофермент представляет собой тетрамер, состоящий из субъединиц двух типов. За синтез этих двух субъединиц отвечают разные гены, уровень активности которых различен в разных тканях [62,67]. Именно за счет изоферментного спектра и осуществляется контроль за интенсивностью субстратного потока по гликолизу.В тканях с аэробным метаболизмом преобладают изоферменты ЛДГ, которые чувствительны к пирувату. Данные изоферменты ЛДГ ингибируются даже небольшим количеством пирувата, что препятствует образованию лактата и

приводит к более полному окислению пирувата через образование ацетил-КоА в цикле трикарбоновых кислот. В тканях с преимущественно анаэробным дыханием выявляется изоферментный спектр ЛДГ, который не ингибируется пируватом (во всяком случае, в низких концентрациях). ЛДГ занимает ключевое положение в регуляции цитоплазматического уровня НАДН/НАД. В случае избытка НАДН в цитоплазме ЛДГ восстанавливает пируват до лактата, который затем удаляется из клетки (анаэробная реакция ЛДГ). В то же время, при активации аэробных процессов ЛДГ может окислять лактат до пирувата с образованием НАДН (аэробная реакция ЛДГ). В этом случае, пируват, образовавшийся при окислении лактата, в основном через пируватдегидрогеназный комплекс поступает на реакции цикла трикарбоновых кислот (митохондриальный компартмент) [7].

Малатдегидрогеназа (МДГ) – фермент, катализирующий обратимое окисление малата в оксалоацетат. Фермент локализуется как в митохондриях (цикл трикарбоновых кислот), так и в цитоплазме. В митохондриях уровень соотношения НАДН/НАД относительно велик, в результате чего внутримитохондриальным оксалоацетат легко восстанавливается в малат, который легко выходит из митохондрий. В цитоплазме уровень отношения НАДН/НАД мал, что приводит к окислению малата при участии цитоплазматической НАД-зависимой МДГ.

МДГ принимает участие в реакциях азотного обмена. Одним из ключевых интермедиатов азотного обмена является аспартат, который синтезируется в результате трех сопряженных реакций. В ходе первой реакции фумарат под действием фумаразы присоединяет воду и превращается в малат. Во второй реакции малат под действием МДГ окисляется до оксалоацетата, который в третьей реакции – в реакции трансаминирования с глутаматом преобразуется в аспартат[13,191]. Кроме того, МДГ принимает самое активное участие в работе малат-аспартатного водородного шунта митохондрий. Данная система работает благодаря наличию МДГ и аспартатаминотрансферазы как цитоплазме, так и в митохондриях. Водородный шунт работает следующим образом. Сначала водород от синтезированного в цитоплазме НАДН переносится на цитоплазматический оксалоацетат. В результате образуется малат, который с помощью системы,

транспортирующей дикарбоновые кислоты, проходит через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс [7]. В матриксе митохондрий с помощью МДГ малат окисляется в оксалоацетат, а матриксный НАД+ восстанавливается до НАДН, который может передавать свои электроны в дыхательную цепь, локализованную на внутренней мембране митохондрий. В свою очередь образовавшийся оксалоацетат в присутствии глутамата и аспартатаминотрансферазы вступает в реакцию трансаминирования. Образовавшиеся в результате данной реакции □-кетоглутарат и аспартат с помощью специальных транспортных систем способны проходить через мембрану митохондрий.

Изоцитратдегидрогеназа (ИЦДГ) – в митохондриях существует два типа изоцитратдегидрогеназ. НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа (НАДИЦДГ) выявляется только в митохондриальном компартменте, в то время как НАДФ-зависимая изоцитратдегидрогеназа (НАДФИЦДГ) выявляется как в митохондриях, так и в цитоплазме [13]. НАДИЦДГ осуществляет третью реакцию в цикле трикарбоновых кислот, которая, по-видимому, является лимитирующей. В ходе изоцитратдегидрогеназной реакции также осуществляется декарбоксилированиеизолимонной кислоты. Специфическим активатором НАДИЦДГ является АДФ, ингибиторами фермента являются АТФ и НАДН. Кроме того, изоцитратдегидрогеназе для осуществления ферментативной активности необходимы ионы магния и марганца [7,101].

В литературе мы не встретили сравнительной характеристики внутриклеточного метаболизма лимфоцитов при респираторной аллергии и псевдоаллергии.

Изучение особенностей метаболизма лимфоцитов при астматической триаде и бронхиальной астме выявило снижение функционирования цикла трикарбоновых кислот. При АБА снижение антиоксидантного потенциала (снижен уровень глутатионредуктазы) и усилен аминокислотной обмен [101].

Так, при исследовании уровней активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ и концентрации ключевых интермедиатов в лимфоцитах крови у больных истинной аллергией и псевдоаллергией обнаружено увеличение интенсивности

реакций, определяющих функции пентозофосфатного цикла, гликолиза и цикла трикарбоновых кислот [39]. Однако увеличение активности ферментов, отражающих интенсивность анаэробного и аэробного дыхания иммунокомпетентных клеток у больных истинной аллергией выше, чем у лиц с псевдоаллергией, что подтверждается повышенной концентрацией пирувата и малата у первых по сравнению со вторыми. Тем не менее установлено, что у больных истинной аллергией и псевдоаллергией в иммунокомпетентных клетках снижается концентрация АТФ. По-видимому, снижение концентрации макроэрга в лимфоцитах крови больных истинной аллергией и псевдоаллергией определяется недостаточной сбалансированностью энергетических и пластических процессов.

Таким образом, учитывая высокую информативность метаболических показателей для характеристики функционального состояния лимфоцитов, исследование метаболических параметров позволит улучшить диагностику иммунных нарушений, правильно выбрать тактику иммунокорригирующей терапии, оценить эффект действия различных иммуномодуляторов и разработать иммунореабилитационные мероприятия.

Заключение

Таким образом, на основании изученного научного материала можно отметить, что основные закономерности иммунопатогенеза атопического риносинусита и атопической бронхиальной астмы в литературе описаны довольно подробно, ученые склоняются к единому мнению о поляризации иммунного ответа в сторону Th2 и сопутствующему повышению концентрации IL-4, IgE, B-лимфоцитов. Рассматривая в литературе теории формирования ПРС и АТ, мы отметили множество теорий. Нет единого мнения о пути формирования иммунного ответа при ПРС. Одновременно, встречаются данные как о высоких концентрациях IFNy и IL-2 и IL-4, антагониста IFNy. Научные исследования, посвященные астматической триаде, содержат противоречивые данные об уровнях IgE, IL-4, IL-6 и IFN-γ. При этом, описывая цитокиновый дисбаланс, большая часть ученых склоняются к мнению о сложном иммунопатогенезе АТ и, соответственно, необходимости дальнейших исследований. Подобная картина обнаружена и при

описании уровня sIgA. В литературе не удалось обнаружить какие-то закономерности, так как выводы ученых диаметрально противоположны друг другу.

Изучение научного материала по исследованию назального микробиоценоза обнаружило, что большая часть ученых описывает повышение концентраций бактерий рода стафилококков и стрептококков за счет различных их видов при атопическом риносинусите и атопической бронхиальной астме. При ПРС и АТ описывают похожие изменения: увеличение стафилококков, стрептококков, встречаются энтеробактерии на слизистой оболочке носа. Мы не встретили сравнительных исследований назальной микрофлоры при респираторной аллергии в зависимости от уровня поражения или с учетом генеза аллергии. Единичные исследования микробных ассоциаций при аллергическом риносинусите и полипозном риносинусите описывали увеличение микробной флоры при АР относительно ПРС. Научных исследований по оценке микробной флоры слизистой оболочки носа при различных патогенетических вариантах бронхиальной астмы мы не обнаружили. Таким образом, ранее, дисбактериоз слизистой оболочки носа не рассматривался как фактор или маркер прогрессирования патологии.

Небольшое количество исследований внутриклеточного метаболизма лимфоцитов встретилось при респираторной аллергии. В работах описаны особенности при риносинуситах (при АР и ПРС) и при бронхиальной астме (сравнивали АБА и АТ), в зависимости от генеза воспаления. Основываясь на этих немногочисленных исследованиях невозможно сделать вывод о направленности метаболизма лимфоцитов и невозможно провести сравнительный анализ при прогрессировании патологии от аллергического риносинусита к бронхиальной астме.

Безусловно, патогенез атопического ринита и атопической бронхиальной астмы, изучен более тщательно, поэтому эти группы интересно рассматривать с позиции сравнения с псевдоаллергией.

Таким образом, проведя комплексное исследование показателей микрофлоры слизистой оболочки носа, популяционного и субпопуляционного состава

лимфоцитов и оценив их метаболические особенности при аллергическом воспалении респираторного тракта, можно выявить как особенности для каждого вида риносинусита на ранних этапах диагностики, так и выделить маркеры прогрессирования патологии от риносинусита к бронхиальной астме. Особое значение такое исследование имеет для выбора тактики лечения ПРС с целью предотвращения формирования астматической триады.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты и материалы исследования

Обследование больных и набор материала проводились в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленном подразделением Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера в ЛОР-отделении и лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии (заведующий лабораторией – проф. Савченко А.А.) с 2013 по 2016 год в рамках основной тематики: тема 001 (№ гос.рег.01201351110).

Диссертационное исследование одобрено локальным этическим комитетом клиники НИИ МПС (протокол от 11.11.2013 года).

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинской Декларации 2011 г.

На каждого больного заполнялась индивидуальная регистрационная карта, включающая жалобы, анамнез заболевания, данные объективного осмотра, оториноларингологического обследования, данные иммунологического и микробиологического исследований.

Обследовано 361 пациент в возрасте от 18 до 66 лет, 209 из которых являлись здоровыми донорами. Все больные обследованы в период обострения заболевания.

Вопрос о клинической фазе болезни решался с учетом физикальных данных и данных передней риноскопии, лабораторных показателей и показателей функции внешнего дыхания. Перед проведением исследования у всех было получено информированное согласие. Выделены четыре группы: 1 – ПРС (n=68); 2 – АР (n=28); 3 – АТ (n=28); 4 – АБА (n=28). Группа контроля (5 группа) состояла из практически здоровых доноров крови ГБУЗ Красноярского краевого центра крови №1 (n=209), сопоставимых по полу и возрасту.

Средний возраст больных ПРС - 30,2 (18,1-60,7), АР - 29,7(18,1-59,4), АТ - 35,5(24,8-60,2), АБА - 31,3 (18,9-51,0) лет. Контрольную группу составили практически здоровые лица, средний возраст 30,2 (18,3-60,7). Характеристика групп, обследованных по полу и возрасту представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика обследованных групп

Параметры		Контроль	ПРС	АТ	АБА	АР
Количество Обследованных		209	68	28	28	28
Возраст (M±m)		30,2 (18,3-60,7)	39,5 (22,0-66,0)	33,5 (24,8-60,2)	31,3 (18,9-51,0)	29,7 (18,1-59,4)
Мужчины	абс. число	106	40	14	13	17
	%	50,7%	58,8%	50%	46,4%	60,7%
Женщины	абс. число	103	28	14	15	11
	%	49,3%	41,2%	50%	53,6%	39,6%

Критерии включения в исследование:

1.Наличие клинически подтвержденного полипозного риносинусита, атопического ринита, астматической триады и атопической бронхиальной астмы.

2.Возраст от 18 до 66 лет.

3.Информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследования:

1.Наличие сопутствующих декомпенсированных заболеваний.

2.Обострение сопутствующих хронических заболеваний.

3.Наличие доброкачественных и злокачественных опухолей, сахарного диабета, системных и психических заболеваний.

4.Беременность и лактация.

5.Алкоголизм и/или наркомания.

Материалом для исследования были периферическая кровь и назальные смывы.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Клинико-анамнестические методы исследования

Все больные обследованы до начала проведения симптоматической и патогенетической терапии.

Диагностика полипозного и аллергического ринита, бронхиальной астмы и непереносимости ненаркотических анальгетиков (НеНА) и нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) основывалась на комплексном обследовании больных оториноларингологом и аллергологом-иммунологом. При постановке диагноза аллергического ринита, атопической бронхиальной астмы, полипозного риносинусита и астматической триады использованы стандартные общеклинические методы и методы специфической аллергологической диагностики.

Диагностика БА проводилась согласно критериям GINA (2016). Диагностика бронхиальной астмы основывалась на комплексном обследовании больных, включающем следующие методы: специфической аллергологической диагностики (аллергологический анамнез, кожные пробы, элиминационные и провокационные тесты, клинико-лабораторные исследования, иммунологические методы).

Для проведения обследования пациентов, страдающих риносинусопатией использовались следующие методы:

- Передняя риноскопия;
- Рентгенография придаточных пазух носа;
-Функциональные методы исследования внешнего дыхания.

Спирометрия (исследование функции внешнего дыхания, вариабельность пиковой скорости выдоха) проводилось на компьютерном спироанализаторе «Spirosift SP-5000» производитель фирма «FukudaDenshi», Япония. Исследование проводилось не раньше, чем через 4 часа после последней ингаляции β2-агониста короткого действия. Учитывались показатели жизненной ёмкости лёгких (ЖЕЛ), форсированной жизненной ёмкости лёгких (ФЖЕЛ), объёма форсированного

выдоха за 1-ю секунду (ОФВ1), соотношения объёма форсированного выдоха за 1 секунду к жизненной ёмкости лёгких (индекс Тиффно), а так же показатели пиковой скорости выдоха (ПСВ); мгновенной объёмной скорости после выдоха 25% ФЖЕЛ (МОС25), характеризующие бронхиальную проходимость на уровне крупных бронхов; мгновенной объёмной скорости после выдоха 50% ФЖЕЛ (МОС50), характеризующие бронхиальную проводимость на уровне средних бронхов; мгновенной объёмной скорости после выдоха 75% ФЖЕЛ (МОС75),характеризующие бронхиальную проходимость на уровне мелких бронхов.

В исследование включены больные БА максимальные значения ОФВ1 которых не превышали 60-80% от должного или индивидуального наилучшего значения после первого введения бронхолитика, при суточной вариабельности показателей ОФВ1> 30%.

2.2.2.Методы специфической аллергологической диагностики

Аллергологический анамнез

Сбор аллергологического анамнеза проведен с использованием анкеты, разработанной под руководством академика РАМН Адо А.Д. и модифицированной, с учетом основных дифференциально-диагностических критериев истинной аллергии и псевдоаллергии. Жалобы, данные анамнеза заболевания и анамнеза жизни, наследственная предрасположенность, триггеры, сбор анамнестических данных, в которых отражены комплекс внутренних и внешних факторов аллергической реактивности организма [1]. При помощи анкеты получены предварительные данные о природе клинических симптомов (аллергических и/или псевдоаллергических).

При сборе аллергологического анамнеза были поставлены следующие задачи:

1. установление аллергической природы заболевания, нозологической формы;
2. предположительное выявление этиологически значимого аллергена;

3. определение факторов риска, способствующих развитию аллергического заболевания (наследственной предрасположенности, влияния окружающей среды, климата, погоды, физических факторов, сезонности);

4. выявление сопутствующей патологии;

5. выявление имеющихся у больного других аллергических заболеваний;

6. выявление бытовых факторов;

7. установление связи обострений с другими заболеваниями (органов пищеварения, эндокринной системы, центральной нервной системы);

8. влияние профессиональных вредностей;

9. установление связи заболевания с приёмом пищи;

10. оценка клинического эффекта от применения антиаллергических средств и (или) элиминации аллергена.

Выявление специфической сенсибилизации in vivo: проведение кожных аллергологических проб: скарификационные пробы с набором стандартных аллергенов (бытовые, растительные, пищевые), внутрикожные пробы, провокационные пробы.

Кожные пробы

Метод кожного тестирования позволяет выявить аллергию, протекающую по I, III, IV типам аллергических реакций по P.G.H. Gell, R.r.a. Coombsм(1968). Проводились скарификационные пробы с неинфекционными аллергенами (бытовыми, эпидермальными, пищевыми, лекарственными).

В качестве контролей использовали экстрагирующую жидкость и раствор гистамина.

Элиминационные и провокационные тесты

После элиминации аллергена и во время клинической ремиссии заболевания проведены провокационные тесты (назальный, ингаляционный) с причинно-значимыми аллергенами при неубедительных данных кожного тестирования. Достаточно достоверный метод диагностики, позволяющий достичь контакта шокового органа с аллергеном. Их используют в случае расхождения данных

анамнеза и результатов кожного тестирования. В зависимости от вида аллергена и способа его введения в организм различают следующие провокационные тесты: назальный, конъюнктивальный, ингаляционный подъязычный, оральный.

Провокационный тест с аспирином

При диагностике АТ применен провокационный тест с аспирином.

Противопоказания для проведения провокационного теста с аспирином in vivo:

– Больные, у которых показатели функции внешнего дыхания (ФВД) составляют менее 50% от должной величины;
– Острая язвенная болезнь желудка и двенадцатипёрстной кишки;
– Выраженная кровоточивость;
– Беременность;
– Тяжелые декомпенсированные заболевания внутренних органов, деменция.

Техника проведения. Пробу с аспирином начинают с приёма минимальной дозы - 5мг. При отсутствии указаний на переносимость НПВП пробу начинают с приёма 20 мг препарата. Если через 1 час после приёма медикамента показатели бронхиальной проходимости не снижаются, начальную дозу аспирина удваивают и через 1 час повторяют исследование ФВД. При снижении $ОФВ_1$ на 15% и более от исходного значения или показателей кривой поток-объём форсированного выдоха на 25% и более. Увеличение дозы прекращают, если при повторном исследовании ФВД фиксируется стойкое достоверное снижение показателей бронхиальной проводимости (проба положительная) или суммарная доза принятого больным препарата превышает 500 мг, а также при появлении признаков аспириновой непереносимости в виде кашля, заложенности носа, чихания, кожного зуда, высыпаний.

2.2.3. Микробиологические методы исследования

Для взятия образцов патологического материала со слизистой оболочки носа и транспортировки для дальнейших исследований, использовались стерильные тумферы с коммерческой транспортной средой Эймса.

Выделение микроорганизмов проводили на питательных дифференциально-диагностических средах: желточно-солевом агаре (ЖСА), агаре Эндо и энтерококкагаре. В качестве основы ЖСА использовали элективный солевой агар. По прописи готовили 1,8-2% агар, pH 7,2-7,4. К расплавленному и охлажденному до 45-50°С агару, соблюдая правила асептики, добавляли 20% щелочной взвеси (асептически извлеченный из яйца желток взбалтывали с 200 мл изотонического раствора хлорида натрия), смешивали тщательно агар с желточной взвесью, разливали по 20 мл в чашки Петри [72].

Агар Эндо включал в себя компоненты следующего состава (г/л): питательный агар сухой - 26,5, витаминный препарат «ЭКД» - 1,22, фуксин основной - 0,23, сахар молочный - 10,7, динатрия фосфат - 0,48, сульфит натрия безводный - 0,83, натрий углекислый - 0,03.

Энтерококк агар состоял из следующих компонентов (г/л): гидролизат казеина – 17,0, пептический перевар живой ткани – 3,0, дрожжевой экстракт – 5,0, желчные соли – 10,0, натрия хлорид – 5,0, натрия цитрат – 1,0, эскулин – 1,0, железа аммонийного цитрат – 0,5, натрия азид – 0,25, агар-агар – 15,0.

Посев проводили секторным методом: чашку делили на 4 сектора; в первом секторе делали площадку с ватного тампона и рассеивали четырьмя штрихами во второй сектор; прожигали петлю и рассеивали четырьмя штрихами в третий сектор; прожигали петлю и рассеивают четырьмя штрихами в четвертый сектор. Инкубировали в термостате при температуре 370 С в течении 24 часов. Подсчет микроорганизмов проводили по расчетной таблице 4 [72].

Засеянные среды инкубировали в термостате при температуре 370 С в течение 48 часов. Выросшие изоляты пересевали на скошенный мясопептонный агар и питательный полужидкий агар (0,4%) для получения чистых культур и изучения признаков, используемых при идентификации. О чистоте культуры судили с помощью визуального и микроскопического контроля [72].

Таблица 2

Количественный учет бактерий.

Количество бактерий, выросших в секторе				Количество бактерий в 1мл жидкости
1 сектор	2 сектор	3 сектор	4 сектор	
1-6				$<10^3$
8-20				10^3
21-30				5×10^3
31-60				10^4
70-80				5×10^4
100-150	5-10			10^5
Очень большое количество	20-30			5×10^5
	40-60			10^6
	100-140	10-20		5×10^6
	Очень большое количество	30-40		10^7
		60-80		5×10^7
		80-140	Единичные колонии	10^8

2.2.4. Иммунологические методы исследования

Для иммунологического исследования согласно стандартной методике у всех пациентов проводилось взятие периферической крови из локтевой вены в вакуумные пробирки Green Vac-Tube (Южная Корея) с консервантом, содержащим раствор Li-гепарин и этилендитетрамин (ЭДТА).

Иммунологические исследования включали в себя определение в крови методом проточной цитофлуориметрии: Т-лимфоцитов, несущих $CD3^+$, и субпопуляций лимфоцитов CD4+ и CD8+ (с подсчетом соотношения CD4/CD8), а также $CD19^-CD16/56^-CD45^+$, В-лимфоциты $(CD3^-CD19^+CD16/56^+CD45^+)$. Для

этого применялся метод прямой двуцветной флуоресценции в эритроцит-лизированной цельной крови с использованием стандартных реактивов на проточном цитофлуориметре CytoFLEX (Beckman Coulter, США), оснащенном тремя диодными лазерами 405, 488 и 638 нм.

Определение фенотипа лимфоцитов крови проводили методом проточной цитометрии цельной периферической крови с использованием различных моноклональных антител (Beckman Coulter, USA), меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-TexasRed-X) и PC5 (phycoerythrin-cyanin 5). Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [88]. Окраску антителами производили в соответствии с рекомендациями производителя. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием лизирующего раствора VersaLyse в соответствии с рекомендациями производителя (Beckman Coulter, USA). Использовалось четырехцветное иммунофенотипирование по следующим панелям: CD3/CD4/CD8/CD45 и CD3/CD19/CD16+56/CD45. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре FC-500 (BeckmanCoulter, USA) [20]. В каждой пробе анализировали не менее 50000 лимфоцитов. Основные фенотипы лимфоцитов определены следующим образом: Т-лимфоциты ($CD3^+CD19^-CD16/56^-CD45^+$), Т-хелперы ($CD3^+CD4^+CD45^+$), Т-цитотоксические ($CD3^+CD8^+CD45^+$), NK-клетки ($CD3^-CD16/56^+CD45^+$), В-лимфоциты ($CD3^-CD19^+CD16/56^+CD45^+$). Для каждого из образцов анализировали не менее 50000 лимфоцитов. Абсолютные значения были получены по двухплатформенной технологии с использованием результатов гематологического анализа.

Концентрация сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgM и IgG в сыворотке крови определялась иммуноферментным методом, с учетом результатов фотометрической и последующей оценкой по калибровочному графику. В реакции были использованы наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Определение количественных показателей фагоцитарного звена производилось по Д. Н. Маянскому (1985) с добавлением 1 % латекса.

Определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови проводилось по методике V.Haskova et al. (1978) в реакции с полиэтиленгликолем (ПЭГ-6000) и дальнейшей оценке результатов на фотоэлектроколориметре с фильтром №1 (длина волны 315 нм).

Оценка количественных показателей фагоцитарного звена производилась по Д.Н. Маянскому с соавт. (1985). К отмытой в физиологическом растворе лейкоцитарной взвеси добавлялся 1% латекс, после инкубации (30 минут при 37ºС) его центрифугировали для увеличения концентрации, далее из нее готовили мазок на стекле. Мазки окрашивали по Романовскому-Гимза и смотрели под микроскопом с иммерсией, насчитывали 200 клеток и производили учет показателей фагоцитоза: ФИ- процент клеток, вступивших в фагоцитоз; ФЧ - среднее число частиц латекса, находящихся внутриклеточно.

Определение концентрации цитокинов

С целью оценки функциональной активности Т-хелперных клонов лимфоцитов определяли концентрацию цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN-γ и TNFα в сыворотке периферической крови и в назальных смывах в период обострения заболевания. Методика получения назальных смывов: стерильным зондом проводили забор содержимого верхних отделов среднего носового хода, и полученный материал смывали в пробирку стерильным физиологическим раствором объемом 0,5 мл. Использовали модифицированный метод получения «назофарингиальных смывов», рекомендованный приказом Минздрава РФ от 21 марта 2003 г. № 117.

Определение интерферона-альфа (TNFα), интерферона-гамма (IFN-γ), интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-10 (IL-10), фактора некроза опухоли-альфа (TNFα), IFN-γ проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА Вектор-Бест, г. Новосибирск). Концентрацию цитокинов в образцах определяли по калибровочным графикам. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре (Statfax) при 450 нм референсная длина волны 650 нм.

2.2.5.Биолюминесцентный метод

В данной работе использовался биолюминесцентный анализ [62]. Данным методом определяли активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназ (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), глицерол-3-фосфатдегидрогеназ (Г3ФДГ, КФ 1.1.1.8), малик-фермента (НАДФМДГ, КФ 1.1.1.40), НАД- и НАДН-зависимых реакций малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ, КФ 1.1.1.37), НАДФ- и НАДФН-зависимых глутаматдегидрогеназ (НАДФ-ГДГ и НАДФН-ГДГ, КФ 1.4.1.4), НАД- и НАДН-зависимых глутаматдегидрогеназ (НАД-ГДГ и НАДН-ГДГ, КФ 1.4.1.2) НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАД-ИЦДГ, КФ 1.1.1.41 и НАДФ-ИЦДГ, КФ 1.1.1.42, соответственно) и глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2).

Биолюминесцентное определение активности дегидрогеназ клеток иммунной системы проводили по методике Савченко А.А [63]. В 600 мкл инкубационной смеси, содержащей соответствующий субстрат и кофактор, вносили 200 мкл суспензии разрушенных клеток лимфоцитов. Конкретные значения концентраций субстратов и кофакторов, а также pH среды для определяемых ферментов представлены в таблице 3.

Необходимо отметить, что в инкубационную смесь для определения активности НАДФИЦДГ и НАДИЦДГ дополнительно добавляли АДФ в концентрации 2.15 и 1.3 мМ соответственно. В среду инкубации для определения уровней НАДН-зависимых реакций НАДГДГ и НАДФН-зависимых реакций НАДФГДГ дополнительно вносили NH_4Cl в концентрации 5.0 мМ. После инкубации при 37°С в течение 30 минут (для ферментативных реакций с восстановлением НАД(Ф)) или 5 минут (для реакции с окислением НАД(Ф)Н) 200 мкл инкубационной смеси добавляли в кювету биолюминометра"БЛМ-8801" (сконструированного в СКТБ «Наука», г. Красноярск), куда предварительно вносили 50 мкл ФМН в концентрации $1.5*10^{-5}$М, 10 мкл в ферментативной системы НАД(Ф)Н:ФМНоксидоредуктаза-люцифераза и 50 мкл 0.0005% альдегида C_{14} (все реактивы биолюминесцентной системы разведены в 0.1 М K^+, Na^+ -фосфатном буфере с pH 7.0).

Таблица 3

Концентрация субстратов, кофакторов и показатели pH среды для определения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови биолюминесцентным методом

Фермент	Субстрат – мМ	Кофактор – мМ	pH буфера
Г6ФДГ	Г6Ф – 1,5	НАДФ – 0,025	9,8
Г3ФДГ	Г3Ф - 0,5	НАД – 0,35	9,8
ЛДГ	Лактат – 2,0	НАД – 0,50	9,0
МДГ	Малат – 2,0	НАД – 2,50	9,8
НАДФМДГ	Малат – 7,5	НАДФ – 0,375	9,8
НАДФГДГ	Глутамат – 0,5	НАДФ – 1,65	9,8
НАДГДГ	Глутамат – 8,7	НАД – 8,10	9,8
НАДИЦДГ	Изоцитрат – 5,0	НАД – 5,0	7,8
НАДН-ЛДГ	Пируват – 0,25	НАДН – 0,005	7,0
НАДФИЦДГ	Изоцитрат – 1,375	НАДФ – 0,075	7,4
НАДН-МДГ	Оксалоацетат – 0,5	НАДН – 0,005	7,0
ГР	GSH – 0,5	НАДФН – 0,0025	7,4
НАДФН-ГДГ	Оксоглутарат – 100	НАДФН – 0,0025	7,4
НАДН-ГДГ	Оксоглутарат – 100	НАДН – 0,0025	7,0

Примечание: среды с pH 9,0 и 9,8 готовили на Трис-HCl буфере; с pH 7,0, 7,4 и 7,8 – на K^+,Na^+-фосфатном буфере.

Измеряли уровень биолюминесценции и при помощи калибровочной кривой определяли концентрацию НАД(Ф)Н в пробе. Ферментативная система НАД(Ф)Н: ФМНоксидоредуктаза-люцифераза изготовлена из очищенных методами ионообменной хроматографии и гель-фильтрации люциферазы из Photobacteriumleiognathi и оксидоредуктазы из Vibriofischeri в Институте биофизики СО РАН [79].

Учитывая, что в клетках имеется определенное количество субстратов для течения тех или иных метаболических реакций, в том числе и катализируемых исследуемыми ферментами, определялись показатели, условно названные «фоны ферментов». Определение фонов ферментов проводили в тех же условиях, что и вышеперечисленных дегидрогеназ, но в инкубационную смесь вместо соответствующего субстрата вносили буфер.

Для построения графика зависимости интенсивности биолюминесценции от концентрации НАД(Ф)Н (калибровочный график) 200 мкл стандартного раствора НАД(Ф)Н в диапазоне 10^{-9}-10^{-4} М вносили в кюветы биолюминометра, содержащие биолюминесцентные реактивы в концентрациях, указанных выше, после чего проводилось измерение интенсивности биолюминесценции.

В связи с широким диапазоном pH буферов, используемых для определения дегидрогеназной активности, а также pH- зависимостью биолюминесценции ферментативной системы из светящихся бактерий, калибровочные графики строились для каждого pH буфера (рисунок1).

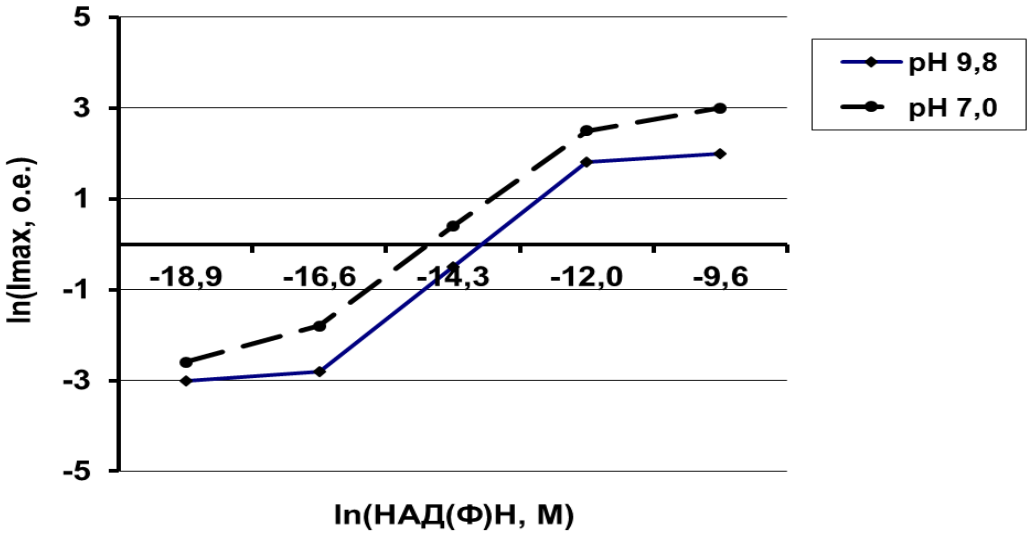

Рисунок 1. Интенсивность биолюминесценции НАД(Ф)Н: ФМНоксидоредуктазы-люциферазы в зависимости от концентрации НАД(Ф)Н и pH буфера.

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{\Delta C * V * 10^{-6}}{T};$$

где Δ[С] - разница концентраций НАД(Ф)H_2 в пробах «фермент» и «фон фермента»;

V - объем пробы в миллилитрах;

Т - время инкубации в минутах.

Активность НАД(Ф) зависимых дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах на 10^4 клеток, где I Е=1мкмоль/мин.

2.2.6. Статистические методы исследования

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., 2004). Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 процентилей (С25 и С75). Нормальность распределения проверялась методом Колмагорова-Смирнова. Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни с поправкой Бонферрони, связанных групп – Фридмана (S) и Вилкоксона (Т) с поправкой Бонферрони. Для исследования силы взаимосвязей показателей проведена корреляция по Спирмену (ρ) (О.Ю. Реброва, 2002). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05. Результаты статистической обработки сведены в таблицах и использованы в рисунках.

Для решения системного анализа использовался нейросетевой анализ [18]. Нейронные сети созданы с помощью программы «Panalyzer-2004» [19]. Нейросетевой классификатор и предиктор представляет собой компьютерную программу, способную к самообучению и принятию на основе него решений. Нейросеть представляет собой число нейронов (максимальное число которых соответствует числу введенных показателей + 2) и матрицей синапсов (связи между нейронами). Входные данные подаются на входные нейроны. Выходные

сигналы снимаются с выходных нейронов. Обучение нейронной сети проводится методом обратного распространения ошибки. Входными данными при обучении программы является обучающая выборка, состоящая из отдельных примеров, каждый из которых представляет собой определенный набор исследуемых параметров одного человека. Все примеры обучающей выборки нейросетевого классификатора разбиты на 2, в отношении которых и решается задача классификации. Класс — это выбор одного из нескольких возможных вариантов ответа . Каждому примеру в обучающей выборке для нейросетевого предиктора соответствует заранее известное действительное число (например, один из исследуемых параметров), в отношении которого и проводится обучение. Следовательно, предиктор работает как система, самостоятельно находящая функцию зависимости ответа от нескольких обучающих параметров Y=f (X1, X2,...,Xn). Степень обученности нейросети характеризуется значением функции оценки, которое в процессе обучения стремится к минимуму. В процессе обучения программа способна исключать из обучающей выборки примеры, которые не вписываются в заданную классификационную или предикторную модель, что позволяет создавать новый, уточненный вариант модели. По окончанию обучения программа вычисляет информативность обучающих параметров. Для этого включаются несколько циклов обучения нейронной сети с внесением в матрицу синапсов случайного вклада после прохождения каждого цикла. Дополнительным свойством нейросетевого классификатора является подсчет степени уверенности, с которой нейросеть обучилась распознавать примеры по соответствующему классу [18]. Степень уверенности подсчитывается для каждого примера отдельно и для всей выборки в целом.

2.2.7. Перечень и объем выполненных исследований

В таблице 4 приведена характеристика материалов исследования и объёма проведенных работ.

Таблица 4

Объём выполненных исследований

Методы исследования	Здоровые	Больные	Всего
Анкетирование больных	209	152	361
Передняя риноскопия		152	152
Специфическое аллергологическое обследование		152	152
Иммунный статус определяли методом проточной цитофлуометрии с помощью моноклональных антител: $CD3^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD4^+CD8^+$, CD16/56, $CD3^+$CD16/56, $CD19^+$.	209	152	361
Количественное определение иммуноглобулинов определяли иммуноферментным методом	209	152	361
Цитокиновый статус определяли иммуноферментным методом	209	152	361
Биолюминесцентный анализ определения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови	59	102	161
Количественный и качественный микробный состав слизистой оболочки носа определяли стандартными микробиологическими методами	120	76	196
Всего исследований	1015	1090	2105

ГЛАВА 3. МИКРОБИОЦЕНОЗ СЛИЗИСТОЙ НОСА ПРИ РАЗЛИЧНОМ ГЕНЕЗЕ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА

Проведено исследование микробиоценоза слизистой оболочки носа у больных аллергическим риносинуситом и бронхиальной астмой.

На первом этапе изучен микробный состав верхнего респираторного тракта (слизистой оболочки носа) при риносинуситах и бронхиальной астме (таблица 5). Количество микрофлоры, не требующей коррекции — это 10^3 КОЕ [72]. При изучении микрофлоры слизистой оболочки носа в группах ПРС, АР, АТ и АБА было обнаружено значительное преобладание микроорганизмов, принадлежащих к роду *Staphylococcus, Streptococcus* и *Enterobacteriaceae* относительно контроля (превышает 10^3) по сравнению с группой контроля. Микроорганизмов рода *Enterococcus* при ПРС, как и в группе контроля, не обнаружено, тогда как при АР, АТ и АБА на слизистой оболочке носа их концентрация выше нормы. При этом в группе АБА достоверно выше относительно АТ. В группах ПРС, АР и АБА на слизистой оболочке носа выявлено повышение количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae.*

Сравнение показателей микробиоценоза слизистой оболочки носа в исследуемых группах обнаружило увеличение количества КОЕ/мл бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в группе АР относительно ПРС.

Исследование состава микрофлоры слизистой оболочки носа в группе АТ обнаружило повышение количества *Staphylococcus, Streptococcus* и общего количества микробной флоры по сравнению с группой контроля.

При этом, статистически значимое межгрупповое отличие – это высокое содержание *Enterobacteriaceae* при АР относительно ПРС и микроорганизмов рода *Enterococcus* в группе АБА относительно АТ. Увеличение количества условно-патогенных микроорганизмов может свидетельствовать о более выраженных иммунологических изменениях при атопии (АР) относительно псевдоатопии (ПРС).

Таблица 5

Состав микрофлоры слизистой оболочки носа при различном генезе воспаления и уровне поражения респираторного тракта, Me (C25-C75)

Показатели (КОЕ/мл)	Контроль, n=209 (1)	ПРС, n=68 (2)	АТ, n=37 (3)	АР, n=27 (4)	АБА, n=42 (5)
Staphylococcus spp.	10000 (1000 -10110)	516000 (20000-863000) $P_1<0,001$	1000000 (500000-50000000) $P_1<0,001$	100000 (52500-25050000) $P_1=0,05$	5000000 (1000000-100000000) $P_1<0,001$
Streptococcus spp.	1000 (550-1000)	1000000 (500000-8000000) $P_1<0,001$	500000 (50000-50000000) $P_1<0,001$	50050000 (100000-100000000) $P_1=0,03$	100000000 (10000000-500000000) $P_1<0,001$
Enterococcus spp.	0(0-0)	0(0-0)	1000 (1000-1000) $P_{1,2}<0,001$	5050 (100-10000) $P_{1,2}<0,001$	50000 (10000-500000) $P_{1,2,3}<0,001$
Enterobacteriaceae spp.	1000 (100-10000)	100000 (100000-100000) $P_1<0,001$	10000 (1000-500000)	27500000 (5000000-50000000) $P_{1,2}=0,02$	27500000 (1000000-50000000) $P_1<0,001$
Общее количество	15780 (1000-20800)	2183250 (1046600-6148500) $P_1<0,001$	2104000 (1011000-00000000) $P_1<0,001$	102605050 (5200100-200010000) $P_1=0,02$	278006000 (105001000-51100000) $P_1<0,001$

Примечание: статистически достоверные различия: P_1-с группой контроля; P_2-с группой ПРС; P_3-с группой АТ; P_4-с группой АР.

Исследование количественного состава основной условно-патогенной микрофлоры, являющейся этиологическим фактором развития риносинусита, в том числе и аллергического генеза, при ПРС показало значимые различия с контрольной группой. Так, обнаружено повышении КОЕ *S.pneumoniae* (таблица 6).

Таблица 6

Показатели видового состава микрофлоры слизистой оболочки носа при аллергическом риносинусите, Me (C_{25} - C_{75})

Показатели (КОЕ/мл)	Контроль, n=209 (1)	АР, n=27 (2)	ПРС, n=58 (3)
Str.pneumoniae	1000 (0-1000)	8000 (100-2500)	2500000 (10000 - 3000000) P_1=0,012
Str.haemolyticus	0	1500 (1000-2000) P_1<0,001	10000 (1000 - 15000)
Ent.faecium	0	1000 (10 - 5005) P_1<0,001	0
Ent.faecalis	0	1000 (10 - 10000) P_1<0,001	0
M.catarrhalis	1000 (0-1000)	10000 (100-15000)	15000 (1000 - 42000)
H.influenzae	0	280000 (1200-300000) $P_{1,3}$<0,001	0

Примечание: статистически достоверные различия: P_1 – с группой контроля; P_2 – с группой АР.

При АР на слизистой оболочке носа концентрация условно-патогенных микроорганизмов находилась в контрольном диапазоне, исключение составили бактерии, относящиеся к *H.influenzae*, их количество было значительно выше нормы, которая по данным литературы варьируется в диапазоне $\leq 10^3$. При этом, в группе АР на слизистой оболочке носа обнаружены бактерии *Str.Haemolyticus, Ent.faecium, Ent.faecalis,* которые не выявлены в контрольной группе. В группе ПРС отсутствуют некоторые

постоянные представители условно-патогенной микрофлоры (энтерококки и гемофильная палочка).

Определение видовой принадлежности микроорганизмов, относящихся к роду *Staphylococcus*, установило увеличение общей численности штаммов *S. aureus*, относящихся к коагулазопозитивным стафилококкам в группе АР (таблица 7).

Таблица 7

Показатели видового состава бактерий рода *Staphylococcus*, выделенных со слизистой носа при аллергическом риносинусите, Me (C_{25} - C_{75})

Показатели (КОЕ/мл)	Контроль, n=209 (1)	АР, n=27 (2)	ПРС, n=58 (3)
S.aureus	200 (0 - 200)	15500 (40 - 17000) P_1<0,001	52550 (100 - 500000)
S.epidermidis	1000 (100 - 100000)	10000 (1000 - 10000) P_1<0,001	5000 (1000 - 100000) P_1=0,021
S.haemolyticus	100 (10 - 100)	10000 (100 - 100000) P_1=0,039	55000 (7500 - 2550000) P_1=0,023
S.hominis	5505 (100 - 11000)	300 (90 - 10000) P_1=0,029	750000 (500000 - 1000000) P_2=0,029
S.cohnii	10000 (10000 - 10000)	10000 (1000 - 100000)	0
S.capitis	0	10000 (5500 - 205000)	1000 (1000 - 1000)
S.hyicius	0	5500 (1000 - 10000)	0

Примечание: статистически достоверные различия: P_1 – с группой контроля; P_2 – с группой АРС.

При этом частота встречаемости и количество коагулазонегативных стафилококков также возрастала. Выявлено большое видовое разнообразие микроорганизмов, относящихся к роду *Staphylococcus*: *S. epidermidis, S. haemolyticus, S. hominis, S.cohnii, S.capitis, S.hyicius*. Представляет интерес

наличие на слизистой носовых ходов таких стафилококков как *S.aureus, S.epidermidis, S.haemolyticus, S.hominis, S.cohnii, S.capitis, S.hyicius* при атопии, в группе ПРС – *S.aureus, S.epidermidis, S.haemolyticus, S.hominis, S.capiti*. В контрольной группе штаммов таких видов как *S.capitis* и *S.hyicius* не обнаружено.

В группе АР при подсчете концентрации микроорганизмов, выделенных со слизистой оболочки носа, относящихся к роду *Staphylococcus* выявлено значительное увеличение количества штаммов *S.haemolyticus* относительно контроля. Вместе с тем концентрация штаммов *S.hominis* при ПРС статистически значимо возрастала относительно АР. При этом, в группе ПРС видовой состав бактерий, относящихся к роду *Staphylococcus* на слизистой оболочке носа, был значительно беднее по сравнению с АР.

Состав микроорганизмов, обитающих на слизистой оболочке носа, уже при минимальных отклонениях может являться маркером дисбиотических изменений. В каждой из исследуемых групп повышено общее количество микробной флоры по сравнению с контролем. Таким образом, при истинной аллергической реакции (АР) выявлено численное преобладание условно-патогенных микроорганизмов относительно групп с псевдоаллергией. Увеличение представительства условно-патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и *Enterococcus* на слизистой носа свидетельствует о дисбиотическом изменении и их несомненной роли в развитии аллергического воспаления. Установлено, что при аллергическом риносинусите и бронхиальной астме имеет место выраженный дисбактериоз.

Таким образом, полученные результаты работы расценены нами как явления нарушения микробиоценоза, наступившего вследствие снижения местного и системного иммунитета из-за трофических расстройств слизистой оболочки носовых ходов. Микробный пейзаж слизистой оболочки носа в норме скуднее, чем зева, поэтому любые, даже минимальные отклонения могут быть маркерами проявлений дисбактериоза.

При атопическом риносинусите значительно увеличено количество условно-патогенной флоры относительно контроля. Отличительной межгрупповой особенностью является повышенное содержание семейства *Enterobacteriaceae* при АР относительно ПРС и микроорганизмов рода *Enterococcus* в группе АБА относительно АТ. Сравнивая ПРС и АТ статистически значимых различий не установлено, как и при сравнении АР и АБА. Однако, общее число микробной флоры выше при АТ и АБА относительно контроля.

Таким образом, можно сделать вывод, что для истинных атопических механизмах характерно увеличение условно – патогенной флоры на слизистой оболочке носа относительно контроля.

ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ПОРАЖЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПРИ АТОПИИ И ПСЕВДОАТОПИИ

4.1 Особенности клеточного и гуморального звеньев иммунитета при атопическом и полипозном риносинусите, атопической бронхиальной астме и астматической триаде

Для проведения сравнительной характеристики иммунологических параметров при респираторной аллергии нами был изучен популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови у больных с поражением верхних дыхательных путей – полипозным риносинуситом и аллергическим ринитом и вовлечением в воспалительный процесс нижних дыхательных путей – атопической и аспириновой бронхиальной астмой.

Исследование врожденного, адаптивного иммунитета и фагоцитарного звена может охарактеризовать специфику иммунного ответа для верхнего и нижнего отдела респираторного тракта с учетом генеза воспаления.

При изучении клеточного звена иммунитета при ПРС и АР относительно контроля получены следующие результаты: повышено количество лейкоцитов и содержание $CD19^+$-клеток (Таблица 8, 9). При этом, при обеих формах риносинуситов снижено относительное количество $CD3^+$ - клеток, абсолютное и относительное количество $CD4^+$- лимфоцитов относительно контроля. Сравнение показателей клеточного звена иммунитета в группах ПРС и АР не обнаружило достоверных различий.

Проведенное изучение клеточного звена иммунитета у пациентов с наличием бронхиальной астмы относительно контроля выявило следующие результаты: в группе АТ и АБА повышено количество лейкоцитов и относительное

Таблица 8

Показатели клеточного звена иммунитета в зависимости от уровня поражения дыхательных путей, Me (C_{25}-C_{75}).

Показатели	Здоровые, n=209 (1)	ПРС, n=64 (2)	АТ, n=37 (3)	АР, n=27 (4)	АБА, n=42 (5)
Лейкоциты (10^9/л)	5,25 (4-6,25)	6,50 (4,75-8,50) p_1<0,001	6,55 (5,50-8,05) p_1=0,003	6,50 (5,00-8,40) p_1<0,001	6,55 (5,30-8,00) p_1<0,001
Лимфоциты (%)	40,0 (35,0-47,0)	32,0 (19,0-44,0) p_1<0,001	28,0 (24,5-40,5) p_1<0,001	32,0 (19,0-39,0) p_1<0,001	28,0 (23,0-39,0) p_1<0,001
$CD3^+$ (%)	69,0 (64,0-76,1)	63,0 (57,0-74,0) p_1=0,003	69,5 (65,0-78,0) p_2=0,006	64,0 (63,0-69,0) p_1=0,02	68,0 (63,0-74,4)
$CD4^+$ (%)	42,4 (35,7-47,3)	36,0 (27,0-42,0) p_1<0,001	43,0 (32,0-48,0) p_2=0,03	38,5 (31,0-41,0) p_1=0,02	37,6 (32,0-45,0)
$CD4^+$ (10^9/л)	0,80 (0,64-1,19)	0,69 (0,42-0,87) P_1<0,001	0,84 (0,55-1,27)	0,65 (0,49-0,80) p_1=0,02	0,63 (0,43-1,25)
$CD8^+$ (%)	26,0 (22,4-30,7)	27,50 (22,0-35,0)	29,5 (25,0-35,0) p_1=0,02	29,0 (23,0-33,0)	31,0 (24,0-36,0) p_1=0,02
$CD16^+$ (%)	15,5 (11,0-20,0)	18,0 (9,0-23,0)	13,0 (11,0-16,0) p_2=0,04	16,2 (14,0-21,0)	16,0 (12,0-22,0)
$CD16^+$ (10^9/л)	0,31 (0,19-0,45)	0,34 (0,18-0,55)	0,21 (0,16-0,34) p_1=0,05	0,26 (0,17-0,49)	0,28 (0,21-0,54)

Примечание: статистически достоверные различия: P_1-с группой контроля; P_2-с группой ПРС; P_3-с группой АТ; P_4-сгруппой АР.

содержание $CD8^+$-клеток.

Сравнение особенностей показателей клеточного звена иммунитета в группе ПРС по сравнению с АТ выявляет уменьшение относительного количества $CD3^+$- и $CD4^+$- на фоне увеличения количества $CD16^+$ - и $CD19^+$-клеток. Таким образом, увеличение абсолютного содержания $CD19^+$ - клеток и снижение абсолютного и относительного количества CD4+-лимфоцитов при ПРС относительно контроля противоположны изменениям в группе АТ относительно контроля.

При сравнении показателей клеточного звена в группе АР по сравнению с АБА выявлено увеличение относительного количества $CD19^+$-клеток.

Показатели гуморального звена иммунитета у пациентов с ПРС по сравнению с показателями контрольной группы обнаружено увеличение концентрации C3d и снижение концентрации sIgA (таб.9). Содержание $CD19^+$ повышено при АР и ПРС как относительно контроля, так и относительно обеих форм БА. Вероятно, при расширении площади аллергического воспаления, наблюдается вовлечение как клеточных, так и гуморальных факторов иммунитета.

Концентрация sIgA снижена во всех группах относительно контроля. Однако, в группе АР она статистически значимо выше, чем в группах ПРС и АБА. Это может быть вызвано тем, что более выраженные (относительно псевдоаллергических заболеваний) дисбиотические изменения слизистой оболочки носа при атопии могут компенсаторно увеличивать выработку sIgA. Далее, при прогрессировании патологии (при АБА), концентрация sIgA становится ниже. Содержание ЦИК–C1q увеличено в группе АР относительно ПРС. Этот компонент связан с классическим путем комплемента, что характерно для атопических механизмов, так как при классическом пути вовлекаются иммуноглобулины. Концентрации ЦИК–C3d выше в группах ПРС, АТ и АБА относительно контроля. C3d – это компонент альтернативного пути. В отличии от классического, в его активации не участвуют иммуноглобулины. Активировать его могут липополисахариды клеточных стенок, без предшествующего образования комплекс антиген-антитело.

Таблица 9

Показатели гуморального звена иммунитета в зависимости от генеза и уровня поражения дыхательных путей, Me (C_{25}-C_{75}).

Показатели	Здоровые, n=209 (1)	ПРС, n=64 (2)	АТ, n=37 (3)	АР, n=27 (4)	АБА, n=42 (5)
$CD19^+$ (%)	14,0 (10,8-18,5)	18,0 (12,0-21,0)	12,0 (9,0-16,0) p_2=0,004	17,0 (14,0-19,0) p_1<0,001	14,0 (10,5-17,0) p_4=0,007
$CD19^+(10^9/л)$	0,30 (0,19-0,43)	0,35 (0,19-0,54) p_1<0,001	0,23 (0,20-0,26)	0,25 (0,22-0,39)	0,23 (0,19-0,30)
IgA(г/л)	1,65 (0,78-3,07)	1,76 (1,09-2,55)	2,00 (1,50-2,20)	1,77 (1,19-2,83)	2,00 (1,40-2,40)
IgM(г/л)	1,37 (0,44-3,34)	1,30 (0,91-1,92)	1,20 (1,00-1,40)	1,77 (1,19-2,83)	0,80 (0,50-1,40)
IgG(г/л)	12,79 (5,21-20,80)	11,15 (7,20-13,41)	9,90 (8,10-11,99)	1,35 (1,10-1,60)	10,10 (6,90-12,40)
sIgA МЕ/мл (назальные смывы)	20,00 (10,00-47,00)	3,20 (0,45-12,30) p_1=0,03	0,10 (0,10-0,10) p_1<0,001	10,40 (7,20-13,00) P_2<0,001	0,10 (0,10-0,10) p_4<0,001
Clq	1,7 (0,10-3,00)	2,10 (1,80-2,70)	2,00 (1,45-3,45)	73,00 (17,75-144,00) p_2=0,03	2,00 (1,60-2,30)
C3d	6,00 (3,00-9,00)	14,30 (10,50-33,60) p_1=0,02	21,60 (14,80-31,40) p_1<0,001	1,60 (1,60-1,60)	12,60 (7,00-23,50) p_1<0,001
Фагоцитарное число	4,9 (4,10-6,70)	8,40 (4,50-9,20)	4,80 (3,20-5,30) p_2=0,05	15,00 (8,00-34,00) p_1<0,001	4,50 (4,00-6,00)

Примечание: статистически достоверные различия: P_1–с группой контроля; P_2–с группой ПРС; P_3–с группой АТ; P_4–с группой АР.

Таким образом, при ПРС и АТ, где отсутствует фаза сенсибилизации, антигены могут инициировать каскад реакций системы комплемента.

Рассматривая факт повышения ЦИК– С3d при обеих формах БА, независимо от генеза, можно предположить, что высокая нагрузка аллергенами, может вовлекать альтернативный путь. Конечно, с учетом распространения патологии на фоне дисфункции иммунитета повышение ЦИК может быть вызвано присоединением инфекции.

Таким образом, для аллергического риносинусита, независимо от генеза аллергического воспаления, характерны однотипные реакции: повышено количество лейкоцитов и содержание $CD19^+$-клеток, при этом снижено относительное количество $CD3^+$ - клеток, абсолютное и относительное количество $CD4^+$- лимфоцитов. Отличительной особенностью было высокое содержание ЦИК–С1q и sIgA в группе АР.

Для бронхиальной астмы, независимо от генеза, характерно высокое количество лейкоцитов и относительного содержания CD8+ и низкое содержание относительного количества $CD19^+$-клеток относительно контроля.

Сравнение особенностей показателей иммунитета в группе ПРС по сравнению с АТ выявляет уменьшение относительного количества CD3+- и CD4+- на фоне увеличения количества $CD16^+$ - и CD19 $^+$-клеток. Статистически значимо снижено фагоцитарное число при АТ относительно ПРС.

При изучении особенностей иммунитета в группе АР по сравнению с АБА выявлено высокое относительное количество CD19 +-клеток и концентрации sIgA.

4.2. Концентрация IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN-γ и TNFα в периферической крови и назальных смывах при атопическом и полипозном риносинусите, атопической бронхиальной астме и астматической триаде

Клетки иммунной системы продуцируют особые вещества – цитокины, с помощью которых они осуществляют регуляцию межклеточных взаимодействий.

Именно цитокины регулируют воспалительный ответ и определяют его специфику. Цитокины – это важнейшие регуляторы межклеточных взаимодействий, влияющие на тип иммунного ответа: распознавание антигена, ростовые факторы формирования специфических клонов лимфоцитов, реализация эффекторных функций [48]. Поэтому, по изменению состава цитокинов и их концентрации, возможно установить приоритетные механизмы иммунного реагирования.

Ввиду того, что бронхиальная астма часто сочетается с ринитом, схожесть генеза воспаления дают право рассматривать бронхиальную астму и аллергический ринит как единую болезнь респираторного тракта (one way, one disease, allergicrhinobronchitis). Но эти заболевания имеют и различия, так как есть морфологические различия в строении верхних и нижних дыхательных путей. Патогенез воспалительных процессов в дыхательных путях на сей день является дисскутабельным вопросом и этим объясняется актуальность изучения цитокиного профиля при каждой из вариантов патологии дыхательных путей. Подобные исследования уровня цитокинов содержат противоречивые выводы [266,267].

Нами изучена концентрация цитокинов, участвующих в регуляции клеточных и гуморальных механизмов иммунного ответа у больных с различным уровнем поражения респираторного тракта.

Так, оценка местного и системного уровня цитокинов в группе ПРС относительно контроля обнаружило высокое количество IL-2 и IFN-γ в сыворотке и назальных смывах, IL-6, IL-10 только в сыворотке крови. На фоне этого обнаружено уменьшение концентрации IL-4 в сыворотке крови при ПРС.

Оценка цитокинового профиля в группе АР обнаружила снижение концентрации IFN-γ и TNFα в сыворотке крови и высокое содержание IL-4 относительно контроля, что характеризует Th2 поляризацию иммунного ответа.

Сравнение уровня цитокинов в группе ПРС относительно АР обнаружило повышение концентраций IFN-γ и TNFα в сыворотке крови (Таблица 10,11). Таким образом, для псевдоаллергического риносинусита характерна активация Th1-ответа, маркером которого является IFN-γ.

Таблица 10

Концентрации цитокинов в сыворотке крови в зависимости от генеза и уровня воспаления респираторного тракта, Me (C_{25}-C_{75})

Показатели (пг/мл)	Здоровые, n=209 (1)	ПРС, n=64 (2)	АТ, n=37 (3)	АР, n=27 (4)	АБА, n=42 (5)
IL-2	1,45 (0,10-4,05)	6,00 (0,10-30,00) p_1= 0,04	7,25 (6,33-15,22) p_1<0,001	0,10 (0,10-0,30)	7,40 (6,70-7,90) p_1<0,001
IL-4	4,80 (1,70-8,50)	0,10 (0,10-7,75) p_1<0,001	7,60 (6,30-13,07) $p_{1,2}$<0,001	9,10 (8,50-12,50) $p_{1,2}$<0,001	8,40 (8,30-8,60) p_1<0,001 p_3=0,006
IL-6	1,30 (0,10-2,10)	6,60 (0,10-21,05) p_1<0,001	0,10 (0,10-0,10) p_1=0,003 p_2<0,001	7,20 (6,30-15,60) $p_{1,2}$<0,001	0,10 (0,10-2,10)
IL-10	3,50 (0,80-5,40)	9,05 (5,25-13,90) p_1= 0,002	5,95 (3,50-7,40) p_1= 0,03	0,10 (0,10-0,10)	1,95 (0,30-7,30)
IFN-γ	0,10 (0,10-0,10)	29,10 (18,40-209,60) p_1<0,001	39,20 (29,40-320,00) $p_{1,2}$<0,001	0,10 (0,10-1,00) $p_{1,2}$<0,001	31,00 (27,00-37,60) $p_{1,4}$<0,001 p_3=0,008
TNFα	7,25 (0,90-27,70)	17,80 (0,10-27,80)	44,00 (32,20-45,30) p_1<0,001 p_2=0,02	2,50 (0,00-15,00) p_1=0,05 p_2=0,04	17,80 (13,60-36,40) p_4=0,03

Примечание: статистически достоверные различия: p_1-с группой контроля; p_2-с группой ПРС; p_3-с группой АТ; p_4-с группой АР.

Таблица11

Показатели концентрации цитокинов в назальных смывах в зависимости от генеза и уровня поражения респираторного тракта, Me (C_{25}-C_{75})

Показатели (пг/мл)	Здоровые, n=209 (1)	ПРС, n=64 (2)	АТ, n=37 (3)	АР, n=27 (4)	АБА, n=42 (5)
IL-2	0,10 (0,10-0,10)	8,40 (0,10-10,75) p_1<0,001	8,10 (7,80-8,80) p_1<0,001	0,10 (0,10-0,20)	8,20 (7,80-8,60) p_1<0,001
IL-4	2,00 (0,10-8,00)	0,10 (0,10-9,75)	4,50 (0,55-17,00)	10,75 (9,00-11,15) p_1<0,001	11,20 (10,80-11,50) p_1<0,001, p_3=0,04
IL-6	0,10 (0,10-3,50)	3,00 (0,10-10,00)	0,10 (0,10-2,60)	3,00 (0,00-4,40)	0,10 (0,10-3,25)
IL-10	0,10 (0,10-0,20)	8,80 (1,15-11,60)	13,55 (10,70-18,00)	0,10 (0,10-0,20)	15,70 (13,70-23,00)
IFN-γ	0,10 (0,10-0,10)	30,20 (0,10-31,00) p_1=0,006	31,20 (28,80-33,50) p_1<0,001	2,50 (0,00-27,50)	29,60 (28,00-32,20) p_1<0,001

Примечание: статистически достоверные различия: p_1-с группой контроля; p_2-с группой ПРС; p_3-с группой АТ; p_4-с группой АР.

Анализ местного и системного уровня цитокинов в группах с БА показал, что концентрации таких цитокинов как IL-2, IL-4, IFN-γ, TNFα были повышены и снижено содержание IL-6 сыворотке крови в группах АТ и АБА относительно контроля. Отличительной чертой было высокая концентрация IL-10 при АТ относительно контроля.

Сравнение уровня цитокинов в группах АТ и АБА обнаружило достоверные различия, так, в группе АТ понижена местная и системная концентрация IL-4 относительно АБА. Так же, в группе АТ повышено содержание IFN-γ и TNFα в сыворотке крови относительно АБА.

В группе АБА содержание IL-2, IFN-γ и TNFα в сыворотке крови выше, чем при АР и в группе контроле, а концентрация IL-4 выше относительно группы контроля, но ниже, чем при АР.

При сравнении концентрации цитокинов при АТ и ПРС обнаружен повышенный уровень IL-4, IFN-γ и TNFα и снижено системное содержание IL-6.

Таким образом, для АТ и БА характерны смешанные механизмы иммунного реагирования. При этом, для АТ на местном уровне установлен Th1- ответ за счет высокого содержания IFN-γ и IL-2. Можно сделать вывод, что для ПРС и АТ на системном уровне характерны смешанные механизмы иммунного реагирования за счет цитокинового дисбаланса, но концентрация цитокинов в назальных смывах свидетельствует о направленности в сторону Th1-лимфоцитов. Проводя сравнения между группами АР и АБА можно сказать, что для АР установлен типичный Th2-иммунный ответ, а при АБА Th2 поляризацию мы видим на местном уровне, в то время как на системном уровне наблюдаются смешанные механизмы.

ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ НАД(Ф)Н-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ПОРАЖЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПРИ АТОПИИ И ПСЕВДОАТОПИИ

Одним из перспективных направлений, позволяющих охарактеризовать патогенез нарушения реактивности иммунной системы при аллергии является изучение метаболизма клеток иммунной системы. В настоящее время доказано, что уровень иммунореактивности определяется не только морфологическим составом клеток и концентрацией иммуноглобулинов в сыворотке крови, но и уровнем метаболических процессов в клетках, которые в значительной степени определяют функциональную активность лимфоцитов.

Изучение концентрации НАД-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов выявило статистически значимое повышение концентраций Г6ФДГ, НАД-МДГ и НАД-ИЦДГ при ПРС относительно группы контроля. Концентрация НАД-ЛДГ и НАД-ИЦДГ выше в группе АР относительно группы контроля (рис.2).

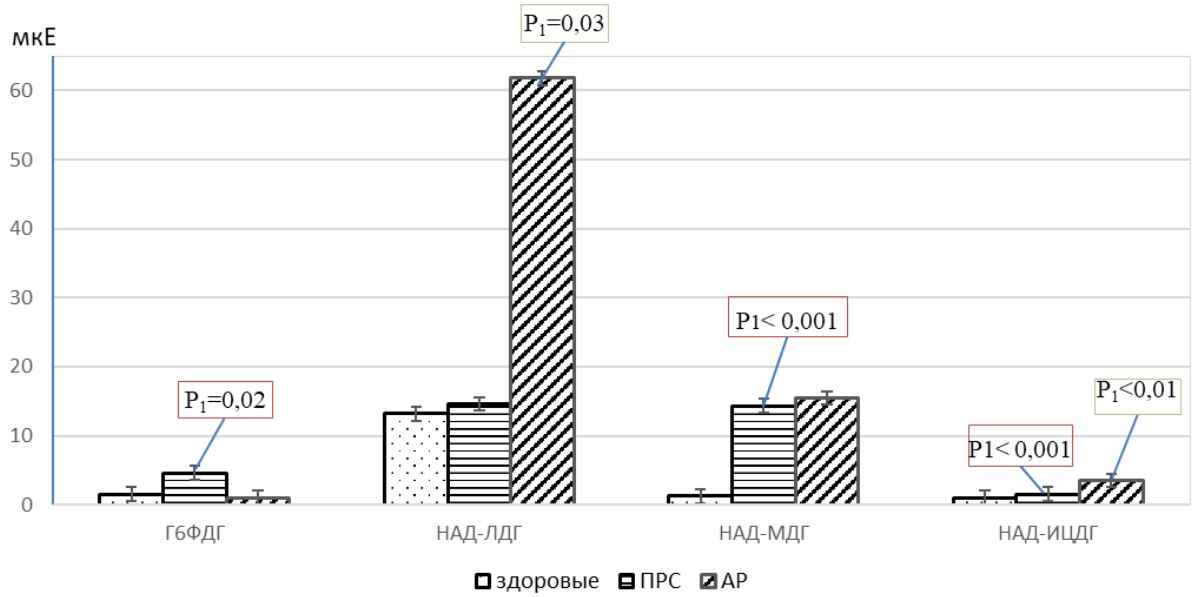

Рисунок 2. Активность НАД -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, ПРС и АР

Изучение концентрации НАДН-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов выявило статистически значимое повышение концентрации НАДН-МДГ при ПРС относительно группы контроля. Концентрация НАДН-ГДГ ниже в группе АР

относительно группы контроля (рис.3).

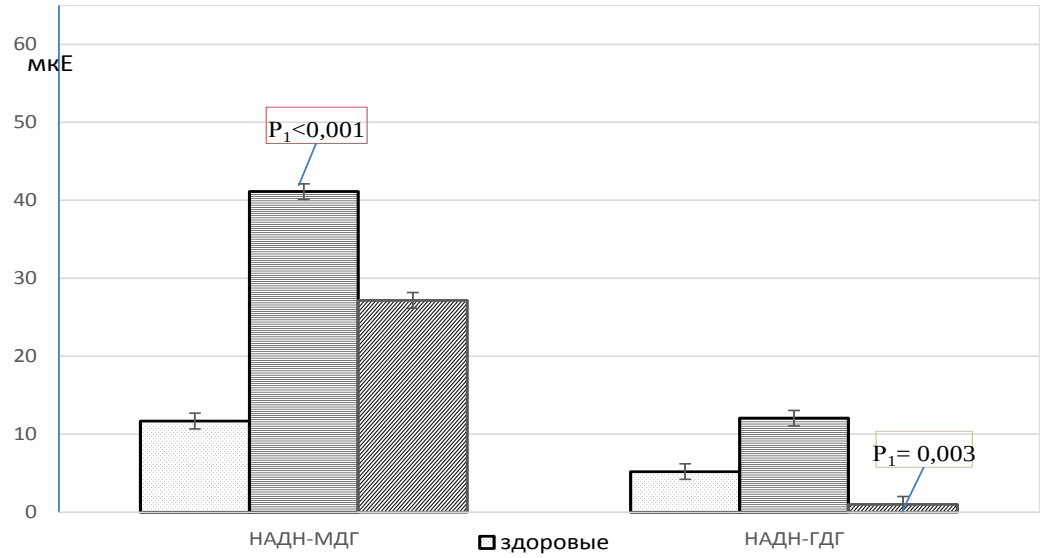

Рисунок 3. Активность НАДН -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, ПРС и АР

Изучение концентрации НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов выявило повышение концентраций НАДФ-МДГ и НАДФ-ИЦДГ при ПРС и АР относительно группы контроля. Концентрация НАДФН-ГДГ ниже в группе АР относительно группы контроля (рис.4).

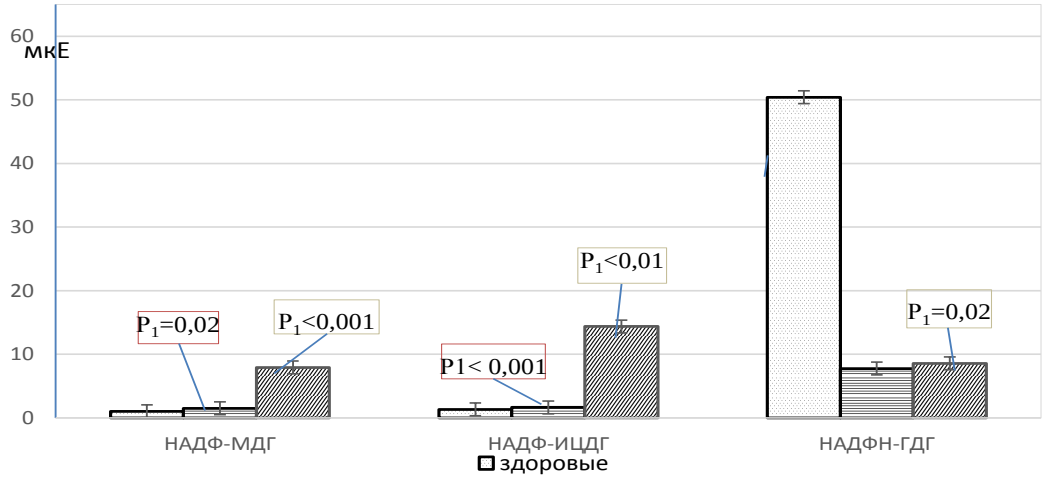

Рисунок 4. Активность НАДФ -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, ПРС и АР

Изучение концентрации НАДФ-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов выявило повышение концентраций НАД-МДГ и ГР увеличены при АТ относительно группы контроля. Концентрация НАДФН-ГДГ ниже в группе АР относительно группы контроля. Содержание фермента Г6ФДГ выше в группах при ПРС и АТ (рис.5).

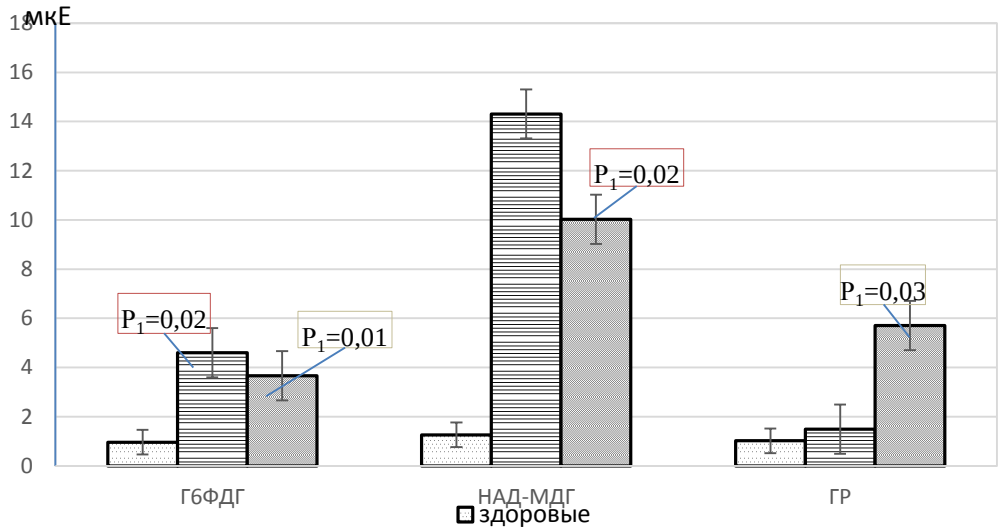

Рисунок 5. Активность НАД -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, ПРС и АТ.

Концентрация НАДН-ЛДГ в группе АТ статистически значимо выше относительно группы контроля и группы ПРС. Концентрация НАДН-МДГ в группе АТ и группе ПРС выше относительно группы контроля (рис.6).

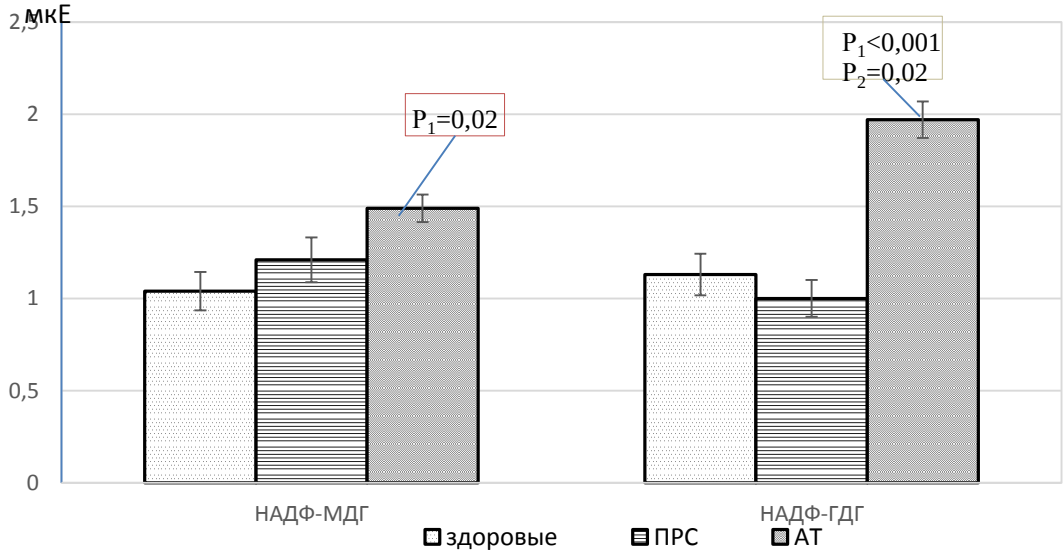

Рисунок 6. Активность НАДН -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, ПРС и АТ

В группах с псевдоатопией содержание фермента НАДФ-МДГ статистически значимо выше в группе АТ относительно группы контроля. Концентрация НАДФ-ГДГ выше в группе АТ относительно группы контроля и ПРС (рис.7).

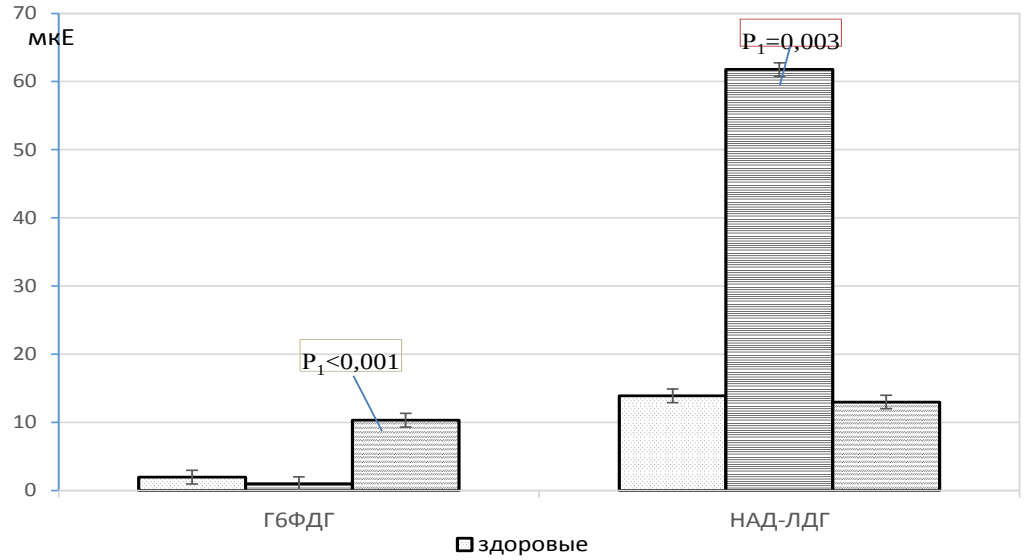

Рисунок 7. Активность НАД(Ф) -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, ПРС и АТ

В группе с псевдоатопией выявлено статистически значимое повышение концентрации Г6ФДГ в группе АБА относительно контроля. Концентрация фермента НАД-ЛДГ выше относительно группы контроля (рис.8).

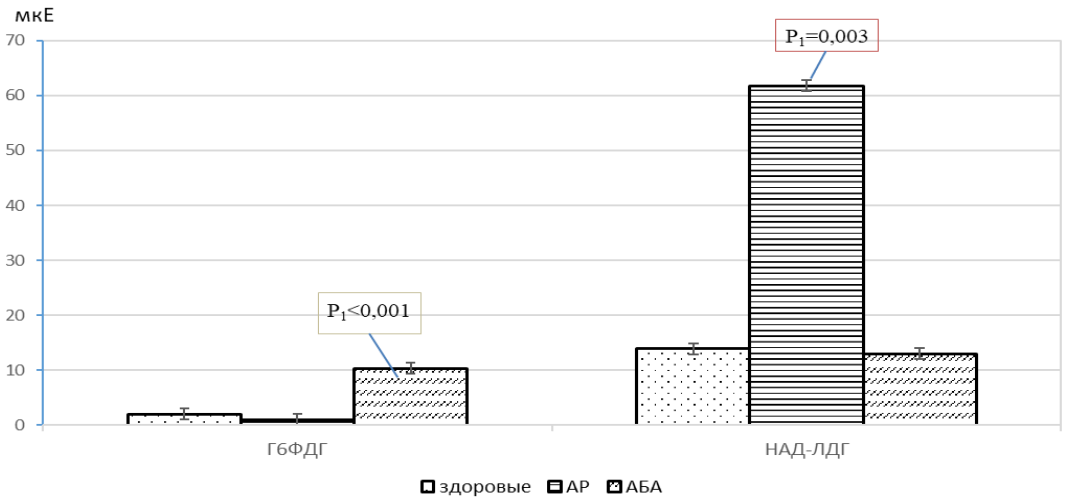

Рисунок 8. Активность НАД(Ф)Н -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, АР и АБА

В группе АБА содержание НАДН-ЛДГ выше относительно группы контроля и АР. Концентрация НАДН-МДГ выше в группе АБА относительно контроля. Концентрация фермента НАДН-ГДГ статистически значимо выше при АБА и ниже при АР относительно группы контроля (рис.9).

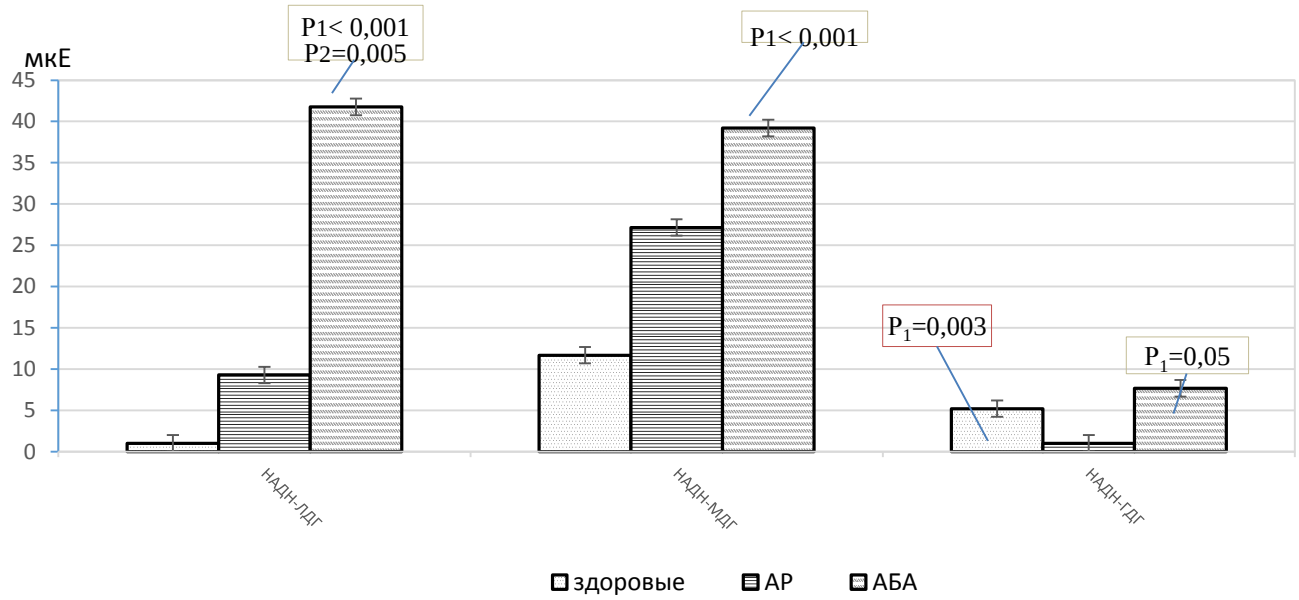

Рисунок 9. Активность НАД(Н) -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, АР и АБА

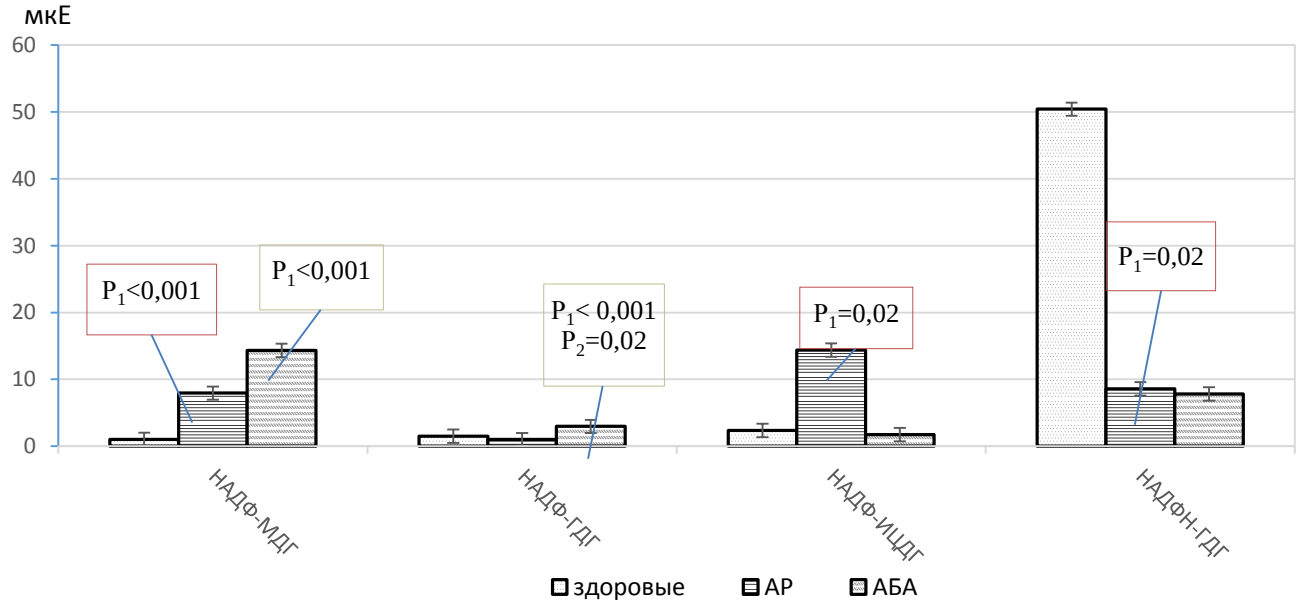

Рисунок 10. Активность НАД(Ф) -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, АР и АБА

Концентрация фермента НАДФ-МДГ статистически значимо выше при АР и

АБА относительно группы контроля. Содержание НАДФ-ГДГ статистически значимо выше при АБА относительно группы контроля и группы АР. Концентрация фермента НАДФ-ИЦДГ и НАДФН-ГДГ статистически значимо выше при АР относительно группы контроля (рис.10).Содержание ферментов Г6ФДГ и ГР статистически значимо выше в группах АТ и АБА относительно контроля. При этом, концентрация ГР статистически значимо выше в группе АБА относительно группы АТ (рис.11).

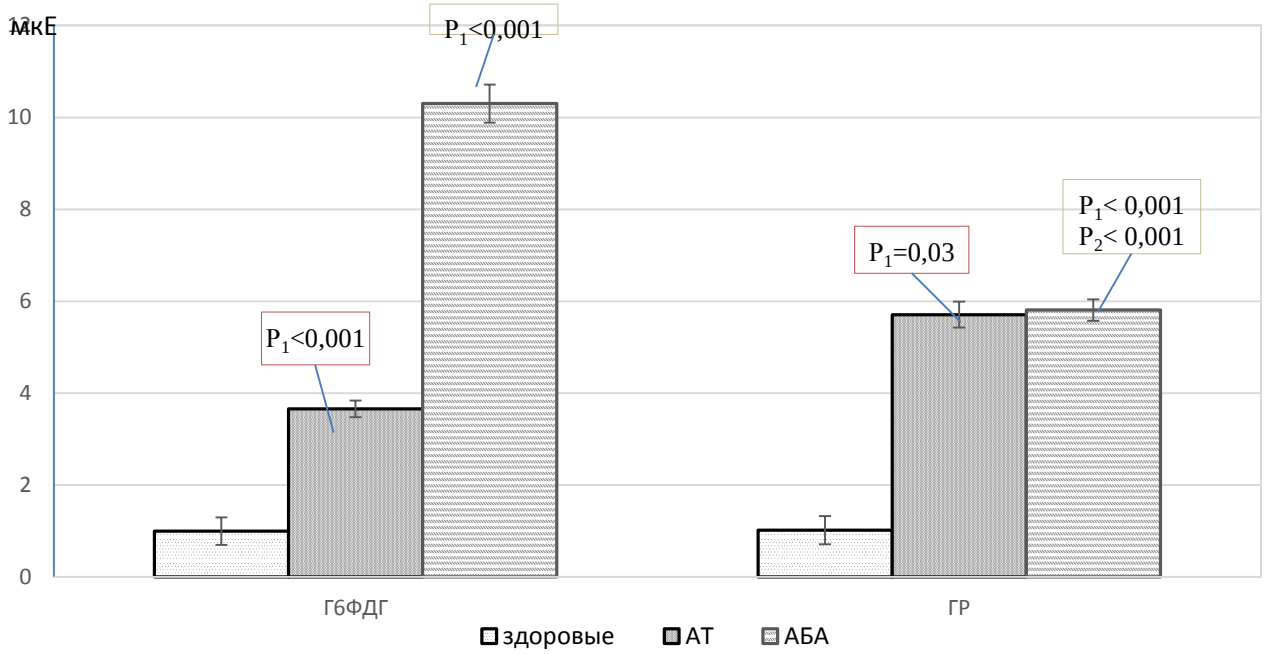

Рисунок 11. Активность НАД(Ф)Н -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, АТ и АБА

Содержание НАДН-ЛДГ и НАДН-МДГ статистически значимо выше в группах АТ и АБА, а концентрация НАДН-ГДГ статистически значимо выше относительно контроля (рис.12).

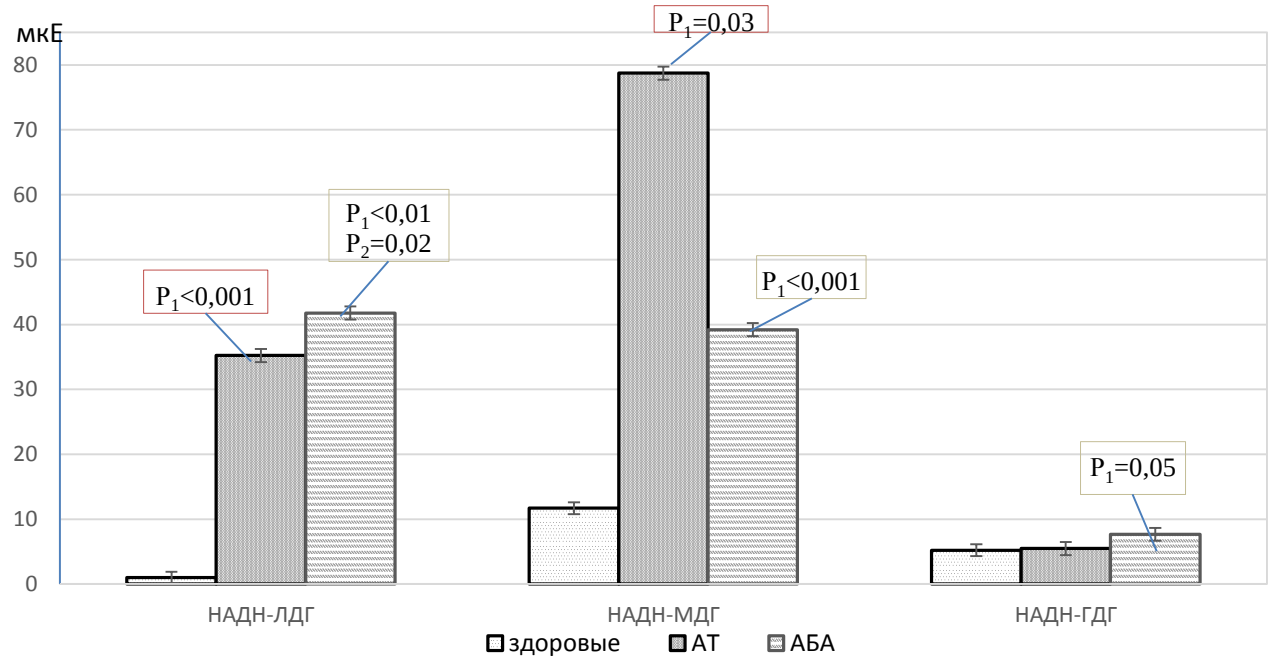

Рисунок 12. Активность НАДН -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, АТ и АБА

Изучение концентрации НАДФ-МДГ и НАДФ-ГДГ в лимфоцитах крови выявило статистически значимые увеличения в группах АТ и АБА относительно контроля (рис.13).

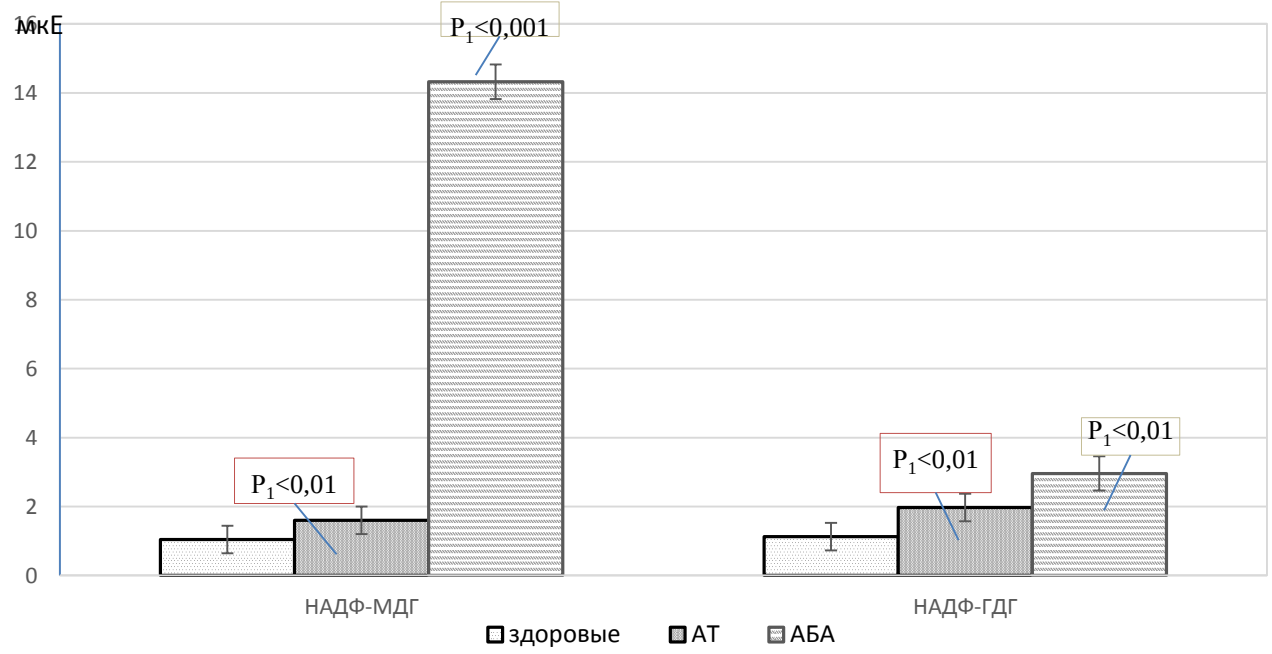

Рисунок 13. Активность НАД(Ф) -зависимых дегидрогеназ в группе контроля, АТ и АБА.

Таким образом, исследование активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови в исследуемых группах показало увеличение уровня Г6ФДГ-фермента пентозофосфатного цикла, уровней МДГ, НАДФМДГ и НАДН-МДГ относительно контроля. В результате повышается уровень пентозофосфатного пути окисления глюкозы, следовательно, активированы реакции макромолекулярного синтеза, нуждающиеся в НАДФН и рибозо-5-фосфате, на это указывает повышение уровня ключевого и инициирующего фермента пентозофосфатного пути – Г6ФДГ [7]. При этом в исследуемых группах наблюдается активация цикла трикарбоновых кислот, являющегося конечным путем окисления углеводов, белков и липидов и поставляющего водородные эквиваленты в дыхательную цепь, на это указывает повышение уровня активности НАД- и НАДН-зависимых реакций МДГ. Кроме того, увеличение активности НАДН-зависимой реакции МДГ, устраняет избыточное образование оксалоацетата, который способен ингибировать цикл Кребса на уровне сукцинатдегидрогеназы. В группе АР по сравнению с контролем увеличена активность аэробной ЛДГ–фермента, характеризующего способность клеток метаболизировать лактат. Увеличение уровня ЛДГ, по-видимому, полностью компенсирует недостаточность гликолиза, что подтверждается активированием ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот – МДГ и НАДИЦДГ. Метаболические особенности лимфоцитов крови в группе АБА характеризуются активацией обменных процессов в лимфоцитах. Наблюдается увеличение уровня как НАДФГДГ так и НАДНГДГ, вспомогательных ферментов, участвующих в катаболизме и анаболизме аминокислот. Повышение концентрации фермента ГР может свидетельствовать об интенсификации антиоксидантных процессов в клетках. При ПРС в лимфоцитах крови при повышенном оттоке глюкозы в пентозофосфатный путь, уровень реакций гликолиза будет снижен. Вследствие этого снижается уровень анаэробной реакции ЛДГ, при повышении уровня малик-фермента, регулирующего липидный обмен и активности НАДН-зависимой реакции МДГ, характеризующей увеличение потока продуктов катаболизма аминокислот на реакции цикла Кребса. В группе АТ увеличено уровней НАДФ-МДГ, НАДН-МДГ, ГР и НАДН-ГДГ, при этом снижено

содержание НАДН-ЛДГ и НАДФ-ГДГ относительно АБА. При этом повышается уровень НАДН-МДГ, активация которого способствует, с одной стороны, притоку продуктов аминокислотного обмена на реакции цикла Кребса, с другой - устранению высоких концентраций оксалоацетата, которые могут оказывать ингибирующее действие на сукцинатдегидрогеназу. Вместе с тем снижается отток α-кетоглутората из цикла Кребса, вследствие снижения уровня НАДН-зависимая НАДФГДГ по сравнению с АБА. Также, происходит усиление антиоксидантной активности, вследствие повышения активности ГР.

ГЛАВА 6. КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ И НЕЙРОСЕТЕВОЙ АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ, МЕТАБОЛИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ПОРАЖЕНИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПРИ АТОПИИ И ПСЕВДОАТОПИИ

6.1 Корреляционный анализ иммунологических, метаболических и микробиологических показателей при атопическом риносинусите и атопической бронхиальной астме, полипозном риносинусите и астматической триаде

При исследовании корреляционных взаимосвязей между изученными параметрами в исследуемых группах были выявлены общие иммунологические корреляционные связи для всех групп (ПРС, АТ, АР, АБА) были: отрицательная взаимосвязь между относительным содержанием $CD3^+$- и $CD19^+$-клеток (соответственно r=-0,77 P<0,001; r=-0,52 P=0,008; r=-0,52 P<0,008; r=-0,56 P<0,001), между $CD4^+/CD8^+$ и процентным содержанием $CD8^+$-клеток (соответственно r=-0,56 P<0,001; r=-0,9 P<0,001; r=-0,92 P<0,001; r=-0,95 P<0,001); положительная корреляция между общей фракцией лимфоцитов и абсолютными концентрациями $CD4^+$- и $CD16^+$-клеток (r=0,67 P<0,001; r=0,59 P<0,001; r=0,7 P=0,0004; r=0,63 P<0,0019; r=0,73 P<0,001;).

В группах ПРС, АР и АБА найдена общая положительная корреляционная взаимосвязь между относительным содержанием лимфоцитов и абсолютным - $CD19^+$-клеток (r=0,73 P<0,001; r=0,8 P<0,000007; r=0,65 P=0,004); между абсолютными концентрациями $CD4^+$-клеток и процентным и абсолютным содержанием лимфоцитов (r=0,61 P<0,001; r=0,83 P<0,001; r=0,61 P<0,001; r=0,68 P<0,001; r=0,67 P<0,001).

В группах ПРС и АР общие корреляционные взаимосвязи: положительная взаимосвязь между абсолютными концентрациями $CD3^+$- и $CD19^+$-клеток (r=0,68 P<0,001; r=0,7 P<0,001;); отрицательная взаимосвязь между процентным содержанием $CD3^+$- и абсолютным содержанием $CD16^+$-клеток (r=-0,52 P<0,008; r=-0,5 P<0,001).

В группах АТ и АБА выявлены общие корреляции: положительная между абсолютными концентрациями $CD4^+$-клеток и $CD4^+/CD8^+$(r=0,6 P=0,003; r=0,81 P<0,001), отрицательная между процентным содержанием $CD4^+$- и процентным содержанием $CD8^+$-клеток (r=-0,6 P<0,0001; r=-0,95 P<0,001) и положительная взаимосвязь между концентрацией IL-10 в крови и концентрацией IL-4 в назальном секрете (r=0,86 P=0,001).

В группах АР и АБА выявлены положительные взаимосвязи между абсолютной концентрацией $CD8^+$- и $CD19^+$-клеток (r=0,6 P=0,002; r=0,53 P<0,001); между абсолютной концентрацией $CD16^+$-клеток и процентным содержанием лимфоцитов (r=0,6 P<0,002; r=0,73 P<0,001).

Специфическими корреляциями для группы ПРС была положительная взаимосвязь между содержанием IgG и фагоцитарным числом (r=0,51 P=0,026), между концентрацией TNFα в сыворотке крови и абсолютным содержанием CD4+- и CD8+-клеток (r=0,54 P=0,006); между концентрацией IFN-γ в назальном секрете и содержанием Clq и IgA (r=0,92 P=0,026; r=0,63 P<0,05); концентрацией C3d и содержанием IgG4 (r=0,89 P=0,041); фагоцитарным индексом и содержанием IL-2 в назальном секрете (r=0,9 P=0,037; отрицательная корреляционная связь между процентным CD16+ -клеток и IL-4 в сыворотке крови (r=-0,6 P<0,001); между абсолютным CD19+ -клеток и IL-4 в назальном секрете (r=-0,54 P<0,001.

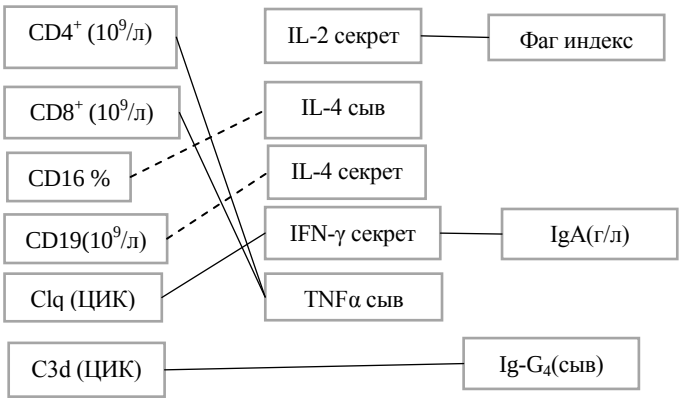

Рисунок 14. Корреляционные взаимосвязи между уровнем цитокинов и иммунологическими показателями в группе ПРС.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

Специфическими корреляциями для АР были положительная взаимосвязь между содержанием IgG и отношением $CD4^+/CD8^+$ (r=0,82 P<0,001;) и абсолютным и процентным содержанием $CD4^+$-клеток (r=0,82 P<0,001; r=0,64 P<0,001); между содержанием C3d и C1q (r=0,5 P=0,004), а так же положительные корреляции между содержанием TNFα и IL-2 в назальном секрете (r=0,6 P=0,02), между содержанием IL-10 и IL-4 в назальном секрете (r=0,5 P=0,04), между концентрацией IFN-γ в крови и IL-6 в назальном секрете (r=0,5 P=0,04),отрицательная корреляционная взаимосвязь между содержанием TNFα в назальном секрете и IL-4 в сыворотке крови (r=-0,7 P=0,035) и концентрацией IgA в сыворотке крови (r=-0,79 P=0,019) .

В группе АТ выявлено следующее: концентрация IL-2 в крови положительно коррелирует с фагоцитарным индексом, а отрицательно коррелирует с концентрацией IgA (r=0,7 P=0,004; r=-0,6 P=0,04). Концентрация IL-10 в крови положительно коррелирует с концентрацией IgG_2 и отрицательно - с содержанием CD4+-клеток (r=0,6 P=0,03; r=-0,6 P=0,02).

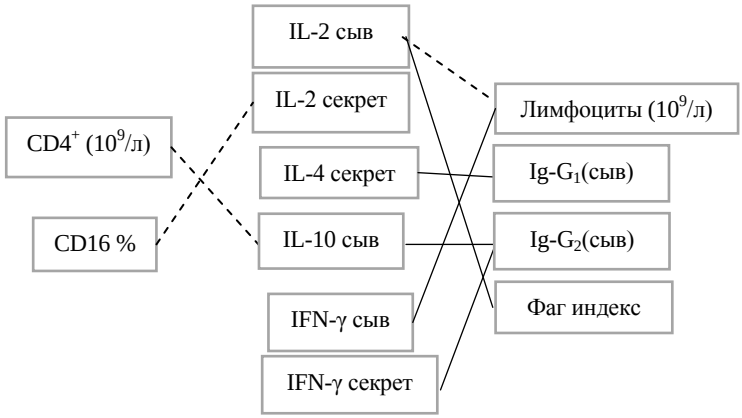

Рисунок 15. Корреляционные взаимосвязи между уровнем цитокинов и иммунологическими показателями в группе АТ.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

Положительные корреляции выявлены между концентрацией IL-4 в назальном секрете и концентрацией IgG_1 (r=0,7 P=0,008); между содержанием IFN-γ в крови и концентрацией IgA (r=0,6 P=0,03). Концентрация IL-2 в назальном секрете отрицательно коррелирует с процентным содержанием $CD16^+$-клеток (r=-0,6 P<0,01).

Специфическими корреляционными взаимосвязями для группы АБА являлись: отрицательная между концентрацией IgG_3 и абсолютным содержанием $CD3^+$-клеток (r=-0,8 P=0,002) и между $CD4^+/CD8^+$ и процентным содержанием $CD4^+$-клеток (r=0,9; P<0,001). Между цитокинами найдены специфические отрицательные корреляции между содержанием IL-10 и IL-6 в назальном секрете (r=-0,58 P=0,003), между концентрацией IL-6 в крови и IL-4 в назальном секрете (r=-0,59 P=0,003), и IL-10 в назальном секрете). Концентрация IgA положительно коррелирует с содержанием IL-4 и IL-10 в назальном секрете и отрицательно коррелирует с системным и местным IL-6 (r=0,62 P=0,004; r=-0,51 P=0,015; r=-0,58 P=0,004). Положительные корреляции найдены между концентрацией IL-4 в крови и количеством IgG_2 (r=0,59 P=0,012). Концентрация IL-4 в назальном отрицательно коррелирует с количеством Ig-G_1 количеством Ig-G_4 (r=-0,52 P=0,025; r=-0,58 P=0,012).

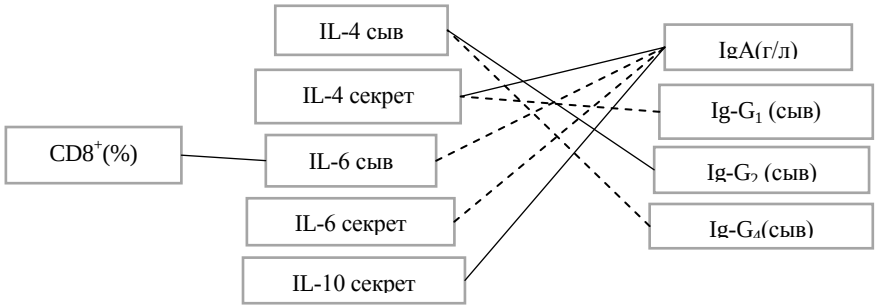

Рисунок 16. Корреляционные взаимосвязи между уровнем цитокинов и иммунологическими показателями в группе АБА.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

При сравнении корреляционных взаимосвязей общими для всех групп была положительная корреляционная взаимосвязь между НАДН-ЛДГ и НАДН-МДГ (r=0,58 P=0,031; r=0,6 P=0,002; r=0,58 P=0,031; r=0,87 P<0,001).

Наибольшее количество общих корреляционных взаимосвязей обнаружено между группами ПРС и АТ, общими положительными корреляциями связями были взаимосвязи между НАДФ-ГДГ и НАДФН-ГДГ (r=0,69 P=0,028; r=0,5 P=0,004); между НАДФ-МДГ и ГР (r=0,66 P=0,019; r=0,5 P=0,03); между НАД-ЛДГ и НАД-МДГ (r=0,58 P=0,031; r=0,6 P=0,002;); между ГР и НАД-МДГ и НАДФ-МДГ (r=0,65 P=0,022; r=0,65 P=0,022; r=0,5 P=0,03; r=0,6 P=0,08); между ГР и НАДФ-ГДГ (r=0,66 P=0,019; r=0,69 P=0,028).

В группах АР и АБА общая положительная корреляционная взаимосвязь между НАДФ-МДГ и НАДФ-ГДГ (r=0,71 P=0,009; r=0,5 P=0,003).

В группах ПРС, АТ и АБА общими корреляциями были положительная корреляционная взаимосвязь между НАД-ЛДГ и НАД-МДГ (r=0,58 P=0,031; r=0,6 P=0,002; r=0,57 P<0,001), между НАД-ЛДГ и НАДФ-ИЦДГ (r=0,87 P<0,001; r=0,75 P<0,001; r=0,98 P<0,001), между НАД-МДГ и НАДФ-ИЦДГ (r=0,72 P=0,009; r=0,5 P=0,004; r=0,87 P<0,001), отрицательная корреляционная взаимосвязь между НАД-ЛДГ и НАДН-ГДГ (r=-0,8 P<0,001; r=-0,72 P<0,001;r-=0,53 P=0,003).

В группах АР, АТ и АБА общая положительная корреляционная взаимосвязь между НАД-ЛДГ и НАД-ГДГ (r=0,97 P<0,001; r=0,72 P<0,001; r=0,83 P<0,001).

Специфическая отрицательная корреляция в группе ПРС между НАДФ-ИЦДГ и НАДН-ГДГ (r=-0,58 P=0,031).

Наибольшее количество специфических корреляционных взаимосвязей выявлено в группе АР, так обнаружена положительная взаимосвязь между НАДФ-МДГ и НАДФ-ГДГ (r=0,65 P=0,022); между НАД-ЛДГ и НАДФ-ГДГ(r=0,61 P=0,034); между НАД-МДГ и Г6ФДГ (r=0,72 P=0,021); между НАД-МДГ и НАД-ГДГ (r=0,65 P=0,022) и отрицательная взаимосвязь между НАД-ИЦДГ и НАДН-ГДГ(r=0,77 P=0,001) и между НАД-МДГ и Г3ФДГ (r=-0,65 P=0,014).

В группе АБА специфическая положительная взаимосвязь между НАД-МДГ и НАДФ-ГДГ (r=0,57 P<0,001). Изучение корреляционной взаимосвязи между

иммунологическими и метаболическими показателями в группе ПРС выявило следующее: Концентрация Г3ФДГ положительно коррелирует с концентрацией IgG_4 и отрицательно коррелирует с процентным количеством лимфоцитов (r=0,6 P<0,03; r=-0,5 P<0,04). Концентрацитя НАДМДГ положительно коррелирует с $CD16^+$ -клетками и IgG и отрицательно – с $CD3^+$ и $CD4^+$клетками (r=0,75 P<0,02; r=0,53 P<0,04; r=-0,6 P<0,005; r=-0,61 P<0,02).

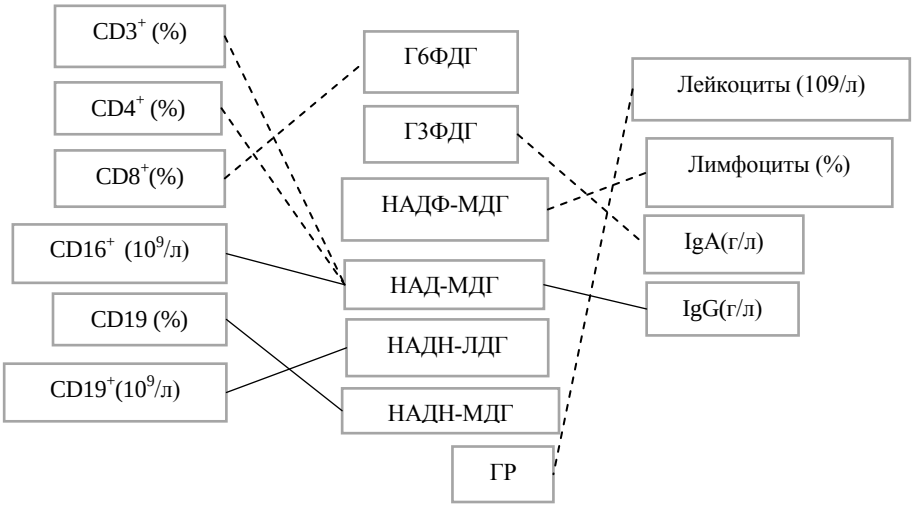

Рисунок 17. Корреляционные взаимосвязи между иммунологическими и метаболическими показателями в группе ПРС.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

Исследование корреляционной взаимосвязи между иммунологическими и метаболическими показателями в группе АР выявило две взаимосвязи:процентное количество лимфоцитов отрицательно коррелирует с концентрацией НАДФН-ГДГ и НАДФ-ИЦДГ (r=-0,54 P=0,048; r=-0,68 P=0,104).

Изучение корреляционной взаимосвязи между иммунологическими и метаболическими показателями в группе АТ выявило следующее: концентрация Г3ФДГ положительно коррелирует с концентрацией IgG_4 и отрицательно коррелирует с процентным количеством лимфоцитов (r=0,6 P=0,03; r=-0,5 P=0,04). Концентрация НАД-ЛДГ отрицательно коррелирует с процентным количеством лимфоцитов (r=-0,6 P=0,04). Концентрация НАДФ-МДГ положительно коррелирует с абсолютным и процентным количеством лимфоцитов $CD3^+$- и $CD4^+$-

клеток и соотношением $CD4^+$ / $CD8^+$ (r=0,5 P=0,02; r=0,7 P=0,0007; r=0,6 P=0,008; r=0,6 P=0,004). Концентрация НАДФ-ИЦДГ положительно коррелирует с абсолютным количеством $CD19^+$-клеток (r=0,6 P<0,05).Концентрация НАД-МДГ положительно коррелирует с концентрацией IgG_4 (r=0,6 P<0,05; r=0,7 P=0,008). Концентрация НАДН-ЛДГ положительно коррелирует с абсолютным количеством $CD19^+$-клеток и фагоцитарным числом и отрицательно коррелирует с абсолютным и процентным количеством $CD16^+$- клеток (r=0,7 P=0,007; r=0,95 P=0,0008; r=-0,7 P=0,0007; r=-0,6 P=0,007). Содержание НАДН-МДГ положительно коррелирует с фагоцитарным числом и процентным содержанием лимфоцитов (r=0,87 P<0,01; r=0,6 P=0,008). Содержание ГР положительно коррелирует с Clq (r=0,64 P<0,03). Содержание НАДФН-ГДГ положительно коррелирует с концентрацией IgG_1 и процентным содержанием лимфоцитов (r=0,66 P=0,008; r=0,62 P=0,007).

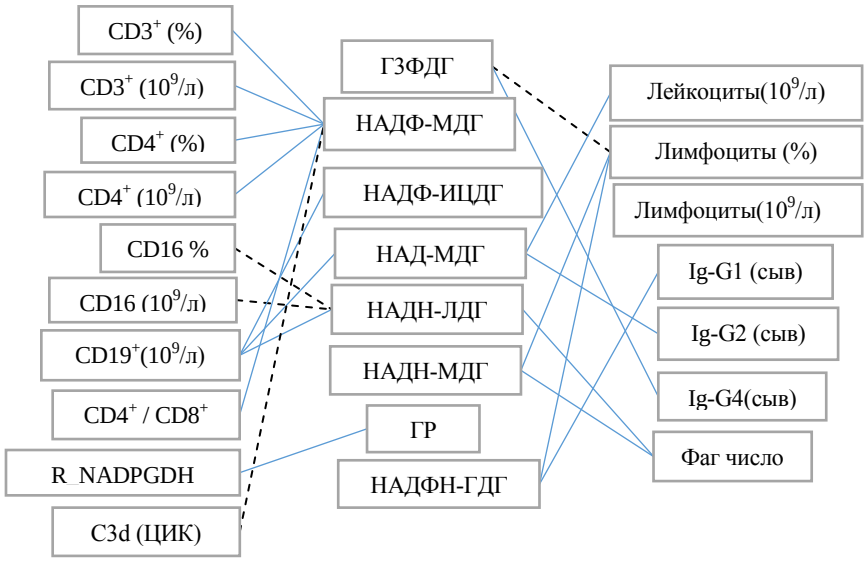

Рисунок 18. Корреляционные взаимосвязи между иммунологическими и метаболическими показателями в группе АТ.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

Изучение корреляционной взаимосвязи между иммунологическими и метаболическими показателями в группе АБА выявило следующее: концентрация НАД-ИЦДГ положительно коррелирует с абсолютным и процентным количеством лимфоцитов и $CD19^+$-клеток, а отрицательно коррелирует с концентрацией C3d

(r=0,64 P<0,001; r=-0,55 P=0,003). Концентрация Г3ФДГ положительно коррелирует с процентным количеством $CD3^+$- и $CD8^+$-клеток, а отрицательно коррелирует с содержанием $CD4^+/CD8^+$, IgG_2 и IgG_4 (r=-0,58 P=0,024). Концентрация НАДФ-ГДГ положительно коррелирует с содержанием лейкоцитов и абсолютным количеством лимфоцитов, а отрицательно коррелирует с IgG_2 (r=0,52 P<0,005; r=0,53 p=0,004; r=-0,69 P<0,005). Концентрация НАДФ-ИЦДГ отрицательно коррелирует с концентрацией IgG_2 (r=-0,52 P=0,049). Концентрация НАД-ГДГ отрицательно с количеством IgA и IgM (r=-0,5 P=0,025; r=-0,5 P=0,024). Концентрация НАДН-ЛДГ отрицательно коррелирует с абсолютным количеством $CD8^+$ и $CD16^+$- клеток и содержанием IgE (r=-0,5 P=0,004). Содержание НАДН-ГДГ положительно коррелирует, а процентным количеством $CD3^+$-клеток, концентрацией C3d и IgG_2 (r=0,54 P=0,008; r=-0,66 P=0,007).

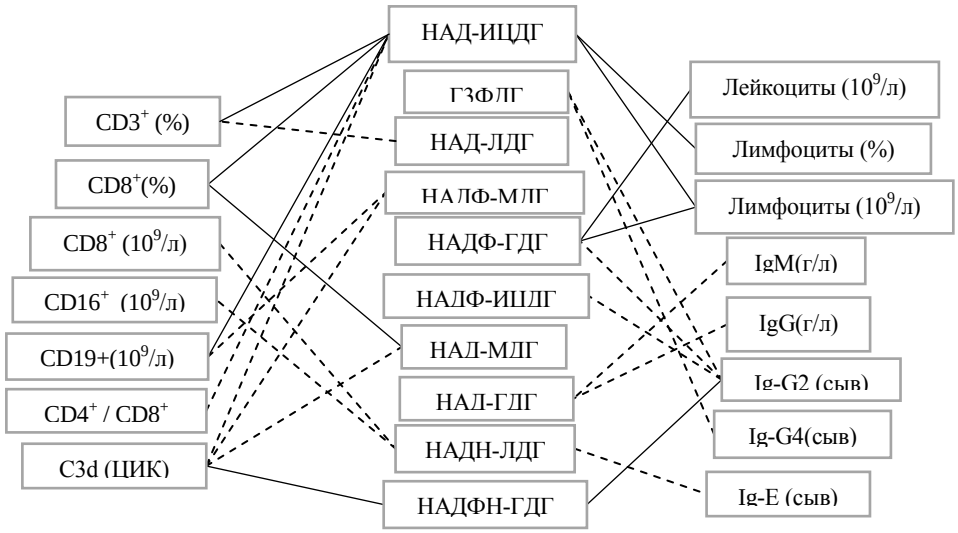

Рисунок 19. Корреляционная взаимосвязь между иммунологическими и метаболическими показателями в группе АБА.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

Сравнение корреляционных взаимосвязей в группах ПРС и АТ выявило одну общую положительную корреляционную взаимосвязь между абсолютным содержанием $CD19^+$-клеток и НАДН-ЛДГ (r=0,7 P=0,007; r=0,95 P=0,0008).

Сравнение корреляционных взаимосвязей в группах АТ и АБА выявило одну общую отрицательную корреляционную взаимосвязь между содержанием С3d и НАДФ-МДГ (r=-0,54 P=0,008; r=-0,5 P=0,004).

Специфическими корреляционными взаимосвязями в группе ПРС были: положительная корреляционная взаимосвязь между абсолютной концентрацией $CD16^+$- клеток и НАД-МДГ (), между процентной концентрацией $CD19^+$- клеток и НАДН-МДГ, между концентрацией IgG и НАД-МДГ, отрицательная взаимосвязь между процентной концентрацией $CD3^+$- клеток и НАД-МДГ, между процентной концентрацией $CD4^+$- клеток и НАД-МДГ, между процентной концентрацией $CD8^+$- клеток и Г6ФДГ, между концентрацией IgA и Г3ФДГ, между НАДФ-МДГ и процентным содержанием лимфоцитов, между концентрацией ГР и абсолютным количеством лейкоцитов.

В группе АТ были специфические корреляции: положительная между процентной концентрацией $CD3^+$-клеток и НАДФ-МДГ; между НАДФ-МДГ и абсолютной концентрацией $CD3^+$- и $CD4^+$-клеток; между НАДФ-МДГ и процентной концентрацией $CD4^+$-клеток и отношением $CD4^{+/}CD8^+$; между абсолютной концентрацией $CD19^+$-клеток и НАДФ-ИЦДГ и НАД-МДГ; между концентрацией НАДФН-ГДГ и ГР , процентной концентрацией лимфоцитов и IgG_1; между НАД-МДГ и абсолютной концентрацией лейкоцитов и IgG_2 ; между фагоцитарным числом и концентрацией НАДН-ЛДГ и НАДН-МДГ; отрицательная корреляционная взаимосвязь между процентной концентрацией $CD16^+$-клеток и НАДН-ЛДГ; между процентной концентрацией лимфоцитов и Г3ФДГ .

В группе АР была отрицательная корреляция между процентной концентрацией лимфоцитов и НАДФ-ИЦДГ и НАДФН-ГДГ.

Спецификой для АБА были: положительная взаимосвязь между концентрацией С3d и НАДФН-ГДГ; между НАД-ИЦДГ и процентной концентрацией $CD3^+$- и $CD4^+$клеток; отрицательная корреляция между концентрацией С3d и НАД-МДГ, между НАДН-ЛДГ концентрацией IgE и НАДН-ЛДГ; между концентрацией НАДФ-ИЦДГ и IgG_2; между концентрацией IgG_2 и

НАДФ-ГДГ и Г3ФДГ; между концентрацией НАД-ГДГ и IgM и IgG; между концентрацией Г3ФДГ и IgG_4.

Изучение корреляционных взаимосвязей между цитокинами и метаболическими показателями в группе ПРС обнаружило следующее: концентрация НАД-ИЦДГ положительно коррелирует с концентрациями IL-2 в крови и IL-4 назальном секрете, а отрицательно - с концентрацией IL-6 в назальном секрете (r=0,57 P=0,041; r=0,59 P=0,015; r=-0,64 P=0,025). Концентрация IL-10 в крови положительно коррелирует с концентрацией НАД-ЛДГ (r=0,9 P=0,037). Концентрация IL-10 в назальном секрете отрицательно коррелирует с концентрацией НАДФН-ГДГ и НАД-ГДГ (r=-0,9 P=0,037; r=-0,9 P=0,037).

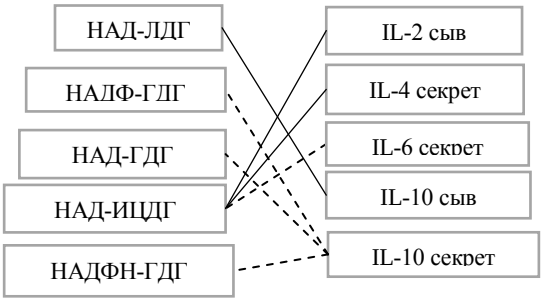

Рисунок 20. Корреляционные взаимосвязи между цитокинами и метаболическими показателями в группе ПРС.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

Изучение корреляционных взаимосвязей между цитокинами и метаболическими показателями в группе АР выявило одну корреляцию: концентрация НАДФН-ГДГ отрицательно коррелирует с концентрацией в TNFα сыворотке крови (r=-0,92 P=0,026).

При АТ обнаружили следующее: концентрация Г3ФДГ положительно коррелирует с концентрациями IL-2, IL-6 в сыворотке крови и IL-4 и IL-10 в назальном секрете, а отрицательно коррелирует с концентрацией IFN-γ в сыворотке крови (r=0,69 P<0,005; r=0,68 P<0,005; r=0,57 P=0,03; r=0,71 P<0,005; r=-0,64 P=0,012); Положительные корреляции выявлены между НАД-ЛДГ и IL-4 и IL-10 в крови (r=0,58 P=0,02; r=0,67 P<0,01); между НАДФ-ГДГ и IL-4 в назальном секрете

(r=-0,56 P<0,03). Между НАДФ-ИЦДГ и IL-4 в крови (r=0,61 P<0,01);между НАД-ГДГ и IL-4 в сыворотке крови и IL-6 в назальном секрете (r=0,6 P<0,01; r=0,57 P=0,03);между НАД-ИЦДГ и IL-4 и IL-10 назальном секрете (r=0,57 P=0,03; r=0,6 P=0,03); между НАДН-ЛДГ и TNFα (r=0,84 P<0,001); между НАДН-МДГ и TNFα (r=0,77 P=0,006); между НАДФН-ГДГ и IFN-γ в сыворотке крови (r=0,53 P<0,05);между Г6ФДГ и IL-4 в сыворотке крови.

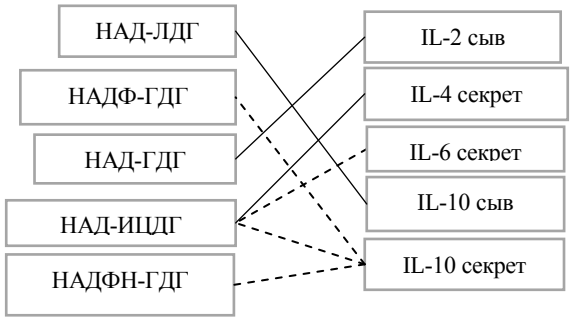

Рисунок 21. Корреляционные взаимосвязи между цитокинами и метаболическими показателями в группе АТ.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

В группе АБА обнаружило следующие положительные взаимосвязи: между IL-2 в сыворотке крови и Г3ФДГ (r=0,63 P=0,006); между IL-4 в назальном секрете и НАДФ-ГДГ (r=0,5 P=0,025). Концентрация IL-10 в крови положительно коррелирует с концентрацией НАД-ЛДГ и НАД-МДГ, а отрицательно - с концентрацией ГР (r=0,5 P=0,021). Отрицательные корреляции найдены между IL-10 в назальном секрете и НАДФ-МДГ (r=-0,56 P=0,01).

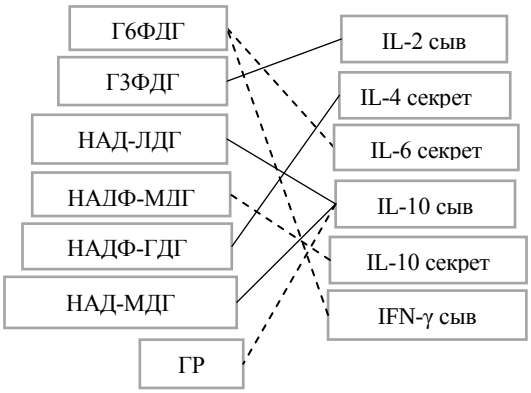

Рисунок 22. Корреляционные взаимосвязи между цитокинами и метаболическими показателями в группе АБА.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные связи (достоверность-95% и выше); пунктиром - отрицательные (достоверность-95% и выше).

В группе ПРС выявлены следующие специфические корреляционные связи: положительная взаимосвязь между концентрацией НАД-ИЦДГ и IL-2 в сыворотке крови; между концентрацией НАД-ИЦДГ и IL-4 в назальном секрете, отрицательная взаимосвязь между концентрацией НАДФ-ГДГ и IL-10 в назальном секрете; между концентрацией НАД-ИЦДГ и IL-6 в назальном секрете; между концентрацией НАДФН-ГДГ и IL-10 в назальном секрете.

В группе АТ выявлены следующие специфические корреляционные связи: положительная взаимосвязь между концентрацией НАД-ИЦДГ и IL-4 в крови и назальных смывах, между концентрацией IL-6 и IL-10 в назальном секрете и концентрацией TNFα; между концентрацией НАД-ИЦДГ и TNF-α; положительными между концентрацией НАДФ-МДГ и IL-4 в крови; между концентрацией НАДФ-ИЦДГ и IL-4 в крови; между концентрацией НАДН-ГДГ и IFN-γ в крови; между концентрацией в TNF-α крови и НАДН-ЛДГ и НАДН-МДГ; между концентрацией Г6ФДГ и IL-2 и IL-10 в назальном секрете; между концентрацией Г3ФДГ и IL-4, IL-6, IL-10; отрицательная взаимосвязь между концентрацией НАДФ-ГДГ и IL-4 в назальном секрете; между концентрацией IFN-γ в крови и Г6ФДГ.

В группе АР выявлена отрицательная взаимосвязь между концентрацией НАДФН-ГДГ и TNFα в сыворотке крови.

В группе АБА выявлены следующие специфические положительные корреляции: между концентрацией НАД-МДГ и IL-10 в сыворотке крови; между концентрацией НАДФ-ГДГ и IL-4 в назальном секрете. Отрицательная взаимосвязь между концентрацией ГР и IL-10 в сыворотке крови; между концентрацией Г6ФДГ и IL-6 в назальном секрете; между концентрацией НАДФ-МДГ и IL-10 в назальном секрете.

В группах АТ и АБА общими корреляционными была положительная взаимосвязь между концентрацией Г3ФДГ и IL-2 в сыворотке крови и

отрицательная взаимосвязь между концентрацией IFN-γ в сыворотке крови и Г6ФДГ.

Резюмируя вышеописанные результаты, мы видим большое количество корреляционных взаимосвязей между иммунометаболическими параметрами изучаемых нозологий. Это еще раз доказывает взаимосвязь внутриклеточного метаболизма лимфоцитов и их функциональной активности при развитии респираторной аллергии. Множество общих корреляций говорят о схожести процессов при формировании аллергии. Такие проявления наиболее выражены при рассмотрении иммунологических параметров, именно здесь мы видим наибольшее количество как общих взаимосвязей. Интересно то, что максимальное количество общих взаимосвязей одновременно для всех четырех исследуемых групп мы наблюдаем только между иммунологическими параметрами.

Рассматривая взаимосвязи между метаболическими показателями, можно сказать, что наибольшее количество специфических корреляций наблюдалось при ПРС и АТ. Исходя из многофакторных теорий патогенеза псевдоатопии, можно сделать вывод, что в основе нарушения реактивности клеток лежат внутриклеточные метаболические процессы.

Изучая корреляции между метаболическими и иммунологическими показателями, мы наблюдаем большое количество специфических взаимосвязей в группах ПРС и АТ. Общие корреляции обнаружены только в группах АТ и АБА и они касались ферментов пластического обмена и основных цитокинов, определяющих специфику иммунного ответа. Схожесть этих взаимосвязей можно объяснить тем, что изучаемые патологии относятся к аллергическим заболеваниям, но имеют различный патогенез, что и объясняет множество специфических корреляций.

6.2 Оценка информативности иммунологических, метаболических и микробиологических показателей с помощью нейросетевого классификатора

С помощью нейросетевого классификатора была изучена информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей при различных вариантах поражения респираторного тракта. Так, в модели нейросетевого классификатора “Контроль-ПРС” наиболее информативными показателями являются C3d, sIgA, IFN-γ на местном и системном уровне, IL-2 и IL-4 в назальных смывах, содержание Staphylococcus, Enterobactericeae, Micrococcus и общее число микробной флоры (Рисунок 29).

Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «Контроль-ПРС».

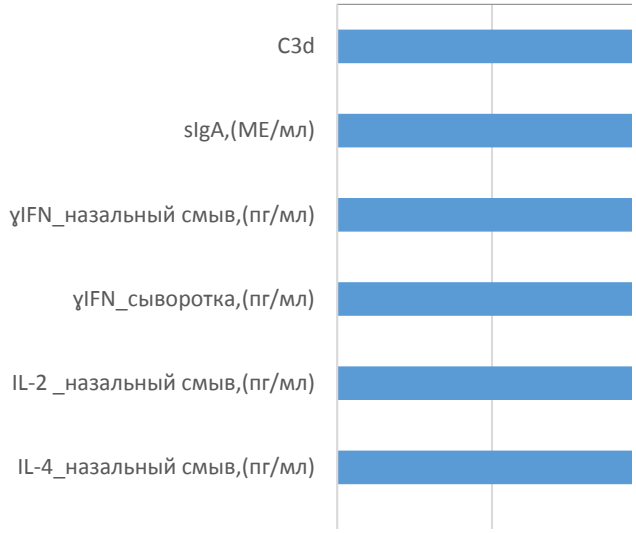

Рисунок 29 Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «Контроль-ПРС».

В модели нейросетевого классификатора «Контроль-АР» наиболее информативными показателями являются: абсолютное количество $CD16^{+}$-клеток, IgA, $CD4^{+}$- и $CD19^{+}$-клеток, количество лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание лимфоцитов, IFN-γ на системном уровне, содержание *Enterobactericeae и Enterococcus* (рис.30)

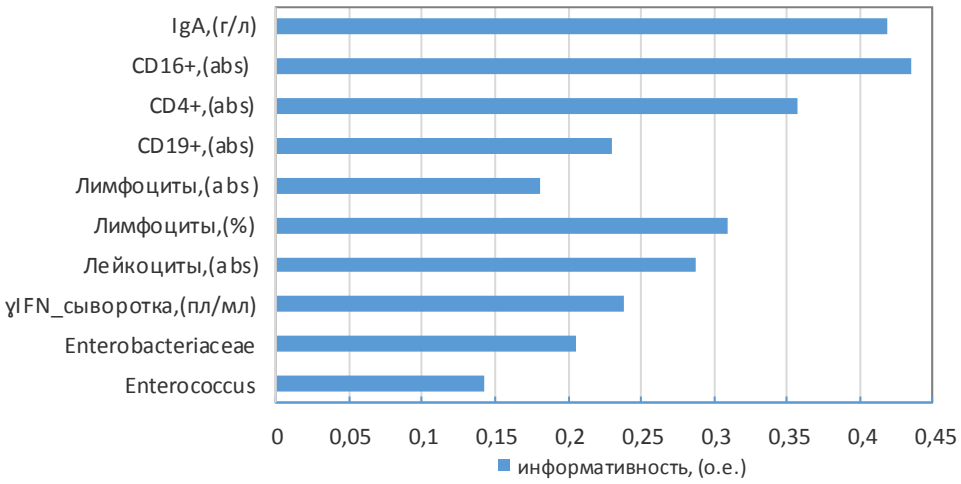

Рисунок 30 Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «Контроль-АР».

В модели нейросетевого классификатора «Контроль-АТ» наиболее выпаженным уровнем информативности обладали показатели sIgA, IFN-γ в назальных смывах, содержание *Enterobactericeae*, НАД-ГДГ, НАДН-ЛДГ, НАД-МДГ, IL-4 в сыворотке крови, TNFα, IgM и содержание *Micrococcus* (Рис.31).

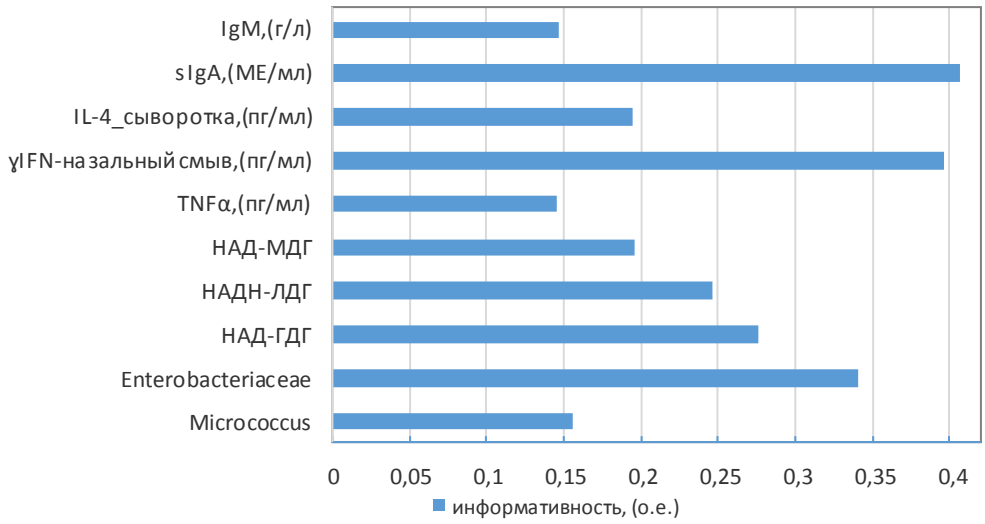

Рисунок 31 Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «Контроль-АТ».

В модели нейросетевого классификатора «Контроль-АБА» наиболее информативными показателями являются IL-6 и IL-10 в сыворотке крови,

абсолютное количество $CD8^+$- и $CD19^+$-клеток, TNFα, Г3ФДГ, НАД-ГДГ, НАДН-ГДГ, НАД-МДГ, НАДФ-ИЦДГ (Рис.32).

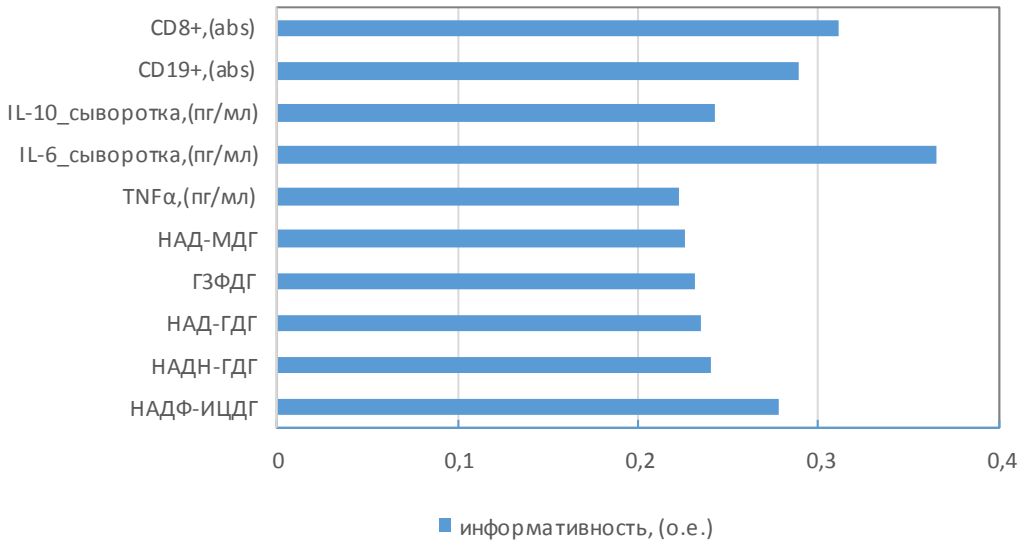

Рисунок 32 Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «Контроль-АБА».

В модели нейросетевого классификатора «ПРС-АР» наиболее информативными показателями являются НАД-ИЦДГ, НАД-ГДГ, IL-2 и IL-4 в сыворотке крови, процентное количество $CD3^+$-и $CD16^+$-клеток, IgA, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacterictae* (Рис.31).

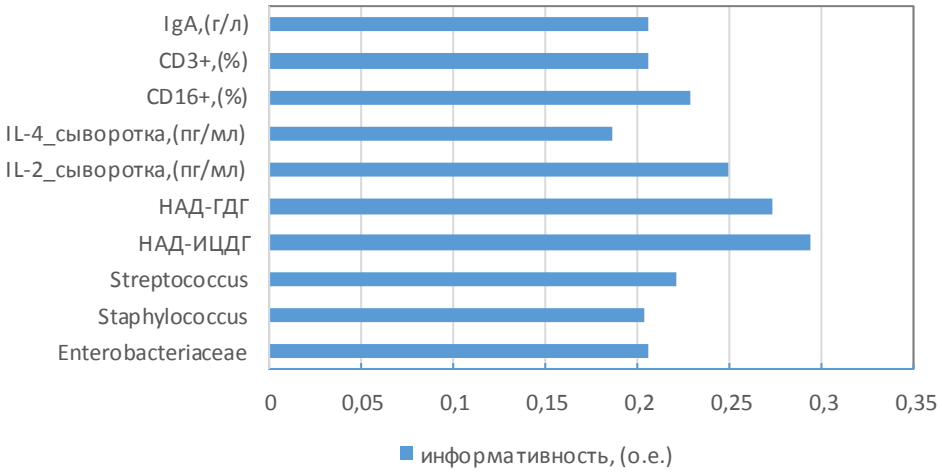

Рисунок 33 Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «ПРС – АР».

В модели нейросетевого классификатора «АТ-АБА» самыми информативными показателями являются *Enterococcus*, IL-2,IL-6 и IFN-γ в сыворотке крови, IL-6 в назальных смывах, относительное содержание лимфоцитов, относительное количество $CD4^+$- и $CD16^+$-клеток и над-ЛДГ (Рис.34).

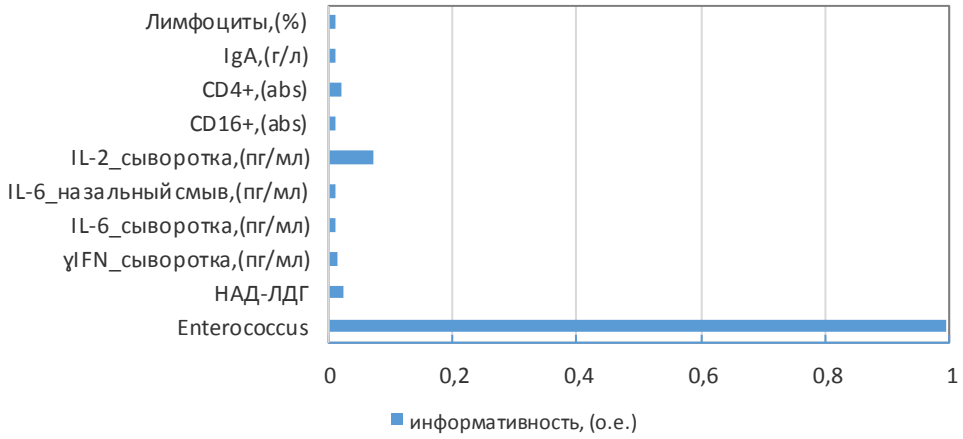

Рисунок 34 Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «АТ-АБА».

В модели нейросетевого классификатора «ПРС-АТ» наиболее информативными показателями являются содержание НАДФ-ГДГ, *Enterococcus*, НАДФ-ИЦДГ, относительное количество $CD19^+$-клеток, IL-2, IL-4 и IL-6 в сыворотке крови, IL-4 и IL-6 в назальных смывах, Г3ФДГ (Рис.33).

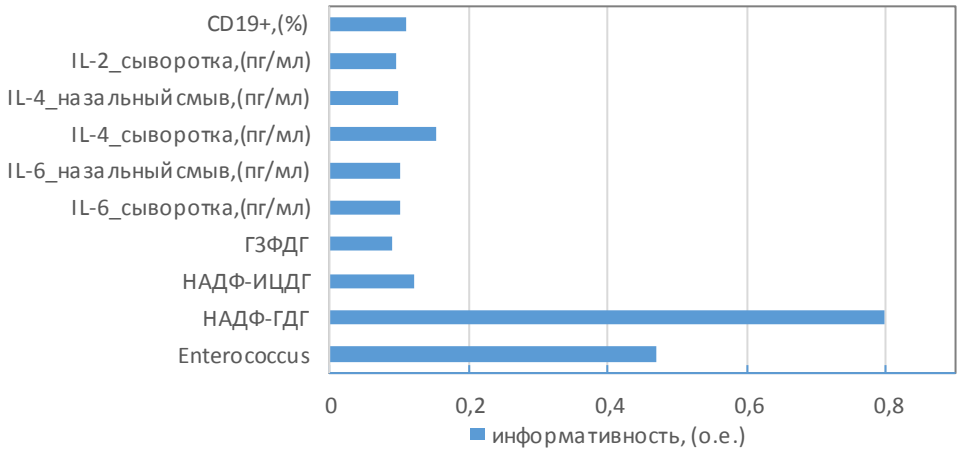

Рисунок 35 Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «ПРС-АТ».

В модели нейросетевого классификатора «АБА-АР» максимальной информативностью обладали показатели: абсолютное содержание лимфоцитов, относительное количество $CD19^{+}$-клеток, C3d, IFN-γ в сыворотке крови,IL-10 в сыворотке крови, НАД-МДГ, НАД-ИЦДГ, НАДФ-МДГ, НАДН-ГДГ, Г6ФДГ (Рис.36).

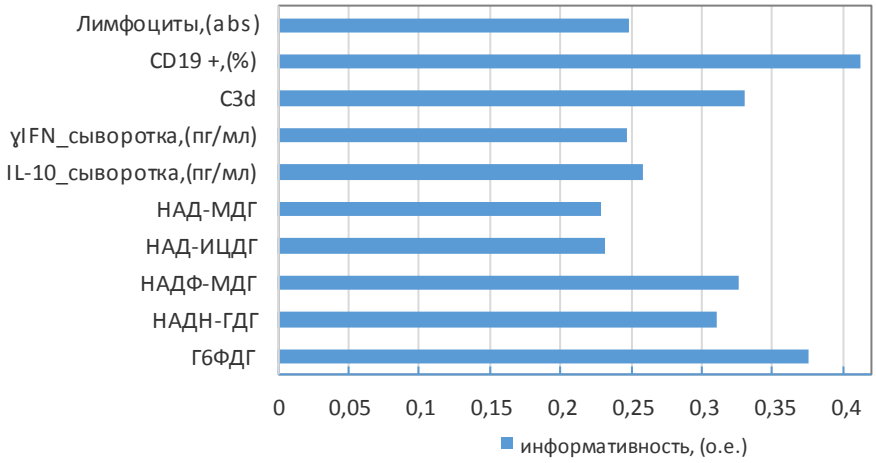

Рисунок 36 Информативность иммунологических, метаболических и микробиологических показателей в модели нейросетевого классификатора «АБА-АР».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Одним из частых вариантов аллергических заболеваний является поражение дыхательных путей, которое проявляется риносинуситом и бронхиальной астмой. В структуре аллергических заболеваний респираторного тракта удельный вес аллергических риносинуситов без присутствия БА достаточно высок и составляет 60-70% [2]. Частота встречаемости аллергического риносинусита у больных БА колеблется от 80% до 90% случаев, что может являться социально значимым фактором, требующим глубокого изучения вариантов патогенеза аллергических заболеваний респираторного тракта [23,32].

В нашем исследовании проведено изучение различных патогенетических вариантов аллергических риносинуситов и бронхиальной астмы с целью установления дифференциально-диагностических маркеров прогрессирования респираторной аллергии от ринита к бронхиальной астме. В результате исследования установлены характерные особенности назального микробиоценоза, состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета, цитокинового профиля, активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов крови.

Полость носа является начальным отделом верхних дыхательных путей. Для неё характерен свой микробный пейзаж, имеющий относительно постоянный состав и количество особей вегетирующих бактерий. Воспалительный процесс в области верхних дыхательных путей развивается при воздействии вирулентного возбудителя и несостоятельности местных и общих защитных сил организма. На слизистой оболочке носа не содержится пищевых остатков, а, следовательно, ограниченное количество питательных веществ для микроорганизмов, кроме того, устойчивость слизистой оболочки обеспечивается секрецией муцина, который обладает бактерицидным действием. Поэтому большинство ученых указывают на довольно ограниченное представительство микробов, участвующих в формировании ассоциаций [11,22,86,46]. Патологические изменения слизистой носа нарушают ее важнейшую функцию – защиту от агрессивных факторов

внешней среды - аллергенов и различных поллютантов, открывая путь для их дальнейшего продвижения. Микробный пейзаж слизистой оболочки носа даже при минимальных отклонениях может являться индикатором дисбиотических нарушений.

В основе аллергического воспаления респираторного тракта могут лежать как иммунологические, так и неиммунологические (псевдоатопические) механизмы [70]. Состояние иммунной системы в значительной степени определяет тяжесть любого воспаления. При этом, различные звенья иммунитета тесно взаимосвязаны между собой, в связи с чем, недостаточность одного из них, приводит к срыву всего механизма иммунореактивности [66]. Безусловно, механизмы развития аллергических заболеваний обусловлены нарушениями в иммунной системе, дизрегуляцией цитокиновой сети, активизацией аллергенспецифических клонов Т-лимфоцитов. Изменения состава и концентраций цитокинов, соотношение иммунорегуляторных коэффициентов отражают механизмы реализации воспаления. Многочисленные клинико-иммунологические исследования подтвердили, что в основе патогенеза аллергии лежит системное аллергическое воспаление, обусловленное нарушением баланса двух субпопуляций Т-хелперов 1-го и 2-го типов, гиперпродукцией IL-4, активацией эозинофилов и тучных клеток [3,176,200]. На сегодняшний день активно изучается роль цитокинов Th1 иTh2 типов, провоспалительных цитокинов в патогенезе истинной аллергии и псевдоаллергии. Основными цитокинами, определяющими направленность иммунного ответа по Th1- и Th2 пути считают IFN-γ и IL-4. Преобладание Th1 или Th2-цитокинов определяет развитие иммунного ответа по клеточному или гуморальному пути [88,199]. Нами изучена концентрация цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN-γ, TNFα как в сыворотке крови, так и назальных смывах при аллергическом риносинусите и бронхиальной астме.

Одним из перспективных отраслей науки, позволяющим охарактеризовать патогенез нарушения работы иммунитета при различных вариантах аллергии является изучение внутриклеточного метаболизма. Безусловно, что возможности иммунной системы зависят не только от морфологического состава клеток и

содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови, но и от интенсивности метаболических процессов в самих лимфоцитах, которые в значительной мере и обусловливают функциональные возможности лимфоцитов [68]. Функциональные проявления клеток иммунной системы происходят только при соответствующем изменении их метаболизма. Учитывая данное обстоятельство, нарушения иммунореактивности при исследуемых патологиях не могут не иметь метаболической основы. Таким образом, исследование, включающее определение функциональной и метаболической активности лимфоцитов в патогенезе аллергических риносинуситов имеет большое прогностическое значение, поможет выявить маркеры прогрессирования риносинусита в бронхиальную астму. Проведено исследование метаболической активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови биолюминесцентным методом. Общим патогенетическим звеном истинной аллергии и псевдоаллергии является выброс “медиаторов аллергии”– биологически активных веществ из клеток-мишеней: одними из которых являются лимфоциты. Известно, что воздействие медиаторов аллергии на клетки иммунной системы приводит к повышению функциональной активности лимфоцитов [81].

Рассматривая особенности патогенеза ПРС и ввиду того, что изменения начинаются на клеточном уровне, можно констатировать, что в лимфоцитах крови при повышенном оттоке глюкозы в пентозофосфатный путь, снижены реакции гликолиза. Вследствие этого снижается уровень анаэробной реакции ЛДГ, при реакции, которой регенерируется НАД+, необходимый для циклической гликолитической оксидоредуктации. Возникающее, вследствие этого, снижение субстратного наполнения реакций цикла Кребса, видимо, частично компенсируется повышением уровня малик-фермента, регулирующего липидный обмен и активности НАДН-зависимой реакции МДГ, характеризующей увеличение потока продуктов катаболизма аминокислот на реакции цикла Кребса. При этом активизации цикла трикарбоновых кислот не происходит в результате снижения уровня НАДИЦДГ. Изменения активности ферментов метаболизма не могут не отразиться на функциональной активности клеток, так, для группы ПРС

характерно повышение общего количества лейкоцитов при снижении Т-лимфоцитов, за счет низкой концентрации Т-хелперов, что документируется положительными корреляциями между ними. При этом, повышено содержание В-лимфоцитов. Метаболизм лимфоцитов при ПРС характеризуется активизацией пластических и энергетических процессов. Уровень ферментов аминокислотного (пластического) обмена НАД-МДГ и НАМ-ЛДГ положительно коррелируют с содержанием В-лимфоцитов и отрицательно коррелируют с содержанием Т-лимфоцитов и Т-хелперов. Также на фоне снижения Т- и увеличения В-клеток, мы наблюдаем цитокиновый дисбаланс на системном и регинальном уровнях. Так, повышено содержание IL-2 и IFN-γ и IL-6, IL-10 и снижено IL-4. Таким образом, мы видим повышение цитокинов, регулирующих как Th1, так и Th2 иммунный ответ. Вероятно, установленное повышение В-лимфоцитов может быть связано с повышением цитокинов Th2 типа. Большая часть исследований патогенеза ПРС говорит о повышении IFN-γ, который направляет иммунный ответ по Th1 типу [37,167,198]. Увеличение содержания IFN-γ в группе ПРС может блокировать синтез IgE. Наши результаты подтверждены данными литературы о взаимосвязи между повышением уровня IL-4 и снижением уровня IFN-γ, а также результатами корреляционного анализа (обнаружены отрицательные взаимосвязи между показателями). Как известно, IFN-γ и IL-4 являются антагонистами. IL-4 поддерживает и усиливает процесс аллергического воспаления в слизистых оболочках дыхательных путей. По разным источникам литературы повышение IL-4 наблюдается в случаях сочетания атопии и ПРС [15]. Одной из особенностей гуморального звена иммунитета для ПРС явилось увеличение концентрации C3d относительно контроля. Система комплемента имеет ключевое значение при развитии аллергических заболеваний. Классический путь активации комплемента – самый эффективный и наиболее специфичный. Более быстрый путь активации комплемента–альтернативный, при участии C3d. Для его инициации не требуется синтез иммуноглобулинов. Таким образом, увеличение концентрации C3d может быть следствием как высокой антигенной нагрузки, так и несостоятельности фагоцитарного звена, удаляющего ИК из

кровотока. Как описано ранее, одной из теорий возникновения ПРС, является активация комплемента [20]. В модели нейросетевого классификатора “Контроль-ПРС“ подтверждена значимость концентрации C3d в патогенезе ПРС. Низкое содержание секреторного IgA, стало предпосылкой для формирования дизбактериоза при ПРС. Так, мы наблюдаем нарушение микробного пейзажа слизистой оболочки носа за счет возрастания КОЕ бактерий семейства *Staphylococcus, Streptococcus* и *Enterobacteriaceae,* а также общее число микробной флоры. Представленные микроорганизмы для слизистой оболочки носа являются представителями нормофлоры, но их количественное содержание не должно превышать 10^3 КОЕ/мл. Это факт свидетельствует о мукозальном дисбактериозе. Данные о повышении концентрации семейств *Staphylococcus* и Streptococcus при ПРС встречаются и в исследованиях некоторых авторов [35]. В группе ПРС и АТ общее количество микробной флоры превышает 10^6 КОЕ/мл. Значимость дисбактериоза для данного типа аллергии подтверждено в модели нейросетевого классификатора “ПРС-контроль”. Исследуемые микроорганизмы относятся к условно-патогенной флоре, поэтому увеличение их численности является дисбиотическим изменением и может быть следствием нарушения как системного, так и местного иммунитета. Это свидетельствует о напряженности мукозального иммунитета, однако информация по этому вопросу в литературе весьма противоречива. Существуют данные как о низких, так и высоких концентрациях sIgA при ПРС относительно контроля [37,43]. При этом, при ПРС в сочетании с атопией уровень sIgA возрастает [26]. В подтверждение этому, одним из наиболее значимых иммунологических показателей в модели нейросетевого классификатора “Контроль-ПРС“ явилась концентрация sIgA. Таким образом, нейросетевой классификатор доказывает важное значение секреторного IgA в патогенезе ПРС. В группе ПРС снижена концентрация секреторного IgA относительно группы АР. В источниках литературы мы не встретили исследований концентрации секреторного IgA в сравнительном аспекте при полипозном и аллергическом риносинуситах, однако, существуют данные о его низких концентрациях при ПРС относительно контроля [37]. Таким образом, в

группе ПРС направленность иммунного ответа по смешанному типу с девиацией в сторону клеточных механизмов. Вероятно, компенсаторно происходит активация пластических и энергетических процессов метаболизма фракции лимфоцитов. В литературе мы не встретили сравнительной характеристики особенностей внутриклеточного метаболизма лимфоцитов при различном уровне и генезе аллергического поражения дыхательных путей.

Метаболическая активность лимфоцитов в группе АР характеризовалась увеличение уровня Г6ФДГ- фермента пентозофосфатного цикла, уровней МДГ, НАДФМДГ и НАДН-МДГ относительно контроля. В результате чего наблюдалось повышение уровня пентозофосфатного пути окисления глюкозы, следовательно, активированы реакции макромолекулярного синтеза, нуждающиеся в НАДФН и рибозо-5-фосфате, на это указывает повышение уровня ключевого и инициирующего фермента пентозофосфатного пути – Г6ФДГ [7]. Энергетические реакции клеток иммунной системы осуществляются не только за счет анаэробного окисления глюкозы, но и за счет кислородозависимых процессов. Также наблюдается активация цикла трикарбоновых кислот, являющегося конечным путем окисления углеводов, белков и липидов и поставляющего водородные эквиваленты в дыхательную цепь, на это указывает повышение уровня активности НАД- и НАДН-зависимых реакций МДГ. Кроме того, увеличение активности НАДН-зависимой реакции МДГ, устраняет избыточное образование оксалоацетата, который способен ингибировать цикл Кребса на уровне сукцинатдегидрогеназы.

При этом в группе АР по сравнению с контролем увеличена активность аэробной ЛДГ–фермента, характеризующего способность клеток метаболизировать лактат. Увеличение уровня ЛДГ, по-видимому, полностью компенсирует недостаточность гликолиза, что подтверждается активированием ключевых ферментов цикла трикарбоновых кислот – МДГ и НАДИЦДГ. Интенсификации цикла может так же способствовать снижение оттока α-кетоглутората от цикла Кребса на процессы аминокислотного синтеза, вследствие ингибирования НАДН-зависимой реакции НАДГДГ. Таким образом, при АР в лимфоцитах крови в большей степени активизируются энергетические процессы. На этом фоне

наблюдалось снижение общей фракции Т-лимфоцитов, снижение Т-хелперов, увеличено относительное содержание В-клеток относительно контроля, данные взаимосвязи подтверждены положительными корреляциями. Это свидетельствует об активации гуморального звена иммунитета при АР, что подтверждается показателями нейросетевого классификатора в модели “Контроль-АР“ и совпадает с данными литературы [2,9].

Также повышена концентрация C1q относительно контроля. C1q — это маркер классического пути активации комплемента, при котором происходит повышение концентрации иммуноглобулинов, характерное для истинных аллергических реакций. Высокий уровень концентрации C1q, помимо высокой антигенной нагрузки, может свидетельствовать о доминировании гуморальных механизмов в группе АР. Оценка цитокинового профиля в группе АР обнаружила повышение IL-4 относительно контроля в назальных смывах. В сыворотке крови установлено снижение концентрации IFN-γ и TNFα и высокое содержание IL-4 относительно контроля и группы ПРС, что характеризует Th2 поляризацию иммунного ответа. Таким образом, для АР характерен классический вариант однонаправленного гуморального типа иммунного ответа. Согласно данным литературы, содержание IL-4 при атопических ринитах повышено [3,199,203]. Наши результаты совпадают с мнением многих авторов, говорящих о взаимосвязи между повышением уровня IL-4 и снижением уровня IFN-γ [50,52,167]. IL-4 поддерживает и усиливает процесс аллергического воспаления в слизистых оболочках дыхательных путей. На фоне снижения иммунного ответа увеличено содержание бактерий семейства *Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus, Enterobacteriaceae* и общее количество микробной флоры. Семейство Enterococcus представлено в количестве 10^3, интересен тот факт, что данные микроорганизмы не характерны для этого биотопа и не высеяны у здоровых. Представленные микроорганизмы относятся к условно-патогенной флоре, поэтому увеличение их численности является дисбиотическим изменением и может быть следствием нарушения как системного, так и местного иммунитета. Неспецифическая локализация этих микроорганизмов может инициировать воспаление, согласно

данным литературы, эти бактерии обладают сенсибилизирующей активностью [5,11]. Количество бактерий семейства *Enterobacteriaceae* достоверно увеличено при АР по сравнению с контролем и является важным показателем при АР, что подтверждает нейросетевой анализ. Это можно рассматривать как следствие более серьезного изменения мукозального иммунитета в группе АР. Увеличение представительства условно-патогенных бактерий семейства Enterobacteriaceae на слизистой носа свидетельствует о дисбиотическом изменении и их несомненной роли в развитии воспалительного процесса. По данным литературы, семейство Enterobacteriaceae относят к микроорганизмам с нерегулярным присутствием в носовой полости [40]. Повышения численности микробиоты обуславливают высокий уровень секреторного IgA относительно группы ПРС. Полученные результаты о выраженных нарушениях назальной микробиоты при атопии описаны в литературе, однако, данные об уровне секреторного иммуноглобулина весьма противоречивы [4,194]. Фагоцитарное число повышено относительно группы контроля. Вероятно, активность неспецифического иммунитета обусловлена высокой микробной нагрузкой и специфической нагрузкой в виде аллергенов.

Для группы АТ характерно увеличение содержания Г6ФДГ. Фермент находится в цитоплазме, является ключевым ферментом пентозофосфатного цикла. Судьба Г6ФДГ — вступит ли он в гликолиз или пентозофосфатный путь — определяется потребностями клетки в данный момент, а также концентрацией НАДФ в цитозоле. Когда клетка быстро переводит НАДФН в НАДФ, который стимулирует Г6ФДГ и, тем самым, увеличивая отток глюкозо-6-фосфата через пентозофосфатный путь. Потребление НАДФН замедляется, уровень НАДФ снижается и Г6ФДГ утилизируется гликолитически. Так же в группе АТ наблюдается увеличение уровней НАДФ-МДГ, НАДН-МДГ, ГР и НАДН-ГДГ, при этом снижено содержание НАДН-ЛДГ и НАДФ-ГДГ относительно АБА. При увеличении активности Г6ФДГ, вследствие конкуренции происходит активный отток глюкозы на ПФП, при этом уровень анаэробной реакции ЛДГ снижается, что позволяет предположить ингибирование процессов гликолиза и снижение

субстратного наполнения ЦТК. При этом повышается уровень НАДН-МДГ, активация которого способствует, с одной стороны, притоку продуктов аминокислотного обмена на реакции цикла Кребса, с другой - устранению высоких концентраций оксалоацетата, которые могут оказывать ингибирующее действие на сукцинатдегидрогеназу. Вместе с тем снижается отток α-кетоглутората из цикла Кребса, вследствие снижения уровня НАДН-зависимая НАДФГДГ по сравнению с АБА. Также, происходит усиление антиоксидантной активности, вследствие повышения активности ГР. Восстанавливается окисленный глутатион под действием фермента глутатионредуктазы, который постоянно находится в клетке в активном состоянии и индуцируется при окислительном стрессе. Лимфоциты, истощенные по глутатиону, не развивали в полной мере реакцию бласттрансформации на митогенные лектины. Можно сделать вывод о том, что при АТ наблюдается усиление аминокислотного катаболизма при торможении аэробного и активации анаэробного окисления. На фоне дисбаланса ферментативных реакций наблюдается лейкоцитоз при снижении абсолютной концентрация NK-клеток (CD16+). Высокая цитотоксичность и способность продуцировать многие цитокины — основные свойства $CD16^{+}$-лимфоцитов. Они обеспечивают антителозависимую клеточную цитотоксичность посредством присоединения к Fc-фрагменту IgG клетки-антигена. Снижение количества CD16+лимфоцитов может приводить к развитию аллергических заболеваний. К одной из возможных причин снижения NK-клеток можно отнести повышение IL-4 на местном и системном уровнях в группе АТ. В группе АТ повышено относительное количество $CD8^{+}$-лимфоцитов. Это классическая особенность для различных клинико-патогенетических бронхиальных астм [101,182,193], эти клетки являются продуцентами IL-4. Также в группе АТ повышено количество IL-4 в сыворотке крови. Этот цитокин трансформирует В-лимфоциты в плазматические клетки. Повышение концентрации IL-4 положительно влияет на выработку иммуноглобулинов. Но на фоне повышения противоспалительного цитокина IL-4 в сыворотке крови, мы видим и повышение его антагониста— IFN-γ. Информация об одномоментном повышении этих цитокинов встречается в

литературе [101, 192]. IFN-γ, стимулируя пролиферацию Th1-клеток, снижает активность аллергического воспаления. Главными его функциями являются осуществления взаимодействия между макрофагами и лимфоцитами, координации Th1 и Th2 типа иммунного ответа, он тормозит аллергическое воспаления, подавляя выработку IgE В-лимфоцитами. Вероятно, увеличение его концентраций при АТ можно трактовать как противоспалительное действие. При АТ также наблюдается увеличение содержание IL-10 на системном уровне. Нами установлена положительная корреляция между IL-4 и IL-10. Этот цитокин является мощным противовоспалительным цитокином и существуют исследования, описывающие взаимосвязь концентраций IL-10 и степени тяжести БА, при его снижении снижается контроль над симптомами БА [174,186]. Так же, этот цитокин регулирует выработку ЦТЛ и угнетает клеточный иммунный ответ, стимулируя пролиферацию В-лимфоцитов. Избыточная активность ЦТЛ может приводить к быстрому подавлению и абортивному течению иммунного ответа или иммунологической толерантности. Также в группе АТ выявлена отрицательная корреляция между абсолютным содержанием Т-хелперов и концентрацией IL-10 в сыворотке крови. Полученные особенности в группе АТ говорят о смешанном типе иммунного реагирования. При снижении иммунологических параметров мы наблюдаем увеличение представителей семейства *Staphylococcus* и *Streptococcus*. Данные представители являются представителями нормофлоры, их численное увеличение при АТ можно расценивать как проявления нарушения в работе иммунитета. Так же, обнаружено повышенное количество *Enterococcus*, данный представитель не типичен для этой локализации [194]. Вероятно, на этом фоне наблюдаем сниженную концентрацию sIgA по сравнению с контролем. Состояние иммунной системы слизистых оболочек характеризуется главным образом IgA и местнопродуцируемыми sIgA. Секреторная составляющая иммунитета занимает центральное место в неотложной защите слизистой оболочки верхних дыхательных путей. Именно sIgA явился наиболее значимым из иммунологических показателей в модели

нейросетевого классификатора “Контроль-АТ “, что указывает на его важную роль в формировании АТ.

Метаболические особенности лимфоцитов крови в группе АБА характеризуются активацией обменных процессов в лимфоцитах. При увеличении уровня Г6ФДГ происходит снижение оттока глюкозы на гликолиз, но при этом активируется анаэробное окисление глюкозы в гликолизе и образуются пируват и НАДН вследствие повышения НАДН-ЛДГ, что позволяет предположить активацию процессов гликолиза. При этом происходит увеличение активности НАДН-зависимой реакции МДГ, которая регулирует приток продуктов аминокислотного обмена на реакции цикла Кребса способствуя активации ЦТК. Также наблюдается увеличение уровня как НАДФГДГ так и НАДНГДГ, вспомогательных ферментов, участвующих в катаболизме и анаболизме аминокислот. Повышение обратной глутаматдегидрогеназы одновременно с повышением содержания фермента прямой дегидрогеназы также можно рассматривать как усиленный аминокислотный обмен и как следствие–усиление пластического обмена в группе АБА. Повышение концентрации фермента ГР может свидетельствовать об интенсификации антиоксидантных процессов в клетках. Таким образом, при АБА происходит активизация энергетических процессов при повышении антиоксидатной активности, что сказывается на фцнкциональной активности лимфоцитов и мы видим повышение уровня $CD8^+$-лимфоцитов, что может быть вызвано высокой бактериальной нагрузкой. Так же в группе АБА найдены отрицательные корреляции между относительным содержанием общей популяции лимфоцитов и количество ЦТЛ. В группе АБА, как и в других исследуемых группах, повышено количество лейкоцитов. Лейкоцитоз может быть связан с воздействием мукозального дисбактериоза: характерно увеличение количества Staphylococcus и Streptococcus. Так же, обнаружено повышенное количество семейства Enterococcus.

В группе АТ и АБА по сравнению с контролем выявлено увеличение содержания ЦТЛ ($CD8^+$-лимфоцитов), которые могут вызвать гибель собственных клеток организма. Это говорит о высокой антигенной нагрузке при АТ. В группе

АТ выявлено повышение концентрации IgG1 в сыворотке крови относительно группы АБА, что может быть одной из причин активации системы комплемента. Концентрация IFN-γ при АТ и АБА выше, чем в группе контроля, при этом в группе АБА намного ниже относительно группы АТ. Этот провоспалительный цитокин, по данным литературы, его повышение влияет на тяжесть течения БА. Безусловно, что АТ чаще трудно контролируемая. Так же, существуют исследования, свидетельствующие о том, что повышение концентрации IFN-γ на фоне Th2 иммунного ответа, усиливает проявления атопии [196].

В группах АТ и АБА на системном и местном уровне выявлено увеличение концентрации IL-4 относительно контроля, это можно объяснить высоким уровнем $CD8^+$-лимфоцитов, которые продуцируют IL-4. Данный цитокин стимулирует дифференцировку Th0 в Th1 и синтез иммуноглобулинов В-лимфоцитами, переключает синтез IgG1 на IgG4 и IgE. Найден ряд исследований, описывающих влияние высоких концентраций IL-4 на степень сужения дыхательных путей [3,110,127]. В группе АТ снижена концентрация IL-4 в крови и в назальном секрете относительно группы АБА. Таким образом, увеличение IL-4 можно оценить, как преобладание гуморальных механизмов при АБА относительно АТ. В группах АТ и АБА увеличено содержание C3d относительно контроля. В норме иммунные комплексы должны быстро элиминироваться из организма, но при интенсивной нагрузке антигенами они накапливаются и могут инициировать воспаление. В исследованиях патогенеза различных фенотипов лимфоцитов при АБА достоверно увеличена концентрация ЦИК относительно контроля [69], при этом увеличение концентрации также влияет на тяжесть течения БА, но есть результаты исследований, описывающие нормальное содержание ЦИК при БА [101]. Вероятно, это связано с присоединением инфекции на фоне снижения ресурсов организма. Сравнение показателей иммунитета при псевдоатопии установило снижение концентрации IFN-γ и TNFα в группе ПРС относительно АТ. Для группы ПРС характерно увеличенное содержание NK — клеток относительно АТ. Одной из особенностей гуморального звена иммунитета для групп ПРС и АТ являлось увеличение

концентрации C3d относительно контроля. Система комплемента имеет ключевое значение при развитии аллергических заболеваний. Классический путь активации комплемента – самый эффективный и наиболее специфичный. Более быстрый путь активации комплемента–альтернативный, при участии C3d. Таким образом, увеличение концентрации C3d может быть следствием как высокой антигенной нагрузки, так и несостоятельности фагоцитарного звена, удаляющего ИК из кровотока. Как считают многие авторы, одной из теорий возникновения ПРС, является активация комплемента [9,104]. В группе АР выявлено увеличение относительного содержания В-лимфоцитов относительно АБА. Превалирование гуморального иммунитета при АР относительно смешанных механизмов при бронхиальной астме описано и в литературе [2,31]. Далее, обнаружено повышение концентрации sIgA при АР относительно АБА. В литературе имеются данные как о повышении и о понижении, но относительно группы контроля [131]. Можно предположить, что увеличение количества В-лимфоцитов является причиной увеличения концентрации sIgA. В то же время, изучаемый нами дисбактериоз может стимулировать повышенную продукцию sIgA и, как следствие, увеличение концентрации в-лимфоцитов. В модели нейросетевого классификатора" АБА-АР" наиболее значимым показателем стало относительное количество В-лимфоцитов.

Заключение

Нами проведено комплексное сравнительное микробиологическое и иммунометаболическое исследование больных респираторной атопией (АР и АБА) и псевдоатопией (ПРС и АТ) для выявления маркеров прогрессирования патологии при едином генезе, так и с целью установления дифференциально-диагностических маркеров при различном генезе (ПРС и АР; АТ и АБА).

Для атопических поражений респираторного тракта характерно увеличение общего количества условно-патогенной микрофлоры относительно контроля. При псевдоатопии микробный пейзаж значительно беднее, соответственно, общее число микробной флоры меньше относительно контроля и по сравнению с группами атопии. Полученные результаты микробиологического исследования расценены нами как явления нарушения микробиоценоза, наступившего вследствие снижения местного и системного иммунитета.

Изучение особенностей иммунитета и цитокиновой регуляции позволили сделать вывод о гуморальных механизмах при АР и переходу к смешанным механизмам при формировании АБА. При ПРС и АТ наблюдаем смешанные механизмы с девиацией в сторону Тн1- ответа на системном уровне; местный уровень цитокинов (в назальных смывах) демонстрирует однонаправленный Тн1-ответ.

Состояние внутриклеточного метаболизма лимфоцитов при респираторной атопии отражает разнонаправленные изменения активности внутриклеточных ферментов в лимфоцитах крови в зависимости от генеза воспаления и уровня поражения респираторного тракта. Так, при атопии (АР и АБА) выявлено усиление пластических процессов, при этом, уровень активности ферментов возрастает при АБА. Псевдоатопия характеризуется активизацией пластических и энергетических процессов, уровень активности снижается при АТ.

Таким образом, проведенное исследование позволило выделить особенности для респираторной атопии и псевдоатопии в зависимости от уровня поражения

дыхательных путей, так и от генеза аллергического воспаления. Полученные результаты могут помочь в дифференциальной диагностике как аллергических риносинуситов, так и бронхиальной астмы. Помимо этого, выделенные маркеры помогут оценить риск появления бронхиальной астмы у пациентов с атопическим и полипозным риносинуситом.

ВЫВОДЫ

1. Все выделенные клинико-патогенетические варианты респираторной аллергии характеризуются повышенным содержанием общего количества микробной флоры по сравнению с контролем. При атопии (АР, АБА) определено доминирование условно-патогенных микроорганизмов относительно псевдоатопии (ПРС, АТ). При АР увеличена концентрация семейства Enterobacteriaceae и Enterococcus и снижено количество Staphylococcus hominis относительно ПРС. При АБА увеличено содержание Enterococcus относительно АТ и АР. Увеличение численности бактерий семейства Enterobacteriaceae и Enterococcus акцентирует значимость этих семейств в инициации атопического воспаления верхних и нижних дыхательных путей.

2. Определены особенности показателей гуморального и клеточного звеньев иммунитета в зависимости от клинико-патогенетического варианта аллергии и уровня поражения респираторного тракта. При АР отмечается высокая концентрация sIgA и C1q относительно группы ПРС. При АР обнаружено увеличенное содержание В-клеток и sIgA и сниженное содержание Т-клеток относительно АБА. При ПРС выявлено повышенное количество NK-клеток и В-лимфоцитов и пониженное количество Т-лимфоцитов и Т-хелперов относительно АТ.

3. Определен дисбаланс концентрации цитокинов в зависимости от генеза воспаления и уровня поражения респираторного тракта. Атопический риносинусит и атопическая бронхиальная астма характеризуются девиацией иммунного ответа в сторону Th2-лимфоцитов и сопровождаются повышением концентрации IL-4 и IL-6. Полипозный риносинусит и астматическая триада характеризуются активацией Th1-лимфоцитов и повышением концентрации IFN-γ и IL-2. Для поражения нижних отделов характерна высокая местная и системная концентрация IL-4 и низкие системные концентрации IFN-γ и TNFα при АБА относительно АТ.

4. Установлены разнонаправленные изменения активности внутриклеточных ферментов в лимфоцитах крови в зависимости от генеза воспаления и уровня поражения респираторного тракта. В группах АР и АБА выявлено усиление пластических процессов (уровень активности ферментов возрастает при АБА), а при ПРС – активизация пластических и энергетических процессов (уровень активности снижается при АТ). При этом, при поражении верхнего отдела респираторного тракта (ПРС и АР) установлена низкая концентрация ферментов НАДФ-ГДГ и НАДН-ЛДГ, которая возрастает при бронхиальной астме, независимо от генеза воспаления: АТ и максимальная концентрация обнаружена при АБА.

5. Направленность иммунологических, метаболических и микробиологических взаимосвязей в зависимости от типа аллергического воспаления указывает на общую иммунодепрессию, которая выражается нарастанием фенотипического дисбаланса клеток и их ареактивности за счет нарушения регуляторных механизмов. При АР и ПРС снижено количество положительных и отрицательных взаимосвязей, по мере прогрессирования патологии численность положительных и отрицательных корреляций возрастает. Дисфункции в работе фагоцитарного звена иммунитета на фоне цитокиновой дисрегуляции сопровождаются нарушением микробиоценоза слизистой оболочки носа.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Способ прогнозирования формирования астматической триады в результате исследования ферментативной активности лимфоцитов крови с помощью биолюминесцентного метода рекомендуется использовать в практической работе оториноларингологов, аллергологов-иммунологов. Определяют соотношение уровней активности ферментов глутаматдегидрогеназы (НАДФ-ГДГ) и лактатдегидрогеназы (НАДН-ЛДГ) у больных полипозным риносинуситом, при

значении полученного показателя равном или более 5,4 прогнозируют формирования АТ после полипотомии, а при значении показателя менее 5,4 прогнозируют отсутствие формирования АТ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адо А.Д. Общая аллергология.-М.: Медицина,1978.-620с.
2. Астафьева Н.Г. Риниты: иммунные и неиммунные основы гетерогенного синдрома / Н.Г. Астафьева // Вестник терапевта. – 2019. –№ 2. – С. 38.
3. Астафьева Н.Г. Многоликий ринит: современный взгляд на диагностику и алгоритм лечения / Астафьева Н.Г., Кобзев Д.Ю., Гамова И.В.и др. // Лечащий врач. – 2018. № 4: С. 7–18.
4. Ахмадиева Л.Ф. Состояние мукозального иммунитета у детей с круглогодичным аллергическим ринитом, ассоциированным с грибами рода candida / Ахмадиева Л.Ф., Маланичева Т.Г., Агафонова Е.В. // Практическая медицина. 2015. № 3-2 (88). С. 149-152.
5. Батуро А.П. Доминирование staphylococcus aureus в микробиоценозе полости носа у детей и взрослых с инфекционным и аллергическим ринитом / Батуро А.П., Романенко Э.Е., Леонова А.Ю., Ярцева А.С., Савлевич Е.Л., Мокроносова М.А. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. –2015. –№1. – С.72-74.
6. Башарина О.В. Исследование активности митохондриальных ферментов лимфоцитов здоровых доноров и больных острым панкреатитом в условиях УФ-облучения / Башарина О.В., Артюхов В.Г., Коробкина И.А., Спахова Я.Г. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2018. –№ 2. – С. 75-80.
7. Берёзов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Берёзов, Б.Ф. Коровкин. - М.: Медицина, 1998. – 704 с.
8. Бондаренко В.И. Бронхиальная астма глазами оториноларинголога / Бондаренко В.И., Солодченко Н.В. //Международный студенческий научный вестник. –2019. – № 1. – С. 27.
9. Борисова Т.В. Изменения цитокинового профиля, клеточного и гуморального иммунитета и их коррекция при бронхиальной астме /Т.В. Борисова Т.В.,

М.В. Кисилевский, Н.Ю. Анисимова и др.// Аллергология и иммунология. – 2017. –Т. 18. –№ 3. –С. 164-168.

10. Булыгин В.Г. Параметры метаболизма в лимфоцитов крови у больных хроническим вирусным гепатитом В / В.Г. Булыгин , Е.П. Тихонова , Н.А. Аксенова // Сибирское медицинское обозрение. –2010. – Т.2. № 62 .С. 33-36.
11. Винникова Н.В. Особенности микрофлоры полости носа больных полипозным риносинуситом / Винникова Н.В // Российская ринология. – 2015. – Т. 23. –№ 1. – С. 13-15.
12. Вишняков В.В. Арефьева Н.А., Иванченко О.А. Хронический риносинусит: Патогенез, диагностика и принципы лечения (клинические рекомендации). – М.: Практическая медицина. – 2014. – С. 12–13.
13. Воржева И.И. Аспириновая бронхиальная астма: особенности диагностики и лечения //Практическая пульмонология. – 2015. № 1.–С. 2-13.
14. Воржева И.И. Аспирининдуцированное респираторное заболевание: механизмы развития, диагностика и лечение / Воржева И.И., Черняк Б.А.// Фарматека. – 2018. –№ 8 (361). С. 24-33.
15. Вохидов У.Н. Показатели цитокинов Il-2, Il-4, Il-8 в сыворотке крови при различных формах хронических полипозных риносинуситов / Вохидов У.Н // Российская оториноларингология. – 2014. –№ 1 (68). –С. 30-32.
16. Вяльцева М.С. Хронический полипозный риносинусит - актуальная проблема оториноларингологии Вяльцева М.С. В сборнике: Перспективы развития современной медицины сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. –2016. С. –41-42.
17. Горбань А.Н. Нейронные сети на персональном компьютере / А.Н. Горбань, Д.А. Россиев. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН. – 1996. –276с.
18. Горбань А.Н. Обучение нейронных сетей. - М.; спб., параграф, 1990. – 160с
19. Гукасян Е.Л. Иммунная недостаточность в патогенезе риносинусита. Современные тенденции развития науки и технологий. –2016. – № 11–5. С. 25–28.

20. Дайхес Н.А. Полипозный риносинусит / Дайхес Н.А., Рязанцев С., Лопатин А.С., Пискунов Г., Карнеева О.В. Клинические рекомендации / Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов. Москва–Санкт-Петербург. – 2014.
21. Добрецов К.Г. Роль стафилококков в развитии хронического полипозного риносинусита / Добрецов К.Г., Макаревич С.В. // Российская ринология. – 2017. – Т. 25. –№ 1. С. – 36-40.
22. Дударев И.В. Значение микрофлоры в патогенезе хронического полипозного риносинусита / Дударев И.В., Сизякин Д.В., Винникова Н.В. // В сборнике: фокус на первичное звено здравоохранения: современные клинические рекомендации по профилактике и лечению заболеваний в амбулаторно-поликлинической практике х Юбилейная конференция врачей общей практики (семейных врачей) Юга России. 2015. – С. 104-107.
23. Дынева М.Е. Бронхиальная астма в сочетании с хроническим полипозным риносинуситом: эпидемиология, распространенность и особенности их взаимоотношения / Дынева М.Е., Курбачёва О.М., Савлевич Е.Л./ / Российский аллергологический журнал. –2018. –Т. 15. № 1-1. –С. 16-25.
24. Егоров В.И. Полипозный риносинусит / Егоров В.И., Рязанцев С.В., Карнеева О.В., Казанова А.В., Максимова Е.А./ / Клинические рекомендации / Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов. Москва. – 2016.
25. Еременко Ю.Е. Определение уровня цитокинов в сыворотке крови пациентов, страдающих хроническими полипозными риносинуситами / Еременко Ю.Е., Шестакова Е.В. // Оториноларингология Восточная Европа. – 2014. – № 2 (15). – С. 63-68.
26. Еременко Ю.Е. Роль аллергии в возникновении и развитии хронического полипозного риносинусита / Еременко Ю.Е., Котович А.Н.// Оториноларингология Восточная Европа. – 2014. № 2 (15). –С. 103-108.
27. Еременко Ю.Е. Выбор тактики лечения хронического полипозного риносинусита у пациентов с аспириновой триадой / Еременко Ю.Е., Котович

А.Н. // Оториноларингология Восточная Европа. – 2015. – № 3 (20). – С. 36-41.

28. Еременко Ю.Е. Иммунологические показатели у пациентов, страдающих хроническими полипозными риносинуситами / Сибирское медицинское обозрение. – 2015. – № 1 (91). –С. – 43-47.
29. Еременко Ю.Е. Особенности течения хронического полипозного риносинусита у пациентов с аспириновой триадой / Еременко Ю.Е., Котович А.Н. // Оториноларингология Восточная Европа. – 2017. –№ 3. – С. 293-301.
30. Завадский А.В. К вопросу о патогенезе полипоза носа / Завадский А.В., Завадская Е.А. //Российская оториноларингология. – 2014. –№ 4 (71). –С. –57-61.
31. Зарипова Т.Н. Коморбидные заболевания: их влияние на воспалительный процесс в дыхательных путях больных бронхиальной астмой / Зарипова Т.Н., Антипова И.И. // Цитокины и воспаление. – 2015. –Т. 14. – № 4. С. 13-16.
32. Ильина Н.И. Федеральные клинические рекомендации. Аллергический ринит / Ильина Н.И., Курбачёва О.М., Павлова К.С., Польнер С.А.// Рос. Аллергол. Журн. – 2018. – 15(4): 43–53.
33. Инжеваткин Е.В. Неспецифическая метаболическая реакция клеток на экстремальные условия, Инжеваткин Е.В., Савченко А.А. // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2016. –№ 1. –С. 6.
34. Исаев П.Ю. Цитокины "кожного окна" при бронхиальной астме в сочетании с пищевой аллергией / Исаев П.Ю., Климов В.В., Свиридова В.С. // Российский иммунологический журнал. –2018. –Т. 12. –№ 3. –С. 317-320.
35. Йорданова А.А. Микрофлора слизистой оболочки полости носа при аллергическом риносинусите / Йорданова А.А., Кислова И.А., Белякова Р.А., Портенко Е.Г./ / Тверской медицинский журнал. – 2017. –№ 5. – С. 85.
36. Козаченко Ю.В. Развитие исследований бронхиальной астмы в россии / Естественные и технические науки. – 2015. – № 6 (84). – С. 143-151.

37. Козлов В.С. Полипозный риносинусит. Современные подходы к изучению патогенеза, диагностике и лечению / Козлов В.С., Савлевич Е.Л. // Вестник оториноларингологии. – 2015. – Т. 80. – № 4. – С. 95-99.
38. Коленчукова О.А. Особенности иммунитета у больных аллергическим риносинуситом в зависимости от имунопатологической основы запуска аллергической реакции / Коленчукова О.А., Смирнова С.В., Савченко А.А.// Бюллетень восточносибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2012. –№ 3-2 (85). – С. 83.
39. Коленчукова О.А. Особенности иммунологической и метаболической реактивности лимфоцитов крови у больных хроническим и острым риносинуситами / Коленчукова О.А., Кузнецов С.А., Рожкова О.А., Савченко А.А.// Российская ринология. –2013. – Т. 21. –№ 3. – С. 4-6.
40. Коленчукова О.А. Характеристика микробиоценоза слизистой оболочки носа при остром бактериальном риносинусите / Вестник оториноларингологии. – 2017. – Т. 82. – № 5. – С. 28-31.
41. Кошель И.В. Кислотный спектр сыворотки крови у пациентов с аспирин-ассоциированным полипозным риносинуситом / Оториноларингология Восточная Европа. – 2016. –№ 3 (24). –С. 294-301.
42. Курбачёва О.М. Место антилейкотриеновых препаратов в противовоспалительной терапии бронхиальной астмы / Курбачёва О.М., Галицкая М.А. // Российский аллергологический журнал. – 2017. –Т. 14. –№ 4-5. – С. 71-79.
43. Лиханова М.А. Полипозный риносинусит - вопросы этиопатогенеза / Лиханова М.А., Бондарев О.И., Мингалев Н.В., Лебедева Р.Н. // Омский научный вестник. – 2014. –№ 2 (134). –С. 56-59.
44. Маркова Т.П., Особенности патогенеза и врожденного иммунитета при бронхиальной астме / Маркова Т.П., Ким М.Н., Чувиров Д.Г., Чувирова А.Г., Ярилина Л.Г.// Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. –2016. –Т. 95. –№ 4. –С. 110-115.

45. Мезенцева О.Ю. Корреляция уровня иммуноглобулина е и цитологического состава секрета слизистой оболочки у больных хроническим бактериальным и полипозным риносинуситом / Мезенцева О.Ю., Конопля Н.А., Честникова С.Э., Воробьева А.А., Левченко А.С. // Российская ринология. – 2015. –Т. 23. – № 3. –С. 26-29.
46. Мельник А.М. Состояние микрофлоры полости носа при полипозном риносинусите Мельник А.М., Воронов А.В., Дворянчиков В.В., Исаченко В.С., Ачба Р.Р. Российская оториноларингология. 2017. № 1 (86). С. 73-82.
47. Москалёв А.В. Хемокины, их рецепторы и особенности развития иммунного ответа / Москалёв А.В., Рудой А.С., Апчел В.Я. // Вестник Российской военно-медицинской академии. –2017. – № 2 (58). – С. 182-187.
48. Ненашева Н.М. Бронхиальная астма и сопутствующие заболевания: в фокусе аллергический ринит// Практическая пульмонология. – 2014. –№ 1. С. 2-9.
49. Нурдина М.С. Взаимосвязь уровня il-17, il-10 со степенью контроля бронхиальной астмы / Нурдина М.С., Купаев В.И. // Вестник современной клинической медицины. – 2017. – Т. 10. –№ 3. – С. 35-38.
50. Павлуш, Д.Г. Анализ современных представлений об этиопатогенезе полипозного риносинусита / Д.Г Павлуш, И.В. Дюйзен // Журнал Российская оториноларингология. – 2016. – № 85(6). – С. 95- 102.
51. Павлуш, Д.Г. Дифференциальный анализ образований полости носа и хронический полипозный риносинусит / Павлуш Д.Г., Матвеева Н.Ю., Дюйзен И.В. // Международный научно-исследовательский журнал. – 2018. – № 5 (71). – С. 113-115.
52. Парахонский А.П. Роль интерлейкинов в патогенезе атопических заболеваний / Естественно-гуманитарные исследования. – 2015. – № 3 (9). –С. 101-108.
53. Пискунов Г.З. Полипозный риносинусит. М.: Гэотармедиа, 2016.
54. Примушко П.В. Анализ влияния эндогенных факторов на развитие хронического полипозного риносинусита / Примушко П.В., Левченко А.С., Мезенцева О.Ю. // В сборнике: Фундаментальные и прикладные науки

сегодня Материалы XIV международной научно-практической конференции. – 2018. – С. 22-24.

55. Пухаева М.О. Микробный биоценоз при аллергическом рините у детей / Пухаева М.О., Галуева З.Р., Михайлиди Е.Ф. // Альманах мировой науки. – 2017. – № 5 (20). – С. 21-22.
56. Российская Ассоциация Аллергологов и Клинических Иммунологов (РААКИ). Аллергический ринит. Клинические рекомендации. 2018 [Rossiyskaya Assotsiatsiya Allergologov i Klinicheskikh Immunologov (RAAKI). Allergicheskiy rinit. Klinicheskiye rekomendatsii. 2018 (in Russian)].
57. Рябова М.А. Выбор метода хирургического лечения полипозного риносинусита у больных с бронхиальной астмой / рябова М.А., Шумилова Н.А. // Доктор.Ру. –2014. –№ 9-10 (97-98). –С. 76-80.
58. Рязанцев С.В. Сапова КИ. Аллергический ринит: Современный взгляд на нестареющую проблему//РМЖ. –2016. – №14. –с.940-9443.
59. Рязанцев С.В., Полипозный риносинусит / Рязанцев С.В., Лопатин А.С., Пискунов Г.З., Карнеева О.В. // Клинические рекомендации / Москва; Санкт-Петербург, 2014.
60. Рязанцев С.В. Аллергический ринит / Рязанцев С.В., Гончаров О.И. // Медицинский совет. – 2018. – № 20. – С. 76-79.
61. Рязанцев С.В. Современный взгляд на лечение хронического полипозного риносинусита / Рязанцев С.В., Будковая М.А. // Российская ринология. –2017. – Т. 25. –№ 1. – С. 54-59.
62. Савченко А.А. Биолюминесцентное определение активности НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ лимфоцитов // Лаб. Дело.– 1991. – № 11. – С. 22–25.
63. Савченко А.А. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ человека биолюминесцентным методом / А.А. Савченко, Л.Н. Сунцова // Лабораторное дело. - 1989. - № 11. - С. 23-25.
64. Савлевич Е.Л. Показатели клеточного иммунитета пациентов с хроническим полипозным риносинуситом / Савлевич Е.Л., Хайдуков С.В., Курбачева

О.М., Бондарева Г.П., Шачнев К.Н., Симбирцев А.С. // Медицинская иммунология. –2017. –Т. 19. –№ 6. –С. 731-738.

65. Самсонов В.П. Прогнозирование развития полипозного риносинусита у больных бронхиальной астмой / Самсонов В.П., Захарова Э.В., Нахамчен Л.Г. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. –2015. – № 56. –С. 42-45.
66. Свитич О.А. Механизмы врожденного иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы / Свитич О.А., Намазова-Баранова Л.С., Брагвадзе Б.Г., Зайцева М.А., Ганковская Л.В. // Аллергология и иммунология. –2016. –Т. 17. – № 3. – С. 194-196.
67. Сергеева И.В. Взаимосвязь структурно-метаболических параметров лимфоцитов и их функциональное состояние / Сергеева И.В., Камзалакова Н.И., Тихонова Е.П., Зотина Г.П., Алимов А.Д.// Фундаментальные исследования. –2015. – № 1-4. –С. 821-824.
68. Сергеева И.В. Взаимообусловленность внутриклеточного метаболизма и функциональной активности лимфоцитов / Сергеева И.В., Киселев О.И. // Научное обозрение. –2015. –№ 18. – С. 170-176.
69. Скибо Ю.В. Характеристики циркулирующих иммунных комплексов сыворотки больных атопической бронхиальной астмой различной степени тяжести / Скибо Ю.В. Н.Ш.Курмаева. В.Н. Цибулькина //Актуальные проблемы биохимии и лабораторной диагностики. Казанский медицинский журнал. –2013. –Том 94 –№5. 744-748.
70. Смирнова С.В. Аллергия и псевдоаллергия (к вопросам распространенности, этиологии, патогенеза, дифференциальной диагностики и терапии). – Красноярск: Гротеск, 1997 - 220 с.
71. Соболевская Я.В. Эпидемиологические и патогенетические аспекты сочетанной аллергической патологии / Соболевская Я.В., Асирян Е.Г. // Охрана материнства и детства. –2018. –№ 2 (32). – С. 32-37.
72. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / под ред. М. О. Биргера. - Л.: Медицина, 1982. – 159с.

73. Стагниева И.В. Цитокиновый баланс в определении тяжести риносинусита / Стагниева И.В., Волков А.Г., Гукасян Е.Л./ / В сборнике: Улучшение качества первичной медицинской помощи через призму подготовки высокопрофессиональных врачебных кадров: акценты на профилактику, раннюю диагностику и рациональную лекарственную терапию сборник статей V конгресса врачей первичного звена здравоохранения Юга России, XI конференции врачей общей практики (семейных врачей) Юга России. – 2016. –С. 255-257.
74. Султанова Д.Д. Микробиологический спектр возбудителей хронических риносинуситов у детей / Султанова Д.Д., Миртаджиева З.Д. //Молодой ученый. –2017. – № 16 (150). – С. 81-82.
75. Тамашевский А.В. Транспортная активность р-гликопротеина при изменении окислительно-восстановительного баланса в лимфоцитах пациентов с b-хроническим лимфоцитарным лейкозом / Тамашевский А.В., Гармаза Ю.М., Слобожанина Е.И., Свирновский А.И .// Биофизика. –2016. –Т. 61. –№ 6. –С. 1173-1181.
76. Темникова И.В. Мукоцилиарный транспорт и микробиота полости носа, околоносовых пазух при хроническом риносинусите, ассоциированном с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью / Темникова И.В., Онучина Е.В., Субботина М.В./ / Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. –2016. –Т. 1. –№ 3-2 (109). –С. 78-81.
77. Трушенко Н.В. Аллергический ринит: современный взгляд на патогенез, диагностику и лечение. Астма и аллергия. 2014. № 1. С. 3-9.
78. Трушина Е.Ю. Роль цитокинов как молекулярных маркеров воспаления при неаллергической бронхиальной астме / Трушина Е.Ю., Костина Е.М., Баранова Н.И., Типикин В.А. // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 4. –С. 179.
79. Тюлькова Н.А. НАД(Ф)Н-реагент для биолюминесцентного анализа / Н.А. Тюлькова, Э.В. Антонова. – Красноярск: ИБФ, 1991. – 18 с.

80. Угарова Н.Н. Биолюминесценция и биолюминесцентный анализ / Н.Н. Угарова, Л.Ю. Бровко, Г.Д. Кутузова // Биохимия. - 1993. - №9. - С. 1351-1373.
81. Усвяцов Б.Я. Характеристика микробного биоценоза слизистой оболочки носа у здоровых людей и стафилококковых бактерионосителей / Б.Я. Усвяцов, Л.И. Паршута, О.В. Бухарин // Журн. Микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. –2000. –№5. –С. 65–69.
82. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению аллергического ринита. –М.; 2018. 22 с.
83. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы 2016 // www.pulmonology.ru
84. Федосеев Г.Б. К вопросу о роли бактерий у больных бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких / Федосеев Г.Б., Трофимов В.И., Голубева В.И., Тимчик В.Г., Негруца К.В., Разумовская Т.С., Александрин В.А., Крякунов К.Н. // Российский аллергологический журнал. – 2018. –Т. 15. –№ 6. – С. 65-78.
85. Федосеев Г.Б. К вопросу о роли цитокинов в патогенезе бронхиальной астмы и возможностях антицитокиновой терапии / Федосеев Г.Б., Трофимов В.И., Негруца К.В., Тимчик В.Г., Голубева В.И., Александрин В.А., Разумовская Т.С., Крякунов К.Н. // Российский аллергологический журнал. – 2016. – № 6. – С. 23-36.
86. Федосенко С.В. Состав сообщества микроорганизмов в дыхательных путях у здоровых лиц и больных бронхиальной астмой / Федосенко С.В., Огородова Л.М., Карнаушкина М.А., Куликов Е.С., Деев И.А., Кириллова Н.А. // Вестник Российской академии медицинских наук. –2014. – Т. 69. –№ 3-4. –С. 71-76.
87. Фомина Д.С. Бронхиальная астма и коморбидные состояния: дифференцированный подход к ведению пациентов / Фомина Д.С., Ястребова Е.В., Бобрикова Е.Н.// Лечебное дело. – 2015. –№ 1. –С. 69-75.

88. Хаитов Р.М. Руководство по клинической иммунологии (диагностика заболеваний иммунной системы) / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 345 с.
89. Хундерякова Н.В. Определение соотношения аэробного гликолиза и дыхания в лимфоцитах крови человека как персонализированного неповреждающего показателя тяжести патологии и уровня здоровья / Н.В. Хундерякова , М.В. Захарченко , Т.В. Ячкула и др. // Электронный научно-образовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке. –2017. –Т. 19. – № 12. –С. 298-300.
90. Чаусова С.В. Изменение функциональной активности полиморфно-ядерных лейкоцитов периферической крови у больных с астматической триадой / С.В. Чаусова , Г.П. Бондарева , Е.А. Усанова и др. // Медицина критических состояний. –2014. –№ 2. –С. 30-35.
91. Чаусова С.В. Кислородозависимый метаболизм полиморфно-ядерных лейкоцитов периферической крови пациентов с непереносимостью нестероидных противовоспалительных препаратов / С.В. Чаусова, К.Г. Гуревич , Г.П. Бондарева и др. // Кубанский научный медицинский вестник. –2015. – № 4 (153). –С. 136-140.
92. Черняк Б.А., Эозинофильная астма: клиника и лечение / Черняк Б.А., Воржева И.И. // Доктор.Ру. –2014. –№ 5 (93). –С. 23-29.
93. Чеснокова Н.П. Особенности структуры, функции и метаболизма в- и т-систем лимфоцитов / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина , Т.Н. Жевак и др. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 4-2. –С. 293-297.
94. Чичкова Н.В. Аспирин и патология дыхательных путей. Чичкова Н.В., Фисенко В.П. РМЖ. –2016;4 274-280.
95. Чичкова Н.В. Бронхиальная астма и полипозный риносинусит: особенности клинического течения и тактика ведения больных. Астма и аллергия. 2015;1(72):19-23.

96. Чичкова Н.В. Ацетилсалициловая кислота и патология дыхательных путей / Чичкова Н.В., Фисенко В.П. // РМЖ. –2016. –Т. 24. № 4. –С. 274-279.
97. Чичкова Н.В. Нестероидные противовоспалительные средства и заболевания органов дыхания / Чичкова Н.В., Фисенко В.П. // Экспериментальная и клиническая фармакология. –2017. –Т. 80. № 9. –С. 40-49.
98. Чичкова Н.В. Ацетилсалициловая кислота и патология дыхательных путей / Чичкова Н.В. Фисенко В.П. // РМЖ. Оториноларингология. – 2016. – № 4. – С. 274–279.
99. Чотчаева А.А. Аллергический ринит: подходы к диагностике и лечению / Чотчаева А.А., Колотилина А.И., Корсунский И.А., Смирнова Г.И., Асманов А.И., Мунблит Д.Б. // «РМЖ» №9, стр. 22-28.
100. Чучалин А. Г. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы / Чучалин А. Г., Айсанов З. Р., Белевский, А. С. // - 2016.
101. Шагарова С.Г. Особенности иммунореактивности и метаболизма лимфоцитов крови в зависимости от патогенеза бронхиальной астмы / Шагарова С.Г., Смирнова С.В., Зенкина Л.В. // Acta Biomedica Scientifica. – 2012. –№ 3-2 (85). –С. 217-221.
102. Шепелен И.А. Микробиологическая лаборатория/ Шепелен И.А., Миронов А.Ю., Шепелин К.А.// Справочник бактериолога . –Москва, 2015.
103. Шиловский И.П. Антицитокиновая терапия бронхиальной астмы / Шиловский И.П., Ерошкина Д.В., Бабахин А.А., Хаитов М.Р. // Молекулярная биология. – 2017. – Т. 51. –№ 1. –С. 3-17.
104. Шумилова Н.А. Роль лабораторных показателей в оценке течения полипозного риносинусита Шумилова Н.А. Российская оториноларингология. – 2014. –№ 2 (69). –С. 107-111.
105. Юдина С.М. Особенности местных и системных механизмов аллергического воспаления при сезонном аллергическом рините / Юдина С.М., Тарабрина О.В., Иванова И.А., Макеева И.Ю. // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. –2018. –№ 2. –С. 38-43.

106. Ялымова Д.Л. Полипозный риносинусит: современный подход к лечению / Ялымова Д.Л., Вишняков В.В., Сосновская И.В. // Consilium Medicum. – 2014. –Т. 16. № 11. –С. 69-72.
107. Aberg, N. A Nasally applied cellulose powder in seasonal allergic rhinitis in adults with grass pollen allergy: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group study / N. Aberg, S.T. Ospanova, N.P. Nikitin et al. // Int Arch Allergy Immunol. – 2014. – Vol. 163. №4. – P.313–318.
108. Akdis C.A. Global Atlas of Allergic Rhinitis and Chronic Rhinosinusitis / Akdis C.A., Hellings P.W., Agache I., eds./ / Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. – 2015. – Vol. 1. –P. 232–233.
109. Augé, J. EAACI Position paper on the standardization of nasal allergen challenges. / Augé J., Vent J., Agache I., Airaksinen L., Campo Mozo P., Chaker A. Et al. //Allergy. –2018–Vol. 73 №8. –P.1597–1608.
110. Ayakannu R. Relationship between various cytokines implicated in asthma / R. Ayakannu, N.A. Abdullah, A.K. Radhakrishnan, R.V. Lechimi, C.K. Liam // Hum Immunol. 2019 May 1. Pii: S0198-8859(19)30010-2
111. Azlollahi M. The nasal microbiome in asthma / M. Azlollahi, T.D.Lee , J. Andrade, K. Oguntuyo, Y. Chun, G. Grishina Et al. // J. Allergy Clin. Immunol. – 2018. – Vol. 142, №3. –P.834–43
112. Baba S. T-cell phenotypes in chronic rhinosinusitis with nasal polyps in Japanese patients / Baba S, Kagoya R, Kondo K, Suzukawa M, Ohta K, Yamasoba T. // Allergy Asthma Clin Immunol. 2015 Nov 19; 11:33.
113. Bachert C. ICON: chronic rhinosinusitis/ C. Bachert, R. Pawankar , L. Zhang et all // World Allergy Organ J. – 2014. –Vol.7, №1. –P.25.
114. Bachert C. Current and future treatment options for adult chronic rhinosinusitis: Focus on nasal polyposis / C. Bachert, L. Zhang, P. Gevaert //J Allergy Clin Immunol. – 2015. –Vol.136, №6. –P.1431-1144.
115. Bachert C. Phenotypes and Emerging Endotypes of Chronic Rhinosinusitis / C. Bachert, C.A. Akdis. // J Allergy Clin Immunol Pract. –2016. –Vol.–4, №4. P.621-8.

116. Bachert C. Current and future treatment options for adult chronic rhinosinusitis: Focus on nasal polyposis / C. Bachert, L. Zhang, P. Gevaert // J Allergy Clin Immunol. –2015. –Vol. 6. –P. 1431–1440.
117. Ban G. Metabolomic analysis identifies potential diagnostic biomarkers for aspirin-exacerbated respiratory disease / G.Y. Ban, K. Cho, S.H. Kim et al. // Clinical & Experimental Allergy. 2017. – Vol. 47, №1. –P.37–47.
118. Bassis C.M. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals / C.M. Bassi, J.R. Erb-Downward, R.P. Dickson et al. // Mbio. 2015. –Vol. 6 ,№2. –P.37.
119. Bochenek G. Certain subphenotypes of aspirin-exacerbated respiratory disease distinguished by latent class analysis/ G. Bochenek, J. Kuschill-Dziurda, K. Szafraniec et all // J Allergy Clin Immunol. 2014. –Vol.133, №9. –103-106.
120. Bonfils P. Nasal polyposis. Rev Prat. –2019.– Vol.69, №3. –P.270-273.
121. Bousque J. POLLAR: Impact of air pollution on Asthma and Rhinitis; a European Institute of Innovation and Technology Health (EIT Health) project/ J. Bousquet, J.M. Anto , I. Annesi-Maesano et al. // Clin. Transl. Allergy. 2018. –Vol. 8. –P. 36.
122. Bousque J. MACVIA-ARIA Sentinel network for allergic rhinitis (MASK-rhinitis): the new generation guideline implementation / J. Bousquet, H.J. Schunemann, J. Fonseca, B. Samolinski et all //Allergy. 2015. – Vol.70, №11. – P.1372–1392.
123. Braido F. From “blockbusters” to “biosimilars”: an opportunity for patients, medical specialists and healthcare providers/ F. Braido, S. Holgate, G.W. Canonica // Pulm. Pharmacol. Ther. 2012. –Vol. 25, №6.P. 483–486.
124. Brożek J.L. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines — 2016 revision /J.L. Brożek , J. Bousquet , I. Agache //J. Allergy Clin. Immunol. 2017. – Vol. 140, №4. –P. 950–958.
125. Buchheit K. M. Update on the management of aspirin-exacerbated respiratory disease/ K.M. Buchheit, T.M. Laidlaw // Allergy, Asthma & Immunology Research. 2016. –Vol. 8, №4. –P.298–304.

126. Bunyavanich S. Systems biology of asthma and allergic diseases: a multiscale approach/ S. Bunyavanich, E.E. Schadt // J. Allergy Clin. Immunol. 2015. –Vol. 135, №1. –P.31–42.
127. Calus L. The response to nasal allergen provocation with grass pollen is reduced in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyposis and grass sensitization / Calus L, Devuyst L, Van Zele T, De Ruyck N, Derycke L, Bachert C, Gevaert P. // Clin Exp Allergy. – 2015.
128. Chalermwatanachai T. The microbiome of the upper airways: focus on chronic rhinosinusitis / T. Chalermwatanachai, L.C. Velásquez, C. Bachert //World Allergy Organ. J. –2015. –Vol. –8, №1. –P.3.
129. Chen K. Expression of cysteinyl leukotriene receptor GPR17 in eosinophilic and non-eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps / K. Chen, Z. Yu ,J. Yang ,H. Li // Asian Pac J Allergy Immunol. 2018. –Vol. 36, №2.P.93-100.
130. Chen Y. Progress of monoclonal antibody treatment for chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps / Y. Chen, X.B. Chen // Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2018. –Vol. 32,10. –P.789-793.
131. Chuchalin A.G. Chronic respiratory diseases and risk factors in 12 regions of the Russian Federation / A.G. Chuchalin, N. Khaltaev, N. Antonov // International Journal of COPD. –2014. –Vol. 9. –P.963–974.
132. Chung K.F. Airway microbial dysbiosis in asthmatic patients: A target for prevention and treatment? J. Allergy Clin. Immunol. – 2017. –Vol. 139, №4. – P.1071–81.
133. Huang Y.J. The respiratory microbiome and innate immunity in asthma. Curr. Opin. Pulm. Med. – 2015. – Vol.21, №1. –P.27–32.
134. Cingi C. Antileukotrienes in upper airway inflammatory diseases / C. Cingi C, Muluk NB, Ipci K et all /Allergy Asthma Rep. – 2015. –Vol. 15, №11.P. –6.
135. Durack J. Airway microbiota and the implications of dysbiosis in asthma / J. Durack, H.A. Boushey, S.V. Lynch // Curr. Allergy Asthma Rep. 2016. –Vol. 16, №8. –P.52.

136. Erdogan T. Comorbid diseases in aspirin-exacerbated respiratory disease, and asthma. T. Erdogan, G. Karakaya. 2015. –Vol.43, №5. –P.442
137. Farhadi M. Th1 and Th2 cytokine gene expression in atopic and nonatopic patients with nasal polyposis / M. Farhadi, M. Barati, A. Tabatabaii et all. Ear Nose Throat J. – 2015. –Vol.94, №6. –P.228-35.
138. Fereidouni M. Evaluation of the frequency of invariant natural killer T (inkt) cells in nasal polyps. M. Fereidouni, A. Derakhshani, S. Yueet at all. Clin Immunol. – 2019. –S1521-6616(18)30619-3.
139. Fokkens W. Capsaicin for rhinitis/ Fokkens W., Hellings P., Segboer C. // Curr. Allergy Asthma Rep. 2016; 16(8): 60.
140. Forster U. Eicosanoid imbalance correlates in vitro with the pattern of clinical symptoms of Samter's triad. / U. Forster, S. Strathmann, D. Schafer et al. // Rhinology. –2013. –Vol. 51, №1. –P. 6-9.
141. Gelardi M. Allergic and non-allergic rhinitis: relationship with nasal polyposis, asthma and family history/ M. Gelardi , L. Iannuzzi ,S. Tafuri Set all // Acta Otorhinolaryngol Ital. 2014. –Vol.34№1. –P.36-41.
142. Gemicioğlu B. Clinical challenges in elderly asthma/ B. Gemicioğlu, B. Müsellim , B. Değirmenci et all //Tuberk Toraks. –2019. – Vol.6, №1. –P.31–38
143. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA), updated 2019.
144. Hellings P.W. Non-allergic rhinitis: position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology / P.W. Hellings, P., Klimek L., Cingi C., Agache I., Akdis C., Bachert C. Et al. // Allergy. –2017. –Vol. 7, №11. –P.1657–1665.
145. Hoggard M. Evidence of microbiota dysbiosis in chronic rhinosinusitis / M. Hoggard, K. Biswas, M. Zoing et all. Int Forum Allergy Rhinol. –2017. –Vol.7, №3. – P.230-239
146. Holgate S.T. Asthma/ S.T. Holgate, S. Wenzel, D.S. Postma et al. Nat. Rev. Dis. Primers. –2015. –Vol.1. –P.15025.
147. Huang Y.J. The microbiome in allergic disease: Current understanding and future opportunities-2017 PRACTALL document of the American Academy of Allergy,

Asthma & Immunology and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology / Y.J. Huang, B.J. Marsland ,S. Bunyavanich et all // J. Allergy Clin. Immunol. – 2017. –Vol. 139, №4. – P.099–110.

148. Ibrahim C. A retrospective study of the clinical benefit from acetylsalicylic acid desensitization in patients with nasal polyposis and asthma / C. Ibrahim ,K. Singh ,G. Tsaiet all. // Allergy Asthma Clin Immunol. – 2014. – Vol. 11, №10. P.10-12.
149. Ikemoto A. Characterization of T-cell subpopulations in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. / Ickrath P, Kleinsasser N, Ding X, Ginzkey C, Beyersdorf N, Hagen R, Kerkau T, Hackenberg S. // Allergy Rhinol. – 2017. – Vol.8, №3. – P.139-147.
150. Jiao J. Role of IFN-γ, IL-13 and IL-17 on mucociliary differentiation of nasal epithelial cells in chronic rhinosinusitis with nasal polyps / J. Jiao , S. Duan , N. Meng et all // Clin Exp Allergy. – 2015. –
151. Johns C.B. Elevated total serum ige in nonatopic patients with aspirin-exacerbated respiratory disease / C.B. Johns, T.M. Laidlaw //Am J Rhinol Allergy. – 2014.–vol. 28(4) – P.287–289.
152. Katelaris C.H. Climate change: allergens and allergic diseases/ C.H. Katelaris, P.J. Beggs //Intern. Med. J. –2018. – Vol.48, №2. –P.129–34.
153. Kennedy JL. Aspirin-exacerbated respiratory disease: Prevalence, diagnosis, treatment, and considerations for the future /J.L. Kennedy, A.N. Stoner, L. Borish // Am J Rhinol Allergy. –2016. –Vol.3, №6. –P.407-413.
154. Kiley J.P. The lung microbiome. A new frontier in pulmonary medicine/ Kiley, J.P., Caler E.V. // Ann. Am. Thorac. –2014. –Vol. 11(Suppl. 1). –P.66–70.
155. Kristi B. The nasal microbiota in health and disease: variation within and between subjects / B. Kristi, H. Michael, J. Ravi et all // Frontiers in Microbiology. –2015. – Vol.6. –P. 1-9.
156. Laidlaw T. M. Aspirin-exacerbated respiratory disease—new prime suspects/ T.M. Laidlaw, J.A. Boyce // New England Journal of Medicine. –2016. –Vol. 374, №5. – P.484–488.

157. Laidlaw T.M. Prostaglandin E2 resistance in granulocytes from patients with aspirin-exacerbated respiratory disease / T.M. Laidlaw, A.J. Cutler, M.S. Kidder et al. // J Allergy Clin Immunol. – 2014.– vol.133, №6.–P.169-701.
158. Laidlaw T.M. Platelets in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease /T.M. Laidlaw, J. Boyce //J Allergy Clin Immunol. –2015. –Vol.135, №6. –P.1407-1414.
159. Laidlaw T.M. Pathogenesis of NSAID-induced reactions in aspirin-exacerbated respiratory disease / World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg. –2018. –Vol.4,3. –P.162-168.
160. Ledford D.K. Aspirin or other nonsteroidal inflammatory agent exacerbated asthma / D.K. Ledford , S.E. Wenzel , R.F. Lockey // J Allergy Clin Immunol Pract. – 2014. – Vol. 2. – P. 653–657.
161. Lee J.H. An update on the management of aspirin-exacerbated respiratory disease. LeeJH, JungCG, ParkHS.Expert Rev Respir Med. 2018. Feb;12(2):137-143.
162. Lehrer E. Management of chronic rhinosinusitis in asthma patients: is there still a debate? / E. Lehrer, J. Mullol, F. Agredo et all // Curr Allergy Asthma Rep. – Vol.14, №6. –P.440.
163. Leiria LO. Obesity and asthma: beyond TH2 inflammation/ L.O. Leiria, M.A. Martins, M.J. Saad // Metabolism. – 2015. –Vol.64, №2. – P.172-81.
164. Li Y. The expression of epithelial intercellular junctional proteins in the sinonasal tissue of subjects with chronic rhinosinusitis: a histopathologic study / Y. Li, X. Wang, R. Wang //ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2014.76(2):110–9.
165. Lowry C.A. The Microbiota, Immunoregulation, and Mental Health: Implications for Public Health / C.A. Lowry, D.G. Smith, P.H. Siebler, D. Schmidt, C.E. Stamper etal. // Curr Environ Health Rep. –2016.–Vol. 3, №3. P. 270–286.
166. Ma L. Reduced numbers of regulatory B cells are negatively correlated with disease activity in patients with new-onset rheumatoid arthritis / L. Ma , B. Liu , Z. Jiang Z// Clin. Rheumatol. - 2014. - Vol. 3, N 2. - P. 187-195.
167. Machado-Carvalho L. IL-4/IFN-γ inflammatory cytokine profile induces a deficient regulation of the IL-1β/IL-1RI/EP2/COX-2 pathway in nasal mucosa/ L.

Machado-Carvalho, J. Roca-Ferrer, C. Picado // Respir Med. –2019. –Vol. 150. – P.136-140.

168. Mao YJ. Increased expression of MUC5AC and MUC5B promoting bacterial biofilm formation in chronic rhinosinusitis patients/ Y.J. Mao, H.H. Chen, B. Wang et all // Auris Nasus Larynx. –2015. –Vol. 42, №4. –P294–298.

169. Martens K. Probiotics for the airways: potential to improve epithelial and immune homeostasis/ K. Martens, B. Pugin, I. De et all //Allergy. –2018. –Vol.73, №10. – P.1954–63.
170. Mastalerz L. Induced sputum eicosanoids during aspirin bronchial challenge of asthmatic patients with aspirin hypersensitivity/ L. Mastalerz, N. Celejewska-Wójcik , K. Wójcik K., et al. //Allergy. –2014. –Vol. 6, №11. –P.1550–1559.
171. Mitchell, J.E. Aspirin and salicylate in respiratory disease / J.E. Mitchell, I. Skypala I. // Rhinology. – 2013. –Vol.51. –P.195-105.
172. Mitsui C. Platelet activation markers overexpressed specifically in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease/ C. Mitsui, K. Kajiwara, H. Hayashi et al. // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2016. –Vol. 137, №2–P.400–411.
173. Mruwat R. Phospholipase A2-dependent release of inflammatory cytokines by superantigen-stimulated nasal polyps of patients with chronic rhinosinusitis / R. Mruwat, S. Kivity, R. Landsberg //Am J Rhinol Allergy. –2015. –Vol.2, №5. – P.122-8.
174. Okano M. Regulatory effect of TLR3 signaling on staphylococcal enterotoxin-induced IL-5, IL-13, IL-17A and IFN-γ production in chronic rhinosinusitis with nasal polyps / M. Okano, T. Fujiwara, S. Kariya Set all // Allergol Int. – 2016. – Vol. 65, №1. –P.96-102.
175. Oliveira I.S. Evaluation of improved quality of life with Azithromycin in the treatment of eosinophilic nasal polyposis / I.S. Oliveira,P.F. Crosara ,G.D. et all// Braz J Otorhinolaryngol. – 2016. –Vol.82, №2. –P.198-202.

176. Papadopoulos N.G. Phenotypes and endotypes of rhinitis and their impact on management: a PRACTALL report / N. G. Papadopoulos, J.A. Bernstein, P. Demoly et al. // Allergy. -2015. -Vol.70, №5. - P.474–94.
177. Pasha M.A. Role of innate lymphoid cells in allergic diseases/ Pasha MA, Patel G, Hopp R, Yang Q. // Allergy Asthma Proc. – 2019. – Vol.1, №40 (3). –P.138-145.
178. Pérez-Alzate D. Asthma and Rhinitis Induced by Selective Immediate Reactions to Paracetamol and Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs in Aspirin Tolerant Subjects, Pérez-Alzate D, Blanca-López N, Doña I, Agúndez JA, García-Martín E, Cornejo-García JA, Perkins JR, Blanca M, Canto G.Front Pharmacol. – 2016. – Vol. 20, №7. –P.215.
179. Pezato R. Systemic expression of inflammatory mediators in patients with chronic rhinosinusitis and nasal polyps with and without Aspirin Exacerbated Respiratory Disease / R. Pezato, M. Świerczyńska-Krępa, E.Niżankowska-Mogilnickaet all // Cytokine. –2016. –Vol. 77. –P.157-67.
180. Pham, D. L. Aspirin-exacerbated respiratory disease: an update / D.L. Pham, J.H. Lee, H.S. Park // Current Opinion in Pulmonary Medicine. –2017. –Vol. 23, №1. – P.89–96.
181. Poddighe D. Non-allergic rhinitis in children: epidemiological aspects, pathological features, diagnostic methodology and clinical management / D. Poddighe, M. Gelardi, A. Licari et all // World J. Methodol. – 2016. – Vol.6, №4. – P.200–213.
182. Rajan J. P. Prevalence of aspirin-exacerbated respiratory disease among asthmatic patients: a meta-analysis of the literature /J.P. Rajan, N.E. Wineinger D.D. Stevenson et all // Journal of Allergy and Clinical Immunology. –2015. –Vol. 135, №3. –P.676–681.
183. Reisacher W.R. Total and allergen-specific immunoglobulin E in the serum and nasal mucosa of a nonallergic population. Int. Forum Allergy Rhinol. –2016. – Vol.6, №6. – P.618–623.

184. Sakalar E.G. Aspirin-exacerbated respiratory disease and current treatment modalitie s/ Sakalar EG, Muluk NB, Kar M, Cingi C// Eur Arch Otorhinolaryngol. – 2017. –Vol. 274, №3. –P.1291-1300.
185. Sanak M. Eicosanoid mediators in the airway inflammation of asthmatic patients: what is new? Allergy, Asthma & Immunology Research. –2016. –Vol.8, №6. – P.481–490.
186. Scheckenbach K. Cytokine Patterns and Endotypes in Acute and Chronic Rhinosinusitis / Scheckenbach K, Wagenmann M.// Curr Allergy Asthma Rep. – 2016. –Vol.16, №1. –P.1.
187. Simon R.A. Aspirin-exacerbated respiratory disease: characteristics and management strategies / R.A. Simon, K.M. Dazy J.D. Waldram // Expert Rev Clin Immunol. –2015. –Vol. 11, №7. –P.805-17.
188. Smith K.A. Cost of adult chronic rhinosinusitis: A systematic review / K.A. Smith, R.R. Orlandi, L. Rudmik // Laryngoscope. –2015. –Vol.12, №7. –P.1547–1556.
189. Stevens W. W. Aspirin-exacerbated respiratory disease as an endotype of chronic rhinosinusitis/ W.W. Stevens, R.P. Schleimer // Immunology and Allergy Clinics of North America. –2016. –Vol.36, №4. –P.669–680.
190. Sukhan VS. Allergic rhinitis and asthma co-morbidity. Wiad Lek. – 2019. –Vol. 72, №4. –P.622-626.
191. Sur D.K. Treatment of allergic rhinitis / D.K. Sur, M. L. Plesa // Am. Fam. Physician. – 2015. –Vol. 92, №11. –P.985–92.
192. Simbirtsev A.S., Ketlinskiy S.A. Cytokines / A.S. Simbirtsev, S.A. Ketlinskiy // SPb: «Foliant» PublishingHouse, 2008. – P. 552.
193. Tartibi H.M. Clinical and biological markers of asthma control/ H.M. Tartibi, S.L. Bahna // Exp Rev of Clin Immunology. –2014. –Vol.10, №11. –P.1453-1461.
194. Thunberg, U. Bacterial findings in optimised sampling and characterisation of S. Aureus in chronic rhinosinusitis / U. Thunberg, B. Söderquist S // Hugosson Eur Arch Otorhinolaryngol. – 2017. – Vol. 274, №1. –P.311-319

195. Toppila-Salmi S. Molecular mechanisms of nasal epithelium in rhinitis and rhinosinusitis /S. Toppila-Salmi S, C.M. van Drunen, W.J. et all // Curr Allergy Asthma Rep. – 2015. –Vol.15, №2. –P.495.
196. Tsang M.S. Anti-Inflammatory Activities of Pentaherbs formula and Its Influence on Gut Microbiota in Allergic Asthma/ M.S. Tsang, S.W.S.W. Cheng et all // Molecules. – 2018. –Vol. 23. –P.277.
197. Tyrak K.E. Clinical and biochemical factors for response to aspirin desensitization in aspirin-induced asthma patients – pilot study. K.E. Tyrak, F. Mejza, M. Buczek et all // Przegl Lek. – 2016. –Vol.73, №12. –P.781-785.
198. Wang Z.C. Deficiency in interleukin-10 production by M2 macrophages in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps/ Z. C. Wang, Y. Yao, N.et all // Int Forum Allergy Rhinol. –2018. –Vol.8, №11. –P.1323-1333.
199. Wise S.K. International Consensus Statement on Allergy and Rhinology: Allergic Rhinitis. / S.K. Wise, S.Y. Lin, E. Toskala et al. //Int. Forum Allergy Rhinol. – 2018. – Vol. 8, №2 .P.108–352.
200. Wong T.W. Eosinophils regulate peripheral B-cell numbers in both mice and humans / T.W. Wong T,A.D. Doyle ,J.J. Lee // J. Immunol. - 2014. - Vol. 192, N 8. - P. 3548- 3558.
201. Xu J. Role of Interleukin-10 on Nasal Polypogenesis in Patients with Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps / J. Xu, R. Han, D.W. et all // Plos One. –2016. – Vol. 1. –P.9.
202. Yacoub, M.R. Are atopy and eosinophilic bronchial inflammation associated with relapsing forms of chronic rhinosinusitis with nasal polyps? / M.R. Yacoub, M. Trimarchi, G. Cremona et all //Clin Mol Allergy. –2015. – Vol. 11б№13(1). –P.23.
203. Yamaguchi T. Differences in urinary leukotriene E4 levels and distribution of eosinophils between chronic rhinosinusitis patients with aspirin-intolerant and -tolerant asthma / Yamaguchi T, Ishii T, Yamamoto K, Higashi N, Taniguchi M, M. Okamoto // Auris Nasus Larynx. –2016. –Vol. 43, №3. –P.304-308.

204. Zou Y. Characteristic expression and significance of CCL19 in different tissue types in chronic rhinosinusitis. / Y. Zou, Y. Wang, S.B. Wang // Exp Ther Med. – 2016. –Vol. 11, №1. –P.140-146.