

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБОУ ВО КУБГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ)

*На правах рукописи*

**АЛЕКСЕЕНКО ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА**

**БИОХИМИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
ФЕНОТИПОВ КОМОРБИДНОСТИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ,  
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ,  
АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА И САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА**

03.01.04 – биохимия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
профессор Быков Илья Михайлович

Краснодар – 2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|  |           |
|--|-----------|
| <b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>  | <b>6</b>  |
| <br><b>Глава 1. Обзор литературы .....</b>   | <b>16</b> |
| 1.1. Современные представления о коморбидных состояниях,<br>включающих хроническую обструктивную болезнь легких,<br>бронхиальную астму, атопический дерматит<br>и сахарный диабет 2 типа ..... | 16        |
| 1.1.1. Медико-социальные аспекты коморбидности .....   | 16        |
| 1.1.2. Медико-социальные и этиопатогенетические аспекты<br>хронической обструктивной болезни легких<br>в ракурсе ее коморбидного течения .....   | 18        |
| 1.1.2.1. Коморбидность хронической обструктивной болезни легких<br>и сахарного диабета 2 типа .....  | 21        |
| 1.1.2.2. Коморбидность бронхиальной астмы и хронической<br>обструктивной болезни легких .....  | 27        |
| 1.1.2.3. Коморбидность бронхиальной астмы<br>и сахарного диабета 2 типа .....  | 29        |
| 1.1.2.4. Коморбидность заболеваний аллергического генеза –<br>атопического дерматита и бронхиальной астмы .....  | 32        |
| 1.1.2.5. Патогенетические аспекты развития атопического дерматита<br>и бронхиальной астмы, определяющие возможность<br>их коморбидности .....  | 33        |
| 1.1.2.6. Особенности продукции прооксидантных факторов<br>и функционирования антиоксидантной системы<br>в респираторном тракте.....  | 36        |
| 1.1.2.7. Особенности течения окислительного стресса<br>при и атопическом дерматите и бронхиальной астме .....  | 38        |

|   |           |
|---|-----------|
| 1.1.2.8. Возможности коррекции окислительных нарушений<br>при аллергических заболеваниях .....  | 42        |
| 1.2. Возможности неинвазивной лабораторной диагностики<br>с использованием ротовой жидкости .....   | 43        |
| <b>Глава 2. Материалы и методы исследования .....</b>   | <b>46</b> |
| 2.1. Характеристика групп исследуемых лиц<br>клинической части исследования .....   | 49        |
| 2.2. Характеристика экспериментальной части исследования .....  | 52        |
| 2.3. Характеристика используемых средств для метаболической<br>коррекции гиперчувствительности немедленного типа<br>у лабораторных животных ..... | 53        |
| 2.4. Характеристика биологического материала исследуемых людей<br>и лабораторных животных .....   | 55        |
| 2.5. Характеристика изучаемых лабораторных показателей в крови<br>и ротовой жидкости исследуемых больных<br>и лабораторных животных .....         | 56        |
| 2.5.1. Определение некоторых цитокинов плазмы крови .....   | 57        |
| 2.5.2. Определение содержания иммуноглобулинов плазмы крови .....   | 58        |
| 2.5.3. Оценка функционального состояния<br>антиоксидантно-прооксидантной системы .....  | 59        |
| 2.5.4. Определение интенсивности окислительных процессов<br>в биологических жидкостях .....   | 64        |
| 2.5.5. Оценка уровня эндогенной интоксикации .....  | 66        |
| 2.5.6. Интегральные методы оценки состояния обмена веществ .....  | 67        |
| 2.6. Статистическая обработка результатов .....   | 70        |

|  |            |
|--|------------|
| <b>Глава 3. Патобиохимические изменения у больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с эндокринными нарушениями .....</b>  | <b>72</b>  |
| 3.1. Системный и локальный уровень содержания иммуноглобулинов у больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с эндокринными нарушениями .....   | 72         |
| 3.2. Системный и локальный уровень содержания цитокинов у больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с эндокринными нарушениями .....  | 76         |
| 3.3. Показатели активности свободнорадикальных процессов, функционирования антиоксидантной системы и уровня эндогенной интоксикации .....  | 85         |
| <b>Глава 4. Экспериментальная гиперчувствительность немедленного типа и способы ее метаболической коррекции .....</b>  | <b>98</b>  |
| 4.1. Влияние метаболических корректоров на изменение массы тела, содержание общего белка и состояние показателей иммунологической реактивности лабораторных животных при моделировании гиперчувствительности немедленного типа ..... | 98         |
| 4.2. Состояние прооксидантно-антиоксидантной системы и уровень эндогенной интоксикации у лабораторных животных .....   | 105        |
| <b>Глава 5. Обсуждение полученных результатов .....</b>  | <b>109</b> |
| 5.1. Характеристика метаболических нарушений при сочетанном течении аллергических заболеваний, хронической обструктивной болезни легких и сахарного диабета 2 типа .....   | 109        |
| 5.2. Возможности метаболической коррекции реакции гиперчувствительности немедленного типа в эксперименте .....   | 114        |

|  |     |
|--|-----|
| 5.3. Оценка корреляционных взаимосвязей между биохимическими и иммунологическими показателями крови и ротовой жидкости больных при сочетанном течении аллергических заболеваний, хронической обструктивной болезни легких и сахарного диабета 2 типа ..... | 116 |
| <b>Заключение</b> .....  | 121 |
| <b>Выводы</b> .....  | 134 |
| <b>Практические рекомендации</b> .....   | 137 |
| <b>Список сокращений</b> .....   | 139 |
| <b>Список литературы</b> .....   | 141 |
| <b>Приложения</b> .....  | 167 |

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Заболеваемость аллергическими заболеваниями постоянно растет и в настоящее время занимает третье место после заболеваний сердечно-сосудистой системы и онкологических заболеваний, а в некоторых регионах выходит на первое, охватывая 10–30 % взрослого и 20–50 % детского населения [С. Akdis et al., 2012; N.G. Papadopoulos et al., 2012; Т.А. Platts-Mills, 2015]. Распространенность аллергопатологий в различных регионах Российской Федерации составляет 15–35 %. При этом данный показатель по данным официальной статистики в 2–3 раза ниже, чем по результатам эпидемиологических исследований, что указывает на гиподиагностику данных заболеваний [И.Е. Козулина и соавт., 2013]. Эпизод острой аллергической реакции был в анамнезе практически у каждого жителя земного шара. Для структуры всей аллергической патологии характерен рост числа отдельных заболеваний. Прежде всего, это касается увеличения числа больных такими заболеваниями, как бронхиальная астма (БА) и атопический дерматит (АтД). Причинами роста числа больных и увеличения тяжести течения заболеваний считаются расширение спектра потенциально опасных аллергенов, ухудшение экологии и изменение характера питания.

В последнее время большое внимание исследователей и практикующих врачей привлекает проблема коморбидных заболеваний, как правило, взаимно связанных некоторыми звеньями патогенеза. У таких больных прогрессирующе снижается качество жизни и возрастает трехлетняя смертность. Наиболее часто течение бронхиальной астмы сопровождается заболеваниями верхних дыхательных путей (в том числе хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ)) и метаболическим синдромом с исходом в сахарный диабет 2 типа [А.Г. Чучалин и соавт., 2014; М.К. Perez, G. Piedimonte, 2014]. У больных бронхиальной астмой старше 65 лет в 16 %

выявляют сахарный диабет [В.А. Клименко и соавт., 2012, В.А. Иванов, 2014]. В ряде исследований была продемонстрирована связь инсулинорезистентности с высоким риском развития обструктивных заболеваний легких [М. Uzunlulu et al., 2011]. В последние годы активно обсуждается вопрос сочетанного течения бронхиальной астмы и ХОБЛ. Известно, что данный синдром имеет худшие прогнозы, более высокую смертность [Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GOLD), 2014; А.С. Белевский, 2014; Л.Ю. Пальмова и соавт., 2016]. ХОБЛ относится к числу наиболее распространенных заболеваний. В структуре заболеваемости ХОБЛ входит в число лидирующих по числу дней нетрудоспособности, причинам инвалидности и занимает 4-е место среди причин смерти в мире. ХОБЛ наносит значительный экономический ущерб, связанный с временной и стойкой утратой трудоспособности самой активной части населения. Учитывая социальную важность ХОБЛ и сахарного диабета 2 типа, также интересным представляется изучение их сочетанного течения [В.И. Кобылянский и соавт., 2014].

Актуальным вопросом является изучение перспективных путей коррекции метаболических нарушений у больных с вышеперечисленными заболеваниями. В настоящее время возможна только патогенетическая терапия аллергических заболеваний, ХОБЛ и сахарного диабета, направленная на ключевое звено метаболизма, определяющее развитие декомпенсации или обострения с дальнейшим прогрессированием болезни. Например, антигистаминная терапия и применение сахароснижающих препаратов. Интересными являются исследования возможностей применения в комплексной терапии средств направленных на отдельные патобиохимические механизмы – гипознергетические состояния, окислительный стресс, эндогенная интоксикация и другие подсистемы метаболических систем, участвующих в развитии целостной картины заболевания.

**Степень разработанности темы.** В исследованиях последнего времени все чаще отмечается важность воспалительной реакции в патогенезе различных болезней. Роль воспаления не ограничена инфекционной и аутоиммунной патологией, его роль велика и при других заболеваниях, таких как ишемическая болезнь сердца, ожирение. В доступной литературе имеется достаточно сведений, детально и доказательно характеризующих роль цитокинов в развитии и течении бронхиальной астмы. Ведущую роль в развитии и течении аллергических заболеваний, которые, как правило, относятся к IgE-зависимым процессам, играет нарушение регуляции синтеза IgE на уровне продукции ИЛ-4, что лежит в основе концепции о дисбалансе продукции цитокинов Th<sub>1</sub>- и Th<sub>2</sub>-лимфоцитами в патогенезе аллергии [J.L. Barlow et al., 2014; B. Liu et al., 2015; Jee-Boong Lee 2016]. Участие цитокинов в иммунорегуляции и воспалении достаточно хорошо доказано, эпидемиологическими исследованиями установлена связь между генетическим полиморфизмом и мутациями цитокиновых рецепторов и компонентов их сигнальных путей с аутоиммунными нарушениями, такими, как сахарный диабет (СД).

В развитии клинических проявлений СД, бронхиальной астмы, ХОБЛ и атопического дерматита участвуют различные факторы, среди которых особую роль играют процессы свободнорадикального окисления, липопероксидации с одновременным снижением антиоксидантного потенциала организма. Тесная связь окислительного стресса (ОС), воспаления и иммунного ответа в настоящее время общепризнана. В частности, известно, что активные формы кислорода (АФК), провоспалительные цитокины: фактор некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкин-1 (ИЛ-1), вызывают и поддерживают окислительный стресс, тогда как антиоксиданты обладают противовоспалительной активностью [Y. Nakamari et al., 2015, S. Vouamama et al., 2017].

Несмотря на сходные патобиохимические изменения, наблюдающиеся при описанных выше заболеваниях, достаточную изученность

иммунологической реактивности при СД, бронхиальной астме, ХОБЛ, аллергическом дерматите, патогенетические особенности сочетанного течения СД с бронхиальной астмой и ХОБЛ, с бронхиальной астмой и с аллергическим дерматитом остаются невыясненными. К числу наиболее важных, но все еще недостаточно изученных аспектов коморбидных заболеваний относят отсутствие результатов фундаментальных исследований в рамках системной биологии и медицины (В.С. Ширинский, И.В. Ширинский, 2014). Следует принять во внимание, что направленное воздействие на определенные патогенетические звенья, такие как перекисная модификация биомолекул, дисбаланс гуморальных факторов иммунной защиты, у рассматриваемых категорий больных может привести к снижению выраженности проявлений коморбидных и мультиморбидных заболеваний, и в том числе аллергического дерматита, СД, бронхиальной астмы, ХОБЛ, и уменьшению риска развития их инвалидизирующих осложнений.

Исходя из вышеизложенного, следует признать актуальным изучение особенностей иммунологической реактивности и факторов антиоксидантной защиты при сочетании сахарного диабета с бронхиальной астмой и ХОБЛ, а также при сочетании бронхиальной астмы, ХОБЛ и аллергического дерматита.

**Цель исследования:** изучение особенностей биохимических и иммунологических изменений на местном и системном уровнях при различных фенотипах сочетанного течения бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких, атопического дерматита и сахарного диабета, а также оценка эффективности коррекции метаболических нарушений при экспериментальной гиперчувствительности немедленного типа.

**Задачи исследования:**

1. Изучить особенности продукции гуморальных факторов защиты (иммуноглобулинов и цитокинов) на местном и системном уровнях у

больных хронической обструктивной болезнью легких, бронхиальной астмой, атопическим дерматитом и сахарным диабетом 2 типа при различных фенотипах их сочетанного течения.

2. Исследовать особенности функционирования антиоксидантно-прооксидантной системы на местном и системном уровнях у больных бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких, атопическим дерматитом и сахарным диабетом 2 типа при различных вариантах их коморбидности.

3. Определить информативные алгоритмы расширенного спектра биохимических и иммунологических исследований при изучаемых фенотипах сочетанных заболеваний, которые позволят выявить особенности лабораторной картины иммунного статуса и баланса прооксидантно-антиоксидантной системы.

4. Изучить влияние воды со сниженным содержанием дейтерия, многокомпонентной биологически активной добавки антиоксидантной направленности (EAN: 5907529461563) и дихлорацетата натрия на состояние иммунологической реактивности и показатели прооксидантно-антиоксидантной системы, при экспериментальном моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс.

#### **Научная новизна:**

1. Впервые проведено комплексное изучение показателей иммунного статуса и баланса прооксидантно-антиоксидантной системы на системном и локальном уровнях у больных с различными фенотипами сочетанного течения бронхиальной астмы, ХОБЛ, СД 2 типа и атопического дерматита. Полученные результаты позволили выявить в этих клинических группах характерные особенности состояния оксидативной и иммунной систем, на основании чего были отобраны и предложены дополнительные лабораторные маркеры для разработки диагностических алгоритмов рекомендуемых при изученных коморбидных заболеваниях.

3. Впервые показано, что выраженность и направленность изменений исследованных биохимических и иммунологических показателей больных с изученными сочетанными формами заболеваний имеют статистически значимые корреляционные взаимосвязи в крови и в ротовой жидкости, а также между одноименными показателями этих биожидкостей, что позволило определить наиболее информативные конstellляции лабораторных исследований при изученных фенотипах коморбидной патологии.

3. Впервые экспериментально обоснована и доказана эффективность использования воды со сниженным содержанием дейтерия, биологически активной добавки (EAN: 5907529461563) с антиоксидантным составом и дихлорацетата натрия на состояние иммунологической реактивности и показатели прооксидантно-антиоксидантной системы при моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс.

#### **Теоретическая и практическая значимость исследования:**

1. Теоретическая значимость работы заключается в исследовании особенностей продукции иммунобиохимических гуморальных факторов защиты, а также функционирования прооксидантно-антиоксидантной системы у больных с сочетанием СД 2 типа с бронхиальной астмой и ХОБЛ, сочетанием бронхиальной астмы с аллергическим дерматитом. Полученные результаты способствуют расширению и углублению представлений об особенностях биохимических и иммунологических изменений на местном и системном уровнях у больных СД, бронхиальной астмой, ХОБЛ, аллергическим дерматитом и при различных фенотипах их коморбидности, роли в их патогенетических звеньях нарушений продукции цитокинов и иммуноглобулинов, дисбаланса в работе прооксидантно-антиоксидантной системы и возможной взаимосвязи между этими явлениями.

2. Выявленные особенности лабораторных показателей при исследованных вариантах коморбидных заболеваний могут иметь

дифференциально-диагностическое значение. Установлены различия в выраженности изменений биохимических и иммунологических показателей у больных с различными фенотипами коморбидности: для больных у которых имеет место сочетанность с атопическими заболеваниями более значима оценка показателей иммунного статуса, а для больных, компонентом коморбидности которых являются ХОБЛ и/или СД 2 типа, более объективно отражает их состояние баланс про- антиоксидантной системы и показатели эндогенной интоксикации.

3. Предлагаемые алгоритмы расширенного спектра биохимических и иммунологических исследований при изученных фенотипах коморбидных заболеваний позволяют выявить особенности лабораторной картины иммунного статуса, состояния прооксидантно-антиоксидантной системы, при сочетанном течении ХОБЛ, бронхиальной астмы, СД 2 типа и атопического дерматита. Это может существенно расширить существующие представления об этих заболеваниях и позволит обосновать персонализированную тактику ведения больных, включая создание различных диагностических подходов при этих фенотипах коморбидных заболеваний.

**Методология и методы исследования.** Сбор данных и обработка полученных результатов проводились в соответствии с разработанной диссертантом схемой исследования, в которой были использованы адекватные поставленным задачам современные иммунохимические, биохимические, биофизические, экспериментальные, лабораторные и статистические методы.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Установлено, что у больных с изученными фенотипами коморбидных заболеваний имеют место различной степени выраженности и направленности статистически значимые характерные изменения

показателей иммунологического статуса и баланса прооксидантно-антиоксидантной системы.

2. Выявлены корреляционные взаимосвязи между показателями иммунологического статуса и баланса прооксидантно-антиоксидантной системы в крови и ротовой жидкости больных при сочетанном течении бронхиальной астмы и СД 2 типа, бронхиальной астмы и ХОБЛ, бронхиальной астмы и атопического дерматита, СД 2 типа и ХОБЛ, бронхиальной астмы, ХОБЛ и СД 2 типа, что позволило выделить характерные для различных фенотипов коморбидности конstellации маркеров изменений иммунной и оксидативной систем.

3. Предложенные алгоритмы расширенного спектра биохимических и иммунологических исследований крови и ротовой жидкости могут быть использованы для обоснования персонафицированной тактики ведения больных и создания диагностических подходов при изученных фенотипах коморбидных заболеваний.

4. Полученные результаты экспериментальных исследований доказывают эффективность применения средств метаболической направленности для нивелирования проявлений гиперчувствительности немедленного типа и перспективность дальнейшего изучения возможности использования воды со сниженным содержанием дейтерия, биологически активной добавки антиоксидантной направленности (EAN: 5907529461563) и дихлорацетата натрия в качестве компонентов комплексной коррекции биохимических и иммунных нарушений при аллергических заболеваниях.

**Степень достоверности и апробации работы.** Достоверности результатов и выводов выполненного исследования подтверждается адекватным количеством наблюдений испытуемых лиц ( $n = 285$ ) и лабораторных животных ( $n = 75$ ), достаточным объемом лабораторных данных, наличием контрольных групп и групп сравнения. Также достоверность представленных данных определяется непосредственным участием соискателя

в проведении всех лабораторных исследований и экспериментов с использованием животных. Полученные результаты были обработаны с использованием общепринятых методов статистического анализа.

Результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на заседаниях кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и расширенных межкафедральных заседаниях. Также материалы диссертационного исследования были представлены на IX Всемирном конгрессе по иммунопатологии и респираторной аллергии, X съезде аллергологов и иммунологов СНГ (Сочи-Дагомыс, 2014), Международном научном форуме «Иммунитет и аллергия: взгляд в будущее» (Москва, 2015), XXI World congress on rehabilitation in medicine and immunorehabilitation (Singapore, 2015), Международном конгрессе «Инновационные технологии в иммунологии и аллергологии» (Москва, 2015), V Съезде физиологов СНГ, V Съезде биохимиков России, Конференции ADFLIM (Сочи, 2016), XXIII Всемирном конгрессе по клинической медицине и иммунореабилитации (Нью-Йорк, США, 2016), V European Congress on Asthma & COPD (Tbilisi, Georgia, June 28–30, 2017).

**Внедрение результатов исследования.** Материалы диссертационного исследования используются для проведения практических занятий и чтения лекций в рамках учебного процесса на кафедре фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Кроме того основные результаты диссертации внедрены в практику ЦНИЛ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, а также в лечебно-диагностический процесс пульмонологического отделения ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодара и стационарного отделения ГБУЗ ККВД г. Краснодара.

**Публикации.** Всего по материалам диссертационной работы опубликовано 15 статей и тезисов, в том числе 8 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные

реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к ним.

**Личный вклад автора в исследование.** Диссертантом была проведена разработка дизайна исследования (94 %), проведен поиск и обзор отечественных и зарубежных источников литературы (94 %), лично выполнены все лабораторные исследования, проведена статистическая обработка и анализ полученных результатов (92 %). Соискатель принимал непосредственное участие в составлении выводов и формулировании научных положений, предложений для внедрения, разработке практических рекомендаций (90 %), написании статей (70 %) и тезисов (81 %), подготовил текст и иллюстративный материал для диссертации (95 %).

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертация изложена на 171 странице машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения и списка литературы, иллюстрирована 12 таблицами и 20 рисунками. Указатель литературы содержит 209 источников, из которых 61 отечественных и 148 зарубежных авторов.

## **Глава 1.**

### **ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

#### **1.1. Современные представления о коморбидных состояниях, включающих хроническую обструктивную болезнь легких, бронхиальную астму, атопический дерматит и сахарный диабет 2 типа**

##### **1.1.1. Медико-социальные аспекты коморбидности**

Диагностика, профилактика и лечение хронических неинфекционных заболеваний обозначены ВОЗ как приоритетный проект второго десятилетия XXI века, направленный на повышение качества жизни населения земного шара [И.В. Ширинский и соавт., 2009], что во многом обусловлено ожидаемым увеличением числа больных с коморбидными хроническими заболеваниями. Впервые понятие коморбидности было предложено в 1970 году [A.R. Feinstein, 1970]. В переводе с латинского языка в слове коморбидность 2 смысловые части: со – вместе, и morbus – болезнь. Одно из наиболее удачных определений коморбидности: «Коморбидность – сочетание у одного больного двух или более хронических заболеваний, патогенетически взаимосвязанных между собой или совпадающих по времени вне зависимости от активности каждого из них» [Кейт Надаль-Гинард, 2012]. Это определение не ставит никакое заболевание в «привилегированное» положение и подчеркивает принципиально важное положение: коморбидные заболевания возникают вследствие сходства патогенеза. Понятие «коморбидность» со временем видоизменялось в «полиморбидность», «мультиморбидность», «полипатия», «двойной диагноз», «соболезненность», «плюрипатология», но суть оставалась прежней.

У больных коморбидными заболеваниями прогрессивно увеличивается трехлетняя смертность. При двух и более заболеваниях она достигает 82 % [A. Miguel, 2002; S. Marti, 2006]. Сохранение такой тенденции ожидается и в

будущем, что обоснованно вызвало всплеск интереса к проблеме полипатий специалистов разного профиля [Кейт Надаль-Гинард, 2012]. Число публикаций, зарегистрированных в базе данных Medline по ключевому слову «мультиморбидность», возросло с 2000 по 2012 гг. в 4,5 раза [D.A. Isenberg et al., 1995; C. Huddon et al., 2005; Кейт Надаль-Гинард, 2012]. В 2010 г. создано международнонаучное общество мультиморбидности (International Research Community on Multimorbidity – IRCMo).

Несмотря на множество неразгаданных закономерностей коморбидности, на отсутствие ее единой терминологии и продолжающийся поиск новых комбинаций заболеваний, на основе имеющихся клинических и научных данных можно сделать вывод, что коморбидности присущ спектр несомненных свойств, характеризующих ее как неоднородное, часто встречающееся явление, которое увеличивает тяжесть состояния и ухудшает прогноз больных. Неоднородность же коморбидности обусловлена широким спектром вызывающих ее причин [P.S. Wang et al., 2005].

Современный этап изучения проблемы коморбидности характеризуется описанием фенотипа таких заболеваний, доказывающих, что коморбидность есть нечто другое, чем простая сумма клинических, биохимических, иммунологических и иных проявлений отдельных заболеваний [В.С. Ширинский, И.В. Ширинский, 2014].

По данным патологоанатомических исследований умерших от терапевтической патологии коморбидность в возрастной категории 67–77 лет составляет около 95 %. Коморбидность в виде сочетания 2–3 заболеваний встречается наиболее часто, однако в 2–3 % случаев у одного больного имеет место сочетание до 6–8 заболеваний. Количество больных с пятью и более коморбидными болезнями увеличилось с 42 % в 1988–1994 гг. до 58 % в 2003–2008 гг. [С.М. Boyd et al., 2005; G.E. Caughey et al., 2008]. Наблюдается рост коморбидности с возрастом. Около 80 % пожилых людей имеют три заболевания и более [Г.Т. Арьева и соавт., 2011; А.Л. Верткин, А.С. Скотников, 2013].

Таким образом, коморбидность – негативный фактор для прогноза заболевания, который повышает вероятность летального исхода. Коморбидные патологии ведут к увеличению срока лечения больного в стационаре, приводят к полипрагмазии, повышают количество осложнений после операций и процент инвалидизации, замедляют реабилитацию больного [С.М. Boyd et al., 2005; Ф.И. Беялов, 2013].

Наличие коморбидности следует учитывать при выборе алгоритма диагностики и схемы лечения той или иной болезни. Данной категории больных необходимо уточнять степень функциональных нарушений и морфологического статуса всех выявленных нозологических форм. При появлении каждого нового, в том числе маловыраженного симптома следует проводить исчерпывающее обследование с целью определения его причины.

### **1.1.2. Медико-социальные и этиопатогенетические аспекты хронической обструктивной болезни легких в ракурсе ее коморбидного течения**

Распространенность ХОБЛ растет в развивающихся и развитых странах, что приводит к увеличению прямых и косвенных затрат в системах здравоохранения во всем мире. В США, прямые затраты увеличились с 18 миллиардов долларов в 2002 году до 29,5 млрд. в 2010 году, в основном за счет расходов, связанных с госпитализацией. По прогнозам, бюджетные последствия ХОБЛ для расходов на здравоохранение будут продолжать расти к 2020 году [К.Ф. Adams et al., 2005]. Интересно, что в период с 1970 по 2002 гг. показатели смертности от инсульта и сердечных заболеваний снизились (соответственно на 63 % и 52 %), а смертность от ХОБЛ увеличилась на 100 % [А. Jemal et al., 2005]. ХОБЛ является третьей по значимости причиной смертности в США [К.Д. Kochanek et al., 2011; Н. Ni, J. Xu, 2016]. ХОБЛ является серьезной проблемой здравоохранения со значительными экономическими последствиями [Jasvinder A. Singh, S. Yu, 2016].

При проведении исследования распространенности основных хронических заболеваний установлено, что среди 291 978 человек с ХОБЛ основными сопутствующими хроническими заболеваниями были гипертоническая болезнь (46 %), сахарный диабет (31 %), аффективные расстройства (27 %), гиперлипидемия (20 %) и астма (18 %) [G. Westney et al., 2009].

Показано, что сопутствующие заболевания присутствует у большинства больных ХОБЛ. У 94 % пациентов с ХОБЛ выявлено, по крайней мере, одно коморбидное заболевание, и до 46 % имеют три или более [A. Sharafkhaneh et al., 2010].

В крупном исследовании, проведенном в провинции Онтарио (Канада) определены и сопоставлены показатели амбулаторных посещений, визитов в отделения скорой помощи и госпитализаций по поводу сопутствующих заболеваний у людей с ХОБЛ и без нее. Среди 7 241 591 взрослых лиц, включенных в исследование, 909 948 (12,6 %) имели ХОБЛ. Более половины всех случаев госпитализации больных ХОБЛ были осуществлены по поводу рака легких, третья часть – в связи с инфекционной патологией нижних дыхательных путей и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Четверть всех госпитализаций людей с ХОБЛ имела место по причине костных переломов и одна пятая в связи с наличием у пациентов сахарного диабета и психиатрических расстройств [A.S. Gershon et al., 2015]. Такие результаты согласуются с предыдущими популяционными исследованиями, демонстрирующими связь между ХОБЛ и широким спектром сопутствующих заболеваний [A. Corsonello et al., 2011], а также согласуются с исследованиями, демонстрирующими, что значительная часть дополнительных медицинских услуг, используемых пациентами, была направлена на устранение коморбидности, связанной с ХОБЛ [A.S. Gershon et al., 2013]. Повышенные затраты на лечение больных ХОБЛ с коморбидными заболеваниями связаны не только с их госпитализацией, но и с существенно повышенным использованием лекарственных средств [D.M. Halpin, M. Miravittles, 2006].

Коморбидность при ХОБЛ представляет собой серьезную проблему клинической медицины, во многом еще недостаточно изученную (Б.Б. Ромашов и соавт., 2015). Чаще всего ХОБЛ ассоциируется с раком легких и другими видами рака, астмами, синдромом обструктивного апноэ сна, гипертонией, сердечно-сосудистыми заболеваниями, диабетом, метаболическим синдромом, дисфункциональной скелетной миопатией, остеопорозом и психическими расстройствами. [W.M. Chatila et al., 2008; Hillas G. et al., 2015].

Van Manen и коллеги сообщили, что более чем у 11 % пациентов с ХОБЛ было у 1 из 2 сопутствующих заболеваний, у 15,8 % было 3–4 сопутствующих заболевания, а у 6,8 % было 5 или более сопутствующих заболеваний (J.G. van Manen et al., 2001). В другом исследовании Marpel и коллеги сообщили, что только у 6 % пациентов с ХОБЛ не было другого хронического заболевания (D.W. Marpel et al., 2000).

В развитии ХОБЛ особая роль принадлежит хроническому воспалению, которое является основой прогрессирования заболевания. Патогенез хронического воспаления включает оксидативный стресс, протеолитическую деструкцию ткани, иммунную недостаточность, колонизацию микроорганизмов. В начале заболевания ХОБЛ реализация этих компонентов патогенеза осуществляется под влиянием факторов риска, а при сформировавшейся болезни принимает характер самоподдерживающего процесса. Под влиянием этиологических факторов в респираторной системе активизируются нейтрофилы, макрофаги и лимфоциты, выделяющие медиаторы, которые усиливают воспалительный процесс и вызывают структурные изменения [P.J. Barnes et al., 2003; А.В. Будневский и соавт., 2014]. Курение ведет к десятикратному увеличению содержания в дистальных отделах респираторной системы нейтрофилов [Т. Mio, 1997], которые играют важную роль в гиперсекреции слизи и высвобождении протеиназ. Активированные нейтрофилы и макрофаги выделяют большое количество свободных радикалов, обладающих мощным повреждающим действием. Легочная антиоксидантная

защита состоит из энзимных (супероксиддисмутаза и глутатион) и неэнзимных (витамин Е, С,  $\beta$ -каротин, мочевиная кислота, флавоноиды, билирубин) систем [I. Rahman et al., 2005; С.Г. Дзугкоев и соавт., 2014].

Персистирующее воспаление при ХОБЛ связано с рядом системных проявлений, которые влияют на выживаемость пациентов и развитие коморбидных заболеваний. Медиатором некоторых системных эффектов может быть повышение концентраций провоспалительных цитокинов и свободных кислородных радикалов. Оксидантно-антиоксидантная система тесно связана с цитокиновым статусом респираторного тракта [Е.И. Шмелёв, 2003; А.Г. Чучалин, 2014].

#### **1.1.2.1. Коморбидность хронической обструктивной болезни легких и сахарного диабета 2 типа**

Сахарный диабет (СД) является одним из основных глобальных метаболических расстройств, затрагивающих более 300 миллионов людей во всем мире [G. Danaei et al., 2011]. По прогнозам количество больных диабетом возрастет более чем до 366 миллионов человек во всем мире к 2030 году (S. Wild et al., 2004 ).

Многочисленные исследования показали, что хроническое воспаление является частью синдрома резистентности к инсулину и связано с развитием СД [A. Festa et al., 2000; M. Crook, 2004]. Соответственно, хроническое системное воспаление, вероятно, является одним из общих знаменателей между ХОБЛ и СД. Как и при ХОБЛ, курение было установлено как фактор риска развития диабета [J.E. Manson et al., 2000; J.C. Will et al., 2001; J.S. Rana et al., 2004].

Эпидемиологические исследования показали, что СД часто встречается у пациентов с ХОБЛ и, вероятно, влияет на прогноз [D.M. Mannino et al., 2008; J.R. Feary et al., 2010]. Учитывая медико-социальную значимость ХОБЛ и сахарного диабета 2 типа, изучение их сочетанного течения представляется очень важным для здравоохранения [Кобылянский В.И. и соавт. 2014]. По

данным ряда авторов распространенность диабета среди пациентов с ХОБЛ колеблется от 2 % [S. Sidney et al., 2005] до 16 % [S.K. Park, J.L. Larson, 2014] и даже до 35,8 % [A. Couillard et al., 2011; Б.Б. Ромашов, Н.В. Полякова, 2015]. В США у пациентов с ХОБЛ коморбидный сахарный диабет выявляется в 11 % наблюдений (F. Holguin et al., 2011). В Италии выявили распространенность диабета у 18,7 % больных ХОБЛ и более высокий риск наличия диабета у пациентов с ожирением [P. Rogliani et al., 2014].

В исследованиях [J.R. Feary et al., 2010; K. Barnett et al., 2012; F. Baty et al., 2013] отмечается, что из всех пациентов с ХОБЛ у 9–13 % пациентов наблюдается сопутствующий сахарный диабет и 4–13 % пациентов с диабетом имеют сопутствующую ХОБЛ [M.R. Niefeld et al., 2003; K. Barnett et al., 2012; H. Luijks et al., 2012]. Хотя эти цифры исходят из разных источников и, следовательно, напрямую не сопоставимы, они ясно показывают, что сочетание ХОБЛ и диабета является довольно распространенным явлением. Тем не менее, существующие рекомендации по лечению ХОБЛ и сахарного диабета имеют ограниченную применимость для пациентов с коморбидными заболеваниями [M. Lugtenberg et al., 2011]. Мало известно о том, как наличие конкретного заболевания, например, такого как ХОБЛ, влияет на долгосрочный прогноз другого заболевания, такого как диабет. Эта информация может быть важна для персонализации планов борьбы с заболеваниями для пациентов с ХОБЛ и диабетом.

Было показано, что наличие диабета среди пациентов с ХОБЛ связано с более неблагоприятными исходами, такими как смертность и госпитализация [D.M. Mannino et al., 2008]. Доказательства взаимодействия между диабетом и ХОБЛ подтверждаются исследованиями, которые демонстрируют снижение функции легких как фактора риска развития диабета (G. Engstrom, L. Janson, 2002; G. Engstrom et al., 2003).

Имеются исследования [M. Sandler et al., 1987; O.L. Klein et al., 2011] показывающие связь более низкой функции легких с диабетом в общей

популяции, однако неясно, какое воздействие, если таковое имеет место быть, оказывает диабет на функцию легких у людей с установленным диагнозом ХОБЛ. Kinney с коллегами изучили этот вопрос и обнаружили, что хотя диабет был связан с ухудшением функции легких у бывших и нынешних курильщиков без установленной ХОБЛ, эта связь не была существенной у испытуемых с установленной ХОБЛ. Тем не менее, они отметили более низкую переносимость физической нагрузки у людей с ХОБЛ, также имеющих диабет по сравнению с теми, у кого диабет отсутствует [G.L. Kinney et al., 2014].

В исследовании потенциальных механизмов повышения риска развития сахарного диабета при ХОБЛ Bolton и соавторы продемонстрировали, что, хотя уровень глюкозы крови был одинаков у группы пациентов с ХОБЛ по сравнению с группой здоровых волонтеров, уровень резистентности к инсулину, был выше у пациентов с ХОБЛ по сравнению с контрольной группой, несмотря на минимальные различия индекса массы тела. У больных с ХОБЛ наблюдались более высокие уровни медиаторов воспаления, включая интерлейкин-6 и рецепторы фактора некроза опухоли- $\alpha$  [С.Е. Bolton et al., 2007]. Эти исследования свидетельствуют о том, что повышенный риск развития диабета связан с усиленным системным воспалением при ХОБЛ.

Результаты многоцентрового исследования [J. Miller et al., 2013], а также данные недавно проведенного на Тайване когортного исследования продемонстрировали, что ранее существовавший СД, сосуществующий с ХОБЛ, увеличивал риск смертности (Te-Wei Ho et al., 2017).

Показано, что коморбидный СД ассоциируется с увеличением продолжительности госпитализации, внутрибольничной летальности и долгосрочной смертностью после обострений ХОБЛ [A. Parappil et al., 2010; G. Gudmundsson et al., 2012; Y. Wang et al., 2014]. Механизмы, ответственные за отрицательное воздействие СД на прогноз ХОБЛ не до конца понятны и,

вероятно, многофакторны. Так, нарушенная функция легких, наблюдаемая у пациентов с СД, могла быть результатом прямого воздействия гипергликемии [D.A. Lawlor et al., 2004; A.A. Litonjua et al., 2005]. В экспериментах на крысах продемонстрировано, что воздействие гипергликемии на дыхательную систему характеризуется повышенным окислительным стрессом, структурными изменениями в легочной ткани и измененным газообменом [L.A. Forgiarini et al., 2009]. Предлагается, что общность патогенеза ХОБЛ, коморбидного с СД, начинается с гипоксии и резистентности к инсулину с последующим системным воспалением, окислительным стрессом, развитием эндотелиальной дисфункции и последующих сердечно-сосудистых событий. (E. Martinez-Ceron et al., 2012).

СД делает пациентов ХОБЛ уязвимыми для бактериальной инфекции легких. Гипергликемия может непосредственно способствовать или поддерживать рост бактерий в дыхательных путях [A.L. Brennan et al., 2007], а ослабленная фагоцитарная функция полиморфноядерных лейкоцитов выявлена у пациентов с СД [W. Marhoffer et al., 1992]. Таким образом, восприимчивость к бактериальной инфекции может способствовать ухудшению результатов у пациентов с ХОБЛ с коморбидным СД.

У больных ХОБЛ имеется относительно повышенный риск развития диабета [D.M. Mannino et al., 2008; M. Cazzola et al., 2010], но нередко диагноз диабета предшествует диагностике ХОБЛ, и пациенты с диабетом, имеют повышенный риск развития ХОБЛ [Y. Song et al., 2010]. Недавние данные также подтверждают, что ХОБЛ представляет собой важный фактор риска развития СД. [B.F. Sode et al., 2011]. Коморбидное развитие обоих заболеваний является результатом общих факторов риска, а также синергетического эффекта системного воспаления, опосредованного общими цитокинами [S.F. Ehrlich et al., 2010; R. Tkacova, 2010]. Коморбидный диабет сокращает период до первой госпитализации, увеличивает продолжительность госпитализации и риск смерти во время обострений

[E.H. Baker et al., 2006]. Диабет ухудшает 5-летнюю смертность у пациентов с ХОБЛ [M.Cazzola et al., 2010]. В целом, в настоящее время определена важная роль коморбидных заболеваний и состояний, в том числе и сахарного диабета, в течении и исходах ХОБЛ.

Установлено, что ХОБЛ является фактором риска развития сахарного диабета и метаболического синдрома. У 29,7 % пациентов симптомы ХОБЛ предшествовали диагнозу СД на 5,4 года, и у 8,4 % диагноз СД устанавливали при госпитализации [А.С. Рязанов и соавт., 2010; Ю.В. Алтухова и соавт., 2013]. Метаболический синдром (МС), нарушение толерантности к глюкозе, гиперинсулинемия определяются у 57,5 % больных ХОБЛ [А.С. Рязанов и соавт., 2010].

В настоящее время СД и МС рассматриваются как одни из ведущих факторов риска быстрого прогрессирования и тяжелого течения ХОБЛ. У больных ХОБЛ в сочетании с СД чаще возникают обострения: более 3 раз в год – у 53,8 % больных в сравнении с группой больных ХОБЛ без СД – 13,3 % [Е.А. Титова, 2003; С.А. Недомолкина и соавт., 2016]. Данные литературы свидетельствуют о недостаточной изученности проблемы взаимного влияния ХОБЛ, СД и МС [Я.Н. Шойхет и соавт., 2010; E. Küpeli et al., 2010].

При коморбидном течении ХОБЛ и сахарного диабета выявлены структурные и функциональные изменения эндотелиальных клеток капилляров легочных альвеол [Б.Б. Ромашов, Н.В. Полякова, 2015; K.F. Rabe et al., 2013]. Хроническая гипергликемия поддерживает патологические процессы в эндотелии, что приводит к ранним тяжелым осложнениям СД и ускоряет прогрессирование ХОБЛ. Синдром взаимного отягощения приводит к более быстрому прогрессированию эндотелиальной дисфункции [S.K. Park, J.L. Larson, 2014]. Таким образом, системное воспаление при ХОБЛ способствует метаболическому дисбалансу в организме, развитию резистентности к инсулину и СД 2 типа, что свидетельствует о существенной

роли ХОБЛ в патогенезе сахарного диабета 2 типа. При СД 2 также стимулируется секреция провоспалительных цитокинов, развивается оксидативный стресс и эндотелиальная дисфункция, которые поддерживают персистирующее воспаление в респираторном тракте и способствуют прогрессированию ХОБЛ и сахарного диабета и развитию осложнений. Возникает «замкнутый круг» отягощённого взаимного влияния ХОБЛ и сахарного диабета 2 типа. Знание этиопатогенетических аспектов коморбидной патологии позволит персонализированно подходить к лечению больных ХОБЛ и сахарным диабетом 2 типа.

Системное воспаление, свойственное обоим заболеваниям, проявляется увеличением в крови содержания провоспалительных цитокинов и снижением количества противовоспалительных цитокинов. Определение цитокинов у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких и сахарным диабетом 2-го типа носит прогностический характер. Взаимное неблагоприятное влияние этих двух заболеваний напрямую связано с повышением содержания воспалительных цитокинов, которые считаются причиной инсулинорезистентности и сахарного диабета 2-го типа. Всё это инициирует исследования патогенеза сочетания ХОБЛ и СД 2-го типа. Одно из ведущих направлений в патогенезе – нарушение иммунного статуса, а именно цитокинового статуса таких больных. При сочетании ХОБЛ и СД 2-го типа сдвиги в цитокиновом статусе характеризуются преимущественной активацией провоспалительных цитокинов, более высокими значениями отношений провоспалительных цитокинов (ФНО $\alpha$ , ИЛ-1) к противовоспалительным (ИЛ-4) [И.Ф. Костюк и соавт., 2013]. Взаимное неблагоприятное влияние ХОБЛ и СД может быть связано с повышением содержания воспалительных медиаторов (ФНО $\alpha$ , ИЛ-6, С-реактивного белка) при ХОБЛ, которые считаются причиной инсулинорезистентности и СД 2-го типа [Б.Б. Ромашов, Н.В. Полякова, 2015].

Кроме того, при диабете также увеличиваются уровни ФНО $\alpha$ , ИЛ-6 и С-реактивного белка, которые повышаются при ХОБЛ [К.Ф. Chung, 2001;

A.D. Pradhan et al., 2001; F.B. Hu et al., 2004]. Содержание интерлейкинов 6 (ИЛ-6) и 8 (ИЛ-8) коррелируют с частотой обострений и продолжительностью течения ХОБЛ, а длительность сахарного диабета 2-го типа и нарушения толерантности к углеводам взаимосвязана с концентрацией ФНО $\alpha$ , который является медиатором инсулинорезистентности [А.С. Рязанов, Н.Н. Еременко, 2010; Е.Г. Зарубина и соавт., 2011]. Исследования цитокинового статуса у пациентов с ХОБЛ и СД 2 типа к настоящему времени оставили открытыми вопросы диагностики их сочетанного течения, диагностических концентраций провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, их роли в патогенезе и клинической картине. В этой связи представляется целесообразным продолжить изучение цитокинового статуса пациентов с коморбидным течением ХОБЛ и СД 2 типа, чтобы ответить на эти вопросы [С.А. Недомолкина и соавт., 2017].

#### **1.1.2.2. Коморбидность бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких**

Бронхиальная астма и ХОБЛ являются основными хроническими обструктивными заболеваниями дыхательных путей, в этиопатогенезе которых имеет место воспалительный процесс. ХОБЛ характеризуется ограничением скорости воздушного потока, которое обратимо не полностью, обычно прогрессирует и связано с аномальным воспалительным ответом легких на вредные частицы или газы. У больных астмой, которые подвергаются воздействию вредных факторов (в частности, курения табака) может развиваться фиксированное ограничение потока воздуха. Таким образом, несмотря на то, что астму обычно можно отличить от ХОБЛ, у некоторых индивидуумов, у которых развиваются хронические респираторные симптомы и фиксированное ограничение скорости воздушного потока, может быть трудно дифференцировать два эти заболевания. У некоторых пациентов с хронической астмой, четкое различие

от ХОБЛ не всегда возможно с использованием существующих диагностических технологий и предполагается, что астма и ХОБЛ сосуществуют у этих пациентов. В последние годы активно обсуждается вопрос сочетанного течения бронхиальной астмы и ХОБЛ, для обозначения которого даже используют специальный термин – «синдром перекрёста БА-ХОБЛ». Распространённость такого состояния варьирует в больших пределах (15–55 %) и зависит от множества факторов. Известно, что данный синдром имеет худшие прогнозы, более высокую смертность [Белевский А.С. 2014, Пальмова Л.Ю. и соавт., 2016]. Сосуществование астмы и ХОБЛ у пожилых пациентов диагностируется довольно часто [J.B. Soriano et al., 2005]. В некоторых исследованиях, перекрывание диагнозов астмы и ХОБЛ превышает половину обследованных пациентов [S.E. Marsh et al., 2008; J.J. Fu et al., 2014]. Перекрытие идентифицируется путем нахождения повышенной изменчивости потока воздуха у пациентов с не полностью обратимой обструкцией дыхательных путей [P.G. Gibson et al., 2009]. Наличие синдрома перекреста ХОБЛ-астма связано с нарушением качества жизни и более частыми и тяжелыми обострениями по сравнению с пациентами с изолированной ХОБЛ [M. Hardin et al., 2011].

В августе 2014 года, совместный проект в отношении диагностики заболеваний сопровождающихся хроническим ограничением скорости воздушного потока (астма, ХОБЛ, и синдром перекреста астма-ХОБЛ) был опубликована научными комитетами GOLD и GINA [Global Initiative for Asthma, 2014]. Данный документ был основан на подробном обзоре литературы и консенсуса достигнутого этими комитетами. Это обеспечивает подход к различению астмы, ХОБЛ, и синдрома перекреста астмы и ХОБЛ, для которого предложен термин ACOS. Рекомендован ступенчатый подход к диагностике, включающий признание наличия заболевания дыхательных путей, синдромную их категоризацию как астма, ХОБЛ, или ACOS и, в случае необходимости, направление для специализированных исследований.

### **1.1.2.3. Коморбидность бронхиальной астмы и сахарного диабета 2 типа**

Бронхиальная астма широко распространенное заболевание и в настоящее время затрагивает почти четверть миллиарда людей во всем мире с ростом распространенности. Высокая вероятность сопутствующих заболеваний при бронхиальной астме продемонстрирована в недавнем исследовании проведенном в Германии в котором анализировалось соотношение распространенности и шансов сопутствующих заболеваний в популяции лиц с установленным диагнозом астмы [S. Neek et al., 2017]. Наиболее частыми коморбидными состояниями при бронхиальной астме являются заболевания верхних дыхательных путей (в том числе ХОБЛ), ожирение и депрессия. Самый частый вариант сочетания – бронхиальная астма и ожирение [Чучалин А.Г. и соавт., 2014]. Ожирение характеризуется развитием метаболического синдрома с исходом в сахарный диабет 2 типа. У больных бронхиальной астмой старше 65 лет сопутствующий сахарный диабет выявлен в 16 % наблюдений. [В.А. Клименко, А.С. Романова, 2012; Иванов В.А. 2014].

Некоторые эндокринные нарушения, включая сахарный диабет (СД) и ожирение, являются существенными факторами, влияющими на заболеваемость БА. В этом аспекте представляют интерес нарушение функционирования системы интерлейкинов при сочетании БА и СД 2-го типа, проявляющееся наличием дисбаланса  $Th_1/Th_2$  дифференцировки CD4+ клеток, а также патогенетическое значение гормонов, участвующих в регуляции метаболизма глюкозы.

Имеются сведения об увеличении количества госпитализаций больных, имеющих сочетание БА и СД 2-го типа вне зависимости от присутствия другой сопутствующей патологии [M. Hashemzadeh et al., 2009]. Обнаружено также, что СД 2 типа ассоциирован с увеличением распространенности БА преимущественно среди мужчин. Показано также, что у пациентов с

дыхательной недостаточностью чаще отмечается нарушение толерантности к глюкозе. Установлено, что у беременных, страдающих БА, повышается риск возникновения гестационного СД по сравнению с беременными без таковой [E. Sheiner et al., 2005]. В исследованиях, посвященных БА без сочетания с СД 2 типа, выявлена связь наличия заболевания с увеличением уровня экспрессии ряда цитокинов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4–6, ИЛ-10, ИЛ-13, ФНО $\alpha$ . При наличии СД 2 типа (в отсутствие БА) обнаружено достоверное повышение уровня экспрессии ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-2R, ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО $\alpha$ , ИЛ-18, некоторые из которых являются Th<sub>2</sub>-цитокинами, что позволило предположить наличие общих патогенетических механизмов у этих заболеваний.

Среди пациентов с СД в возрасте 20–44 лет обозначилась особая группа больных латентным аутоиммунным СД взрослых (latent autoimmune diabetes mellitus in adults – LADA) [И.В. Кононенко и соавт., 2004]. Установлено, что у больных LADA и СД 2 имеется более высокая базальная продукция мононуклеарными лейкоцитами ИЛ-4 по сравнению с пациентами с СД 1 типа. Это, вероятно, отражает патогенетические особенности функционирования Т-клеточного звена иммунной системы при LADA, отличные от механизмов развития СД 1 типа и определяющие медленное повреждение  $\beta$ клеток при этом заболевании, что фенотипически приближает LADA к СД 2 типа [Т.В. Саприна и соавт., 2011]. У больных СД, у которых проводилось лечение ингаляциями инсулина, уменьшался объем форсированного выдоха за 1-ю секунду [G.T. McMahon, R.A. Arky, 2007; D. Brealey et al., 2009], а также существенно снижалась гиперреактивность бронхов после ингаляции 5 %го изоосмолярного раствора глюкозы [В.Н. Минеев, Н.Ю. Булатова, 2001]. Кроме того, среди больных СД с низким уровнем контроля, получающих инсулин, заболеваемость БА встречалась реже. Полагают, что под воздействием инсулина изменяется дифференцировка Т-клеток, вызывая изменение ответа Th<sub>2</sub> клеток (одного из ключевых в патогенезе БА) и увеличение числа Th<sub>2</sub> клеток и Th<sub>2</sub> цитокинов [A. Viardot et al., 2007]. Выявленные особенности позволяют предполагать, что инсулин, вероятно влияет на течение БА [D.B.R. Insuela et al., 2013].

При активации  $\beta_2$ -адренорецепторов ингибируется функция различных воспалительных клеток, участвующих в патогенезе БА, в т. ч. тормозится IgE-опосредованное высвобождение гистамина [А.М. Scola et al., 2009], овальбумин-индуцированная инфильтрация эозинофилами дыхательных путей и адгезия эозинофилов на фибробластах легких, продукция ИЛ-4 и ИЛ-13 Т-клетками человека [Е. Goleva et al., 2004]. В качестве препаратов 1-й линии терапии у больных БА широко используются глюкокортикостероиды под воздействием которых повышается содержание глюкозы в крови, увеличивается продукция глюкозы в печени, снижается количество глюкозы в периферических тканях, ингибируется высвобождение инсулина из поджелудочной железы  $\beta$ -клетками [R. Giordano et al., 2012] в воспалительных клетках ингибируется активация и пролиферация Т-клеток, индуцируется апоптоз Т-и В-клеток, эозинофилов и тучных клеток [R.C. Torres et al., 2012], а также подавляется активность транскрипционного фактора GATA3, который регулирует экспрессию генов цитокинов, участвующих в патогенезе БА, в т.ч. ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13 в Th<sub>2</sub>-клетках, в результате чего снижается концентрация этих цитокинов [K. Maneechotesuwan et al., 2009].

При анализе особенностей коморбидного течения БА и СД следует учитывать существующую противоречивость данных о вероятном превалировании Th<sub>2</sub>-дисбаланса в патогенезе СД 2 типа. Патогенетические механизмы, лежащие в основе БА в сочетании с сопутствующим СД, остаются недостаточно изученными. Особенности патогенетических механизмов коморбидности БА и СД, по-видимому, имеют элементы как синергизма, так и антагонизма. При этом предполагается, что при одних фенотипах пульмонологической и эндокринной патологии наблюдаются антагонистические взаимодействия, а при других – синергические. Необходимо дальнейшее изучение особенностей этой сочетанной коморбидной патологии при отдельных фенотипических вариантах как БА, так и СД, учитывая гетерогенность этих заболеваний [Г.Б. Федосеев и соавт., 2011].

#### **1.1.2.4. Коморбидность заболеваний аллергического генеза – атопического дерматита и бронхиальной астмы**

Атопический дерматит (АтД) – это хроническое, рецидивирующее, аллергическое заболевание, развивающиеся, как правило, в детском возрасте, у лиц с наследственной предрасположенностью к атопии. Несмотря на определенные успехи в изучении аллергодерматозов, многие вопросы остаются еще не решенными и спорными. Прежде всего, это касается не до конца изученных механизмов их развития. В мультифакторной концепции патогенеза аллергодерматозов главная роль отводится иммунологическим механизмам.

Нередко наблюдается сочетание в различный возрастной период нескольких аллергических заболеваний, например атопического дерматита с бронхиальной астмой, что характеризуют как, так называемый «аллергический марш», и высокий риск его развития объясняют общностью иммунопатогенеза и сходностью генетических нарушений при атопии и астме [В.П. Пузырев, 2008]. Тяжесть нарушений при таких состояниях также обусловлена тем, что оба заболевания развиваются еще в детском возрасте, так примерно у 15–43 % детей с атопическим дерматитом в последующем развивается бронхиальная астма [С.В. Левашева и соавт., 2016].

Эпидемиологические исследования проведенные в Сингапуре в которых приняли участие 492 больных с атопическим дерматитом в возрасте от 1 мес до 74 лет, показали, что только 52 % пациентов имели атопический дерматит, без сочетанных заболеваний, в то время как 48 % пациентов имели коморбидные формы заболеваний: 12 % от общего количества больных имели БА, и еще 13 % и БА и аллергический ринит [Н.С. Williams et al., 1999]. Наблюдения, проведенные в Японии, также продемонстрировали высокий риск развития БА у детей с атопическим дерматитом [Y. Ohshima et al., 2002]. В течение 4-х лет наблюдений у 51 % детей отмечалось улучшение в течении АтД, у 34 % даже регресс кожных проявлений, однако почти у половины (45 %) наблюдаемых появилось свистящее дыхание и у 35 % – диагностирована БА. Сочетанные

формы атопического дерматита и БА, ввиду их широкой распространенности и социальной важности, в клинической практике также называют «дермореспираторным синдром» (ДРС), который следует рассматривать как естественный ход «аллергического марша». Сочетание АтД и БА обуславливает периодически возникающие обострения атопического дерматита и БА, нередко одновременно, с кратковременными ремиссиями, что характеризует один из наиболее тяжелых вариантов течения аллергических заболеваний.

Результаты эпидемиологических исследований подтверждаются многочисленными данными, полученными при экспериментальном моделировании у лабораторных животных атопического дерматита. Было показано, что сенсибилизация к кожным аллергенам стимулирует развитие гиперреактивности респираторного тракта. Таким образом, атопический дерматит можно рассматривать, как «стартовую площадку» для развития аллергических заболеваний уже на системном уровне. Предполагается, что проведение эффективной терапии атопического дерматита на ранних стадиях позволит снизить риск развития бронхиальной астмы [S. Illi, E. Von Mutius, 2004].

В литературе мы не нашли работ, посвященных клинико-иммунологическим показателям у пациентов с АтД взрослых при коморбидных состояниях аллергического генеза и фоновой соматической патологией, а также научного обоснования предпосылок для врачебного вмешательства у таких пациентов.

#### **1.1.2.5. Патогенетические аспекты развития атопического дерматита и бронхиальной астмы, определяющие возможность их коморбидности**

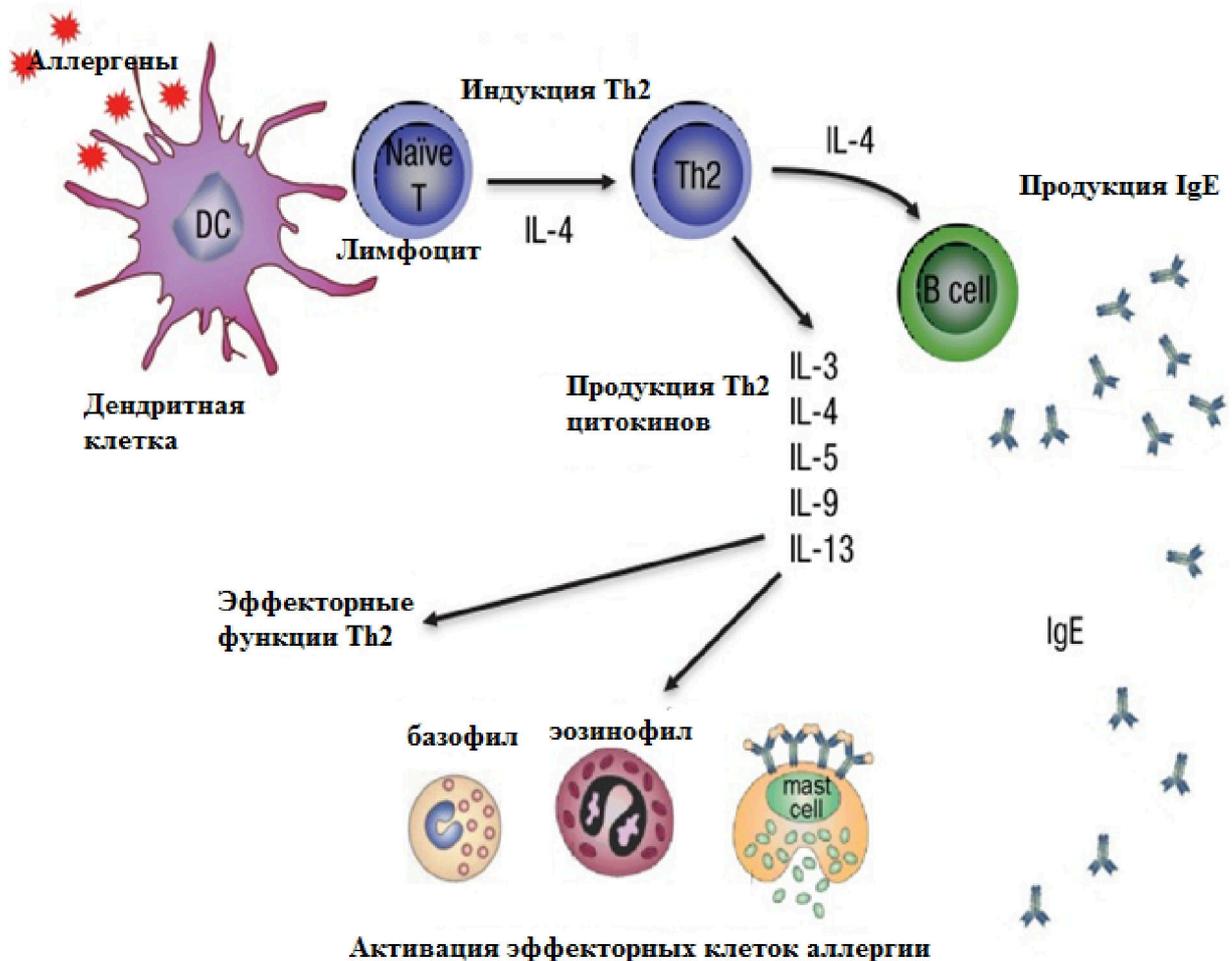
Необходимо отметить, что аллергические заболевания существенно влияют на все сферы жизнедеятельности человека, снижая качество жизни, и часто поражают трудоспособное население, что отражается и на

экономических показателях страны, учитывая хроническое течение таких заболеваний. В исследовании, проведенном Европейской ассоциацией аллергологов и клинических иммунологов, после постановки кожных тестов с использованием стандартных наборов аллергенов у 47 % обследованных (всего обследовано 350 добровольцев) была выявлена сенсibilизация к основным группам аллергенов [A. Muraro, 2014].

Широко используемый термин «атопический дерматит» отражает иммунологическую (аллергическую) концепцию патогенеза atopического дерматита. Ведущий иммунопатологический механизм заключается в двуфазном изменении Т-хелперов ( $Th_1$  и  $Th_2$ ). В острую фазу происходит активация  $Th_2$ , приводящая к образованию IgE-антител. Хроническая фаза болезни характеризуется преобладанием  $Th_1$ . В роли иммунного пускового механизма выступает взаимодействие аллергенов с IgE-антителами (реагинами) на поверхности тучных клеток и базофилов. Исследования доказали существование двух генов, имеющих отношение к основной иммунологической аномалии atopии – образованию IgE в ответ на аллергены окружающей среды.

Ведущую роль в развитии и течении atopических аллергических заболеваний, которые, как правило, относятся к IgE-зависимым процессам, играет нарушение регуляции синтеза IgE на уровне продукции ИЛ-4 (рисунок 1.1), что лежит в основе концепции о дисбалансе продукции цитокинов  $Th_1$ - и  $Th_2$ -лимфоцитами в патогенезе аллергии [J.L. Barlow et al., 2014; B. Liu et al., 2015; Jee-Boong Lee, 2016]. Известно, что и другие цитокины, такие как интерлейкины семейства ИЛ-10, ИЛ-17 и некоторые другие, способны влиять на формирование и течение аллергических заболеваний. Цитокины представленных семейств оказывают регуляторное действие на синтез IgE с помощью как прямых, так и опосредованных механизмов с возможностью отрицательной и положительной регуляции. Прямые механизмы заключаются преимущественно в усилении синтеза

цитокинов Th<sub>2</sub>-лимфоцитами, возрастании экспрессии генов ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13, а также увеличении активности В-лимфоцитов. Опосредованные механизмы связаны с усилением распознавания аллергенов антиген-распознающими клетками и возрастанием продукции ИФН $\gamma$ , являющегося важным регулятором продукции IgE [J.V. Lee, 2016].



**Рисунок 1.1** – Классический иммунный механизм IgE-опосредованной аллергии [Umut C.Kucuksezer 2013, Jee-Boong Lee 2016]

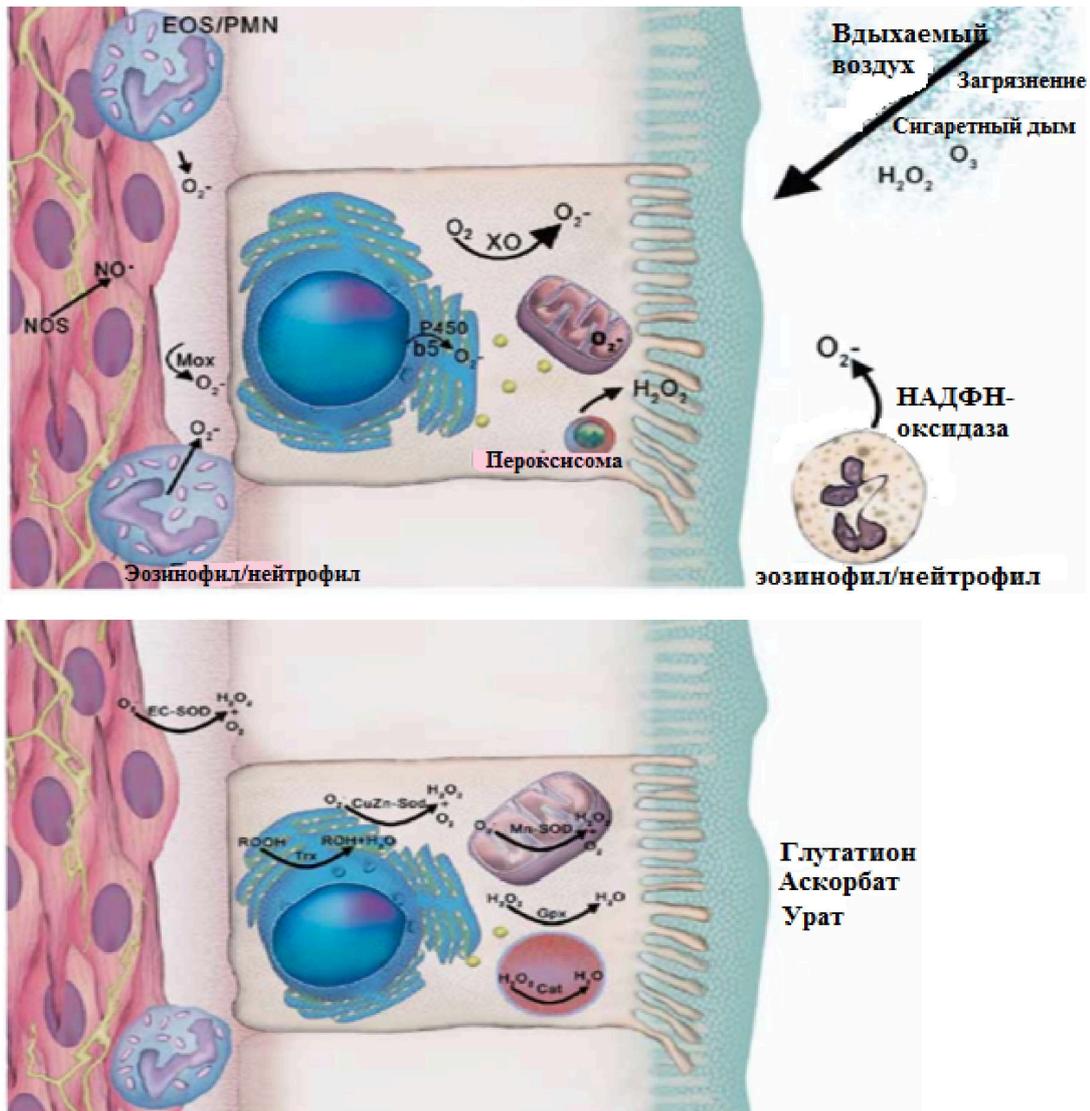
Примечание: нативные CD4-Т-клетки дифференцируются в Th<sub>2</sub>-клетки и продуцируют цитокины, такие как ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13 и ИЛ-9. Эти цитокины способствуют дифференцировке В-клеток в IgE-продуцирующие плазматические клетки. Аллерген-специфический IgE распределяется системно и связывается с рецепторами FcεR на тучных клетках и базофилах. Этот процесс называется сенсibilизацией. После сенсibilизации, повторное воздействие аллергенов на аллерген-специфические IgE, связанные с рецепторами на тучных клетках, индуцирует дегрануляцию тучных клеток и высвобождение нескольких видов медиаторов.

В процессе развития аллергических реакций, наряду с классическими иммунологическими изменениями, развиваются также биохимические нарушения. Существенную роль играет дисбаланс в прооксидантно-антиоксидантной системе, с интенсификацией свободнорадикальных процессов и развитием окислительного стресса. Усугубляет окислительные нарушения часто развивающаяся тканевая гипоксия. Окислительный стресс возникает при развитии многих заболеваний, в том числе сопровождающихся аллергическими и иммунологическими нарушениями.

#### **1.1.2.6. Особенности продукции прооксидантных факторов и функционирования антиоксидантной системы в респираторном тракте**

Прямое воздействие воздуха окружающей среды является дополнительным источником воздействия АФК. Так вдыхание табачного дыма приводит к повышенному образованию, как супероксида, так и пероксида водорода, оксида азота и нитритов, которые могут, в том числе опосредовать развитие опухолей легких. Другие источники окислителей окружающей среды включают загрязненный воздух, содержащий озон. Таким образом, АФК образуются повсеместно как внутриклеточно, так и внеклеточно, и имеют множество как эндогенных, так и экзогенных источников [С.К. Соодаева, 2012] (рисунок 1.2).

Основная защита от АФК – это эндогенные антиоксиданты, которые подразделяют на ферментное (энзимное) и неферментное звенья антиоксидантной системы (АОС) (рисунок 1.2.). Энзимные антиоксиданты включают семейства супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы и тиоредоксина [И.И. Павлюченко и соавт., 2006; С. Sackesen et al., 2008; И.Ю. Цымбалюк и соавт., 2015].



**Рисунок 1.2** – Антиоксидантные и прооксидантные факторы респираторного тракта  
[Russell P. Bowler 2002]

Кроме того, в каждом семействе есть изоферменты, которые различаются, прежде всего, их локализацией. Так, СОД млекопитающих бывают трех форм: цитозольные (СОД1), митохондриальные (СОД2) и внеклеточные (СОД3), а тиоредоксины подразделяются на цитозольные (Trx1) и митохондриальные (Trx2) [E.S. Arner, A. Holmgren, 2000]. Внеклеточная форма СОД является основным внеклеточный ферментом антирадикальной защиты и его активность наиболее велика в легких. Экспрессия генов кодирующих мРНК внеклеточной формы СОД в эпителии

дыхательных путей и эндотелии сосудов в 4 раза выше, чем в сердце, и в 15 раз больше, чем в печени [W.Y. Su, et al., 1997]. Фермент в основном связан с матрицей соединительной ткани в непосредственной близости от дыхательных путей и клеток гладких мышц сосудов. Преимущественная локализация внеклеточной СОД вокруг дыхательных путей и гладкой мускулатуры респираторного тракта говорит о том, что она может играть роль при аллергических заболеваниях дыхательных путей, таких как астма.

Неферментное звено антиоксидантной защиты включает в себя низкомолекулярные соединения, такие как глутатион, аскорбат, урат, альфа-токоферол, билирубин и липоевая кислота. Концентрации этих антиоксидантов варьируют в зависимости от субклеточной и анатомической локализации. Например, концентрация глутатиона в 100 раз выше в жидкости эпителиальной выстилки дыхательных путей по сравнению с плазмой крови [A. van der Vliet, et al., 1999]. Другие высокомолекулярные молекулы, которые можно рассматривать как антиоксиданты, включают белки, содержащие в своем составе тиоловые группы, такие как альбумин, и белки, связывающие ионы металлов, такие как трансферрин. Альбумин и трансферрин обнаружены в высоких концентрациях в сыворотке крови, и содержатся в значительно более низких концентрациях в жидкости выстилки дыхательных путей.

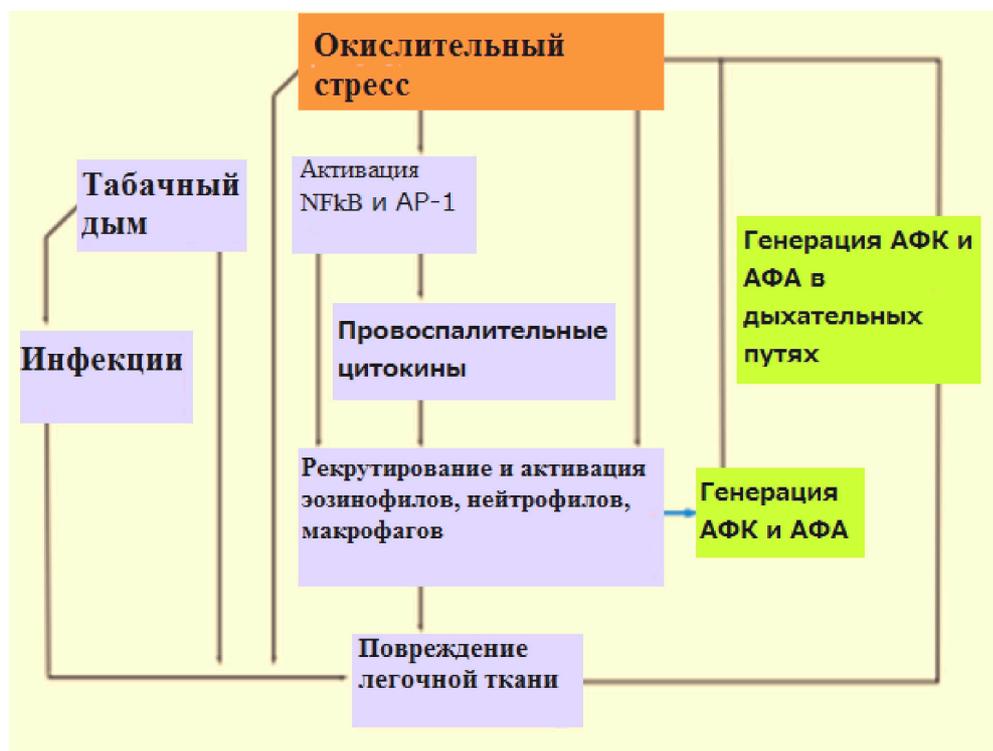
#### **1.1.2.7 Особенности течения окислительного стресса при и атопическом дерматите и бронхиальной астме**

Установлено, что у пациентов с аллергодерматозами снижены уровни витамина E, активности каталазы и глутатионпероксидазы в крови, хотя последнее зависит от активности, формы и стадии заболевания. Чаще всего наблюдается повышенная активность СОД. Первичными источниками продукции супероксидного анион-радикала у пациентов с тяжелым атопическим дерматитом являются периферические моноциты крови.

Во множестве работ продемонстрировано, что окислительный стресс играет важную роль в патогенезе астмы. Так исследования выдыхаемых газов у таких больных показали повышенное содержание пероксида водорода и уровня оксида азота [You Sook Cho, Hee-Vom Moon, 2010]. Кроме того, усиление продукции активных форм кислорода обратно коррелирует с объемом форсированного выдоха за 1-ю секунду. Воспаление в дыхательных путях является наиболее вероятным источником интенсификации свободнорадикальных процессов. Например, макрофаги дыхательных путей у пациентов с бронхиальной астмой продуцируют больше супероксидного анион-радикала, чем у здоровых доноров, а иммунологические нарушения провоцируют спонтанное образование АФК в эозинофилах у пациентов с астмой [M. Ferraro et al., 2017]. Циркулирующие клетки воспаления также усиливают свободнорадикальное окисление. Периферические моноциты крови активируются и секретируют супероксидный анион-радикал, когда IgE связывается с мембранными рецепторами, эозинофилы, выделенные у больных астмой спустя 24 часа после введения антигена, продуцируют большее количество пероксида водорода. Эозинофилы крови и моноциты также продуцируют больше АФК у пациентов с астмой по сравнению с группой контроля, представленной условно здоровыми добровольцами [I. Vachier et al., 1994]. Таким образом, окислительный стресс развивается как на местном уровне, так и распространяется на системном уровне, через патобиохимические изменения в клетках крови (рисунок 1.3).

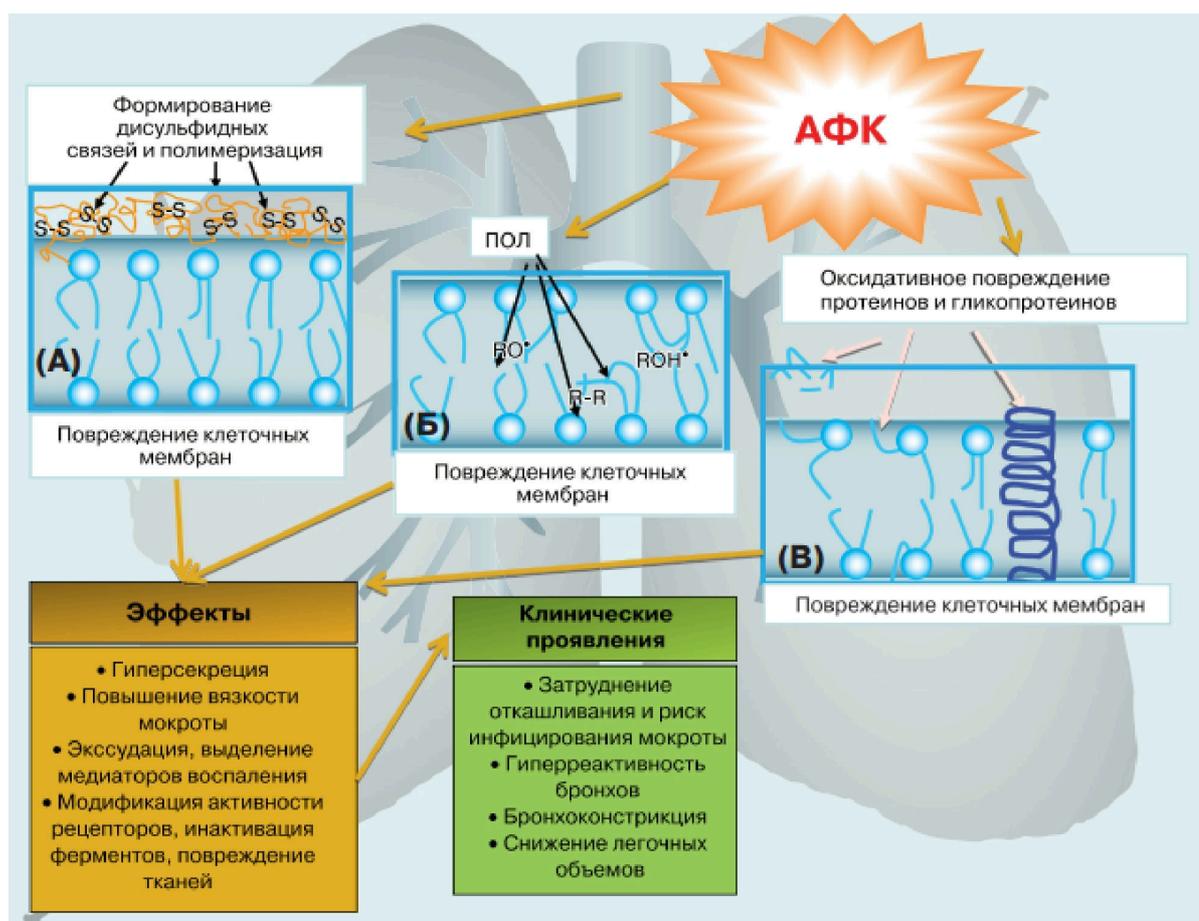
В ряде исследований показано, что увеличение количества активных форм кислорода, образующихся у пациентов с астмой, связано с окислительным повреждением биомолекул в ткани легких (рисунок 1.4). Увеличение количества активных форм кислорода во время обострения астмы может привести к срыву компенсаторных возможностей антиоксидантной защиты. Хотя у больных астмой увеличивается общее количество глутатиона в дыхательных путях, соотношение окисленного и восстановленного глутатиона также увеличивается. Содержание других

антиоксидантов дыхательных путей, такие как аскорбат и а-токоферол, по литературным данным снижается [Abhay Singh Yadav, Manisha Saini, 2016]. Активность СОД снижается в клетках смывов бронхиального дерева пациентов с астмой.



**Рисунок 1.3** – Связь воспаления и окислительного стресса при заболеваниях органов дыхания [С.К. Соодева, 2012]

Механизмы, с помощью которых АФК и другие радикалы и реактивные молекулы усугубляют течение астмы, могут включать эффекты воздействия на гладкую мускулатуру дыхательных путей и секрецию муцина. Свободные радикалы снижают функцию  $\beta$ -адренергических рецепторов в легких, а также повышают чувствительность мышц дыхательных путей к ацетилхолину. Пероксид водорода стимулирует митоген-активированные киназы в миоцитах трахеи и стимулирует сокращение гладкой мускулатуры трахеи. И в завершение интенсификация свободнорадикальных процессов стимулирует выработку слизи бронхиального дерева [I-Ta Leea, Chuen-Mao Yang , 2012; Li Zuoa et al., 2013; A. Nadeem et al., 2014].



**Рисунок 1.4** – Основные этапы повреждающего действия АФК на респираторный тракт  
[С.К. Соодаева, И.А. Климанов, 2009]

Другой мишенью активных форм кислорода может быть оксид азота, нарушение продукции которого играет важную роль в патогенезе астмы [Н. Sugiura, М. Ichinose, 2008]. Так, больные бронхиальной астмой имеют повышенный уровень выдыхаемого оксида азота, который может снижаться при действии кортикостероидов [Ritz T. et al., 2015]. Роль оксида азота в легких усложняется, тем, что есть 3 разных фермента – синтазы оксида азота (NOS). NOS I (nNOS, или нейрональная NOS) находится в неадренергических нервных окончаниях гладких мышц и может вызывать бронходилатацию, опосредованную окисью азота. NOS III (внеклеточная NOS) находится в основном на эндотелии и опосредует вазодилатацию. NOS II (индуцибельная NOS) может быть определена на множестве типов воспалительных и эпителиальных клеток.

Как nNOS, так и внеклеточная NOS являются конститутивно активными, а при бронхиальной астме в первую очередь индуцибельные NOS отвечают за повышенный уровень выдыхаемого оксида азота. Роль окиси азота при астме до конца не раскрыта, но отсутствие существенной бронхорелаксации, связанной с оксидом азота при астме, приводит к нарушению сигнальных путей в гладких мышцах бронхов [I. Rahman et al., 2006].

Двумя важными способами защиты сигнальной системы оксида азота являются преобразование оксида азота в более стабильные виды, такие как S-нитрозоглутатион, или снижение локальных концентраций свободных радикалов и реактивных молекул, инактивирующих NO, за счет функционирования антиоксидантной системы во внеклеточном пространстве. Предполагается, что S-нитрозоглутатион может быть одним из основных факторов релаксации гладких мышц дыхательных путей при астме [K. Fang et al., 2000; H.E. Marshall, J.S. Stamler, 2000]. Функциональная активность ферментов семейства СОД играет ведущее значение в сохранении активности оксида азота. Действительно, внеклеточная СОД в избытке присутствует как в гладких мышцах дыхательных путей, так и в легочной сосудистой системе и может быть механизмом сохранения бронходилатации гладкой мускулатуры, опосредованной оксидом азота, а также вазорегуляции.

#### **1.1.2.8. Возможности коррекции окислительных нарушений при аллергических заболеваниях**

Существует несколько стратегий коррекции окислительного стресса при бронхиальной астме: снижение продукции активных форм кислорода и повышение антиоксидантной защиты. Показано, что уменьшение воздействия окислителей окружающей среды, таких как нитриты и озон, может снизить частоту и выраженность обострений заболевания за счет ослабления активности легочных воспалительных клеток. Например, озон снижает ОФВ<sub>1</sub> на 12,5 % по сравнению с чистым воздухом, не содержащим озон, и дети, занимающиеся

спортом (следовательно, более подверженные внешнему воздействию), имеют более высокий уровень распространенности астмы в районах с высокой концентрацией озона в окружающей среде. Усиление защитного потенциала антиоксидантной системы с помощью каталитических антиоксидантов также может быть полезно для облегчения течения астмы и других респираторных заболеваний. Так внутриперитонеальное введение СОД снижает гиперреактивность дыхательных путей у лабораторных животных, а низкомолекулярный СОД-миметик ослабляет индуцированный блеомицином фиброз у мышей. Роль этих каталитических антиоксидантов в аллергических расстройствах требует дальнейшего изучения. Кроме того, поскольку аллергические расстройства, такие как астма, являются многофакторными, блокирование окислительного стресса вряд ли приведет к полному разрешению бронхоконстрикции, но в качестве вспомогательной терапии может оказаться полезным [S.A.A. Comhair et al., 2005; А.А. Басов, И.М. Быков, 2013; И.М. Быков и соавт., 2015; К.И. Мелконян и соавт., 2015].

## **1.2. Возможности неинвазивной лабораторной диагностики с использованием ротовой жидкости**

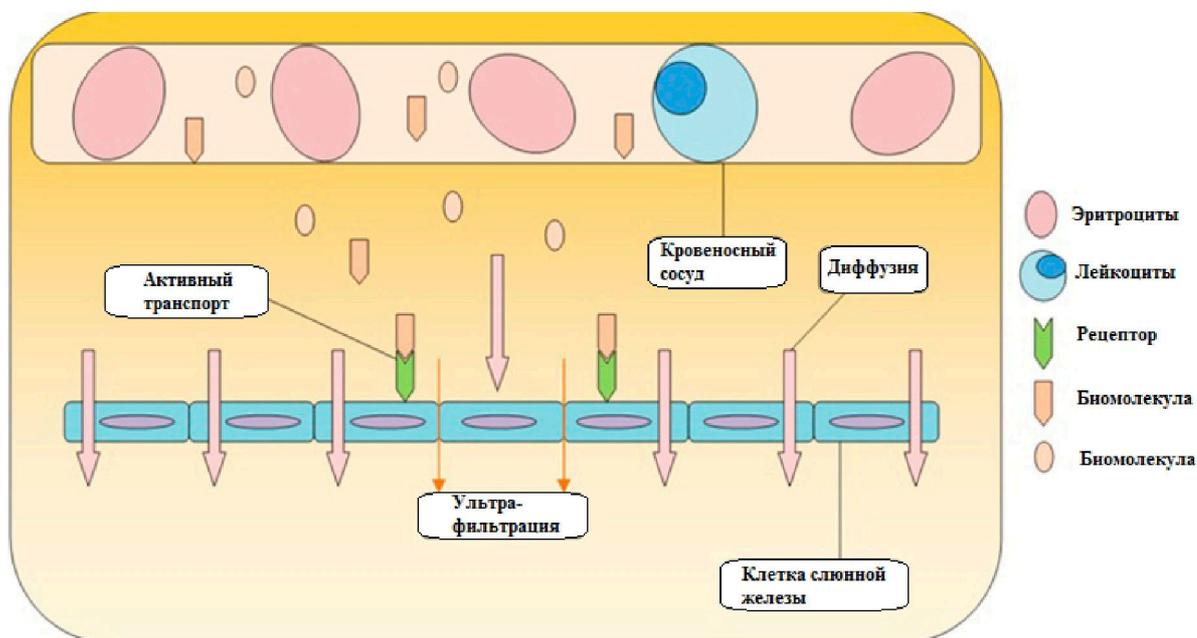
Ротовая жидкость (РЖ, слюна, смешанная слюна) является кислой (рН = 6–7) биологической жидкостью, состоящая из секретов трех основных и нескольких мелких слюнных желез, клеточного детрита, зубного налета, бактерий, носового и бронхиального секретов, крови и экзогенных веществ, включая остатки пищи. Она содержит 99 % воды, 0,3 % белков и 0,2 % неорганических и органических веществ [J. Liu, Y. Duan, 2012]. Наиболее распространенные неорганические компоненты включают ионы натрия, калия, кальция, магния, хлориды и карбонаты, тогда как органические компоненты включают: амилазу, пероксидазу, липазу, муцины, лизоцим, лактоферрины, калликреины, цистатины, гормоны и ростовые факторы. Таким образом, РЖ

содержит большую часть компонентов сыворотки крови. У здорового человека суточная секреция слюны оценивается в пределах 0,5–1,5 литров.

Можно выделить большое количество преимуществ использования слюны в качестве биожидкости в лабораторной диагностике. Самое очевидно преимущество связано с быстротой, простотой и дешевизной сбора РЖ. Сбор биоматериала можно осуществлять в домашних условиях, без необходимости в личном присутствии в лечебно-профилактическом учреждении. Слюну легко хранить и транспортировать, можно замораживать, она не свертывается и может отражать текущее физиологическое состояние пациента [J.J. Mikkonen et. al., 2016]. В связи с неинвазивностью взятия проб, забор РЖ является более удобным для пациентов, но и для специалистов практической медицины, так как снижается риск чрескожной травмы и контаминации, как пациента, так и медицинского персонала. Слюна, как «зеркало тела», может, таким образом, отражать состояние биохимических систем организма (рисунок 1.5) [P. Buczko et. al., 2015; N. Vykova et. al., 2016]. Констатируется, что биологическая жидкость, такая как слюна, может использоваться в качестве диагностического материала для мониторинга патологических состояний, поскольку она отвечает критериям легкости и неинвазивности сбора, обладает должной доказанной информативностью и содержит биомаркеры конкретных заболеваний, обнаруживаемые и измеряемые с помощью существующих технологий [K.E. Kasztor-Urbanowicz et. al., 2017].

Слюна отражает как местное, так и общее состояние здоровья организма человека, и, следовательно, она может быть использована для выявления основных биомаркеров при различных соматических заболеваниях. Существует много областей, в которых саливадиагностика может применяться, в том числе в различных областях медицины, стоматологии, фармакотерапии и эпидемиологии. К настоящему времени накоплен большой материал по изменению содержания секреторного IgA в слюне больных бронхиальной астмой. Так в работе [V. Semianchuk et. al., 2016] продемонстрировано

снижение уровня sIgA и показана прямая корреляция между показателями фагоцитоза и содержанием секреторного IgA в РЖ.



**Рисунок 1.5** – Схема, иллюстрирующая основные пути проникновения молекул сыворотки в слюну. Это движение составляющих делает слюну функционально равной сыворотке для потенциальной диагностики различных заболеваний

[Mohammad A.Javid et. al., 2016]

В работе [G. Hiremath et. al., 2015] показана возможность проведения определения цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13) в РЖ пациентов с аллергическими заболеваниями, в частности с такими как атопический дерматит и астма.

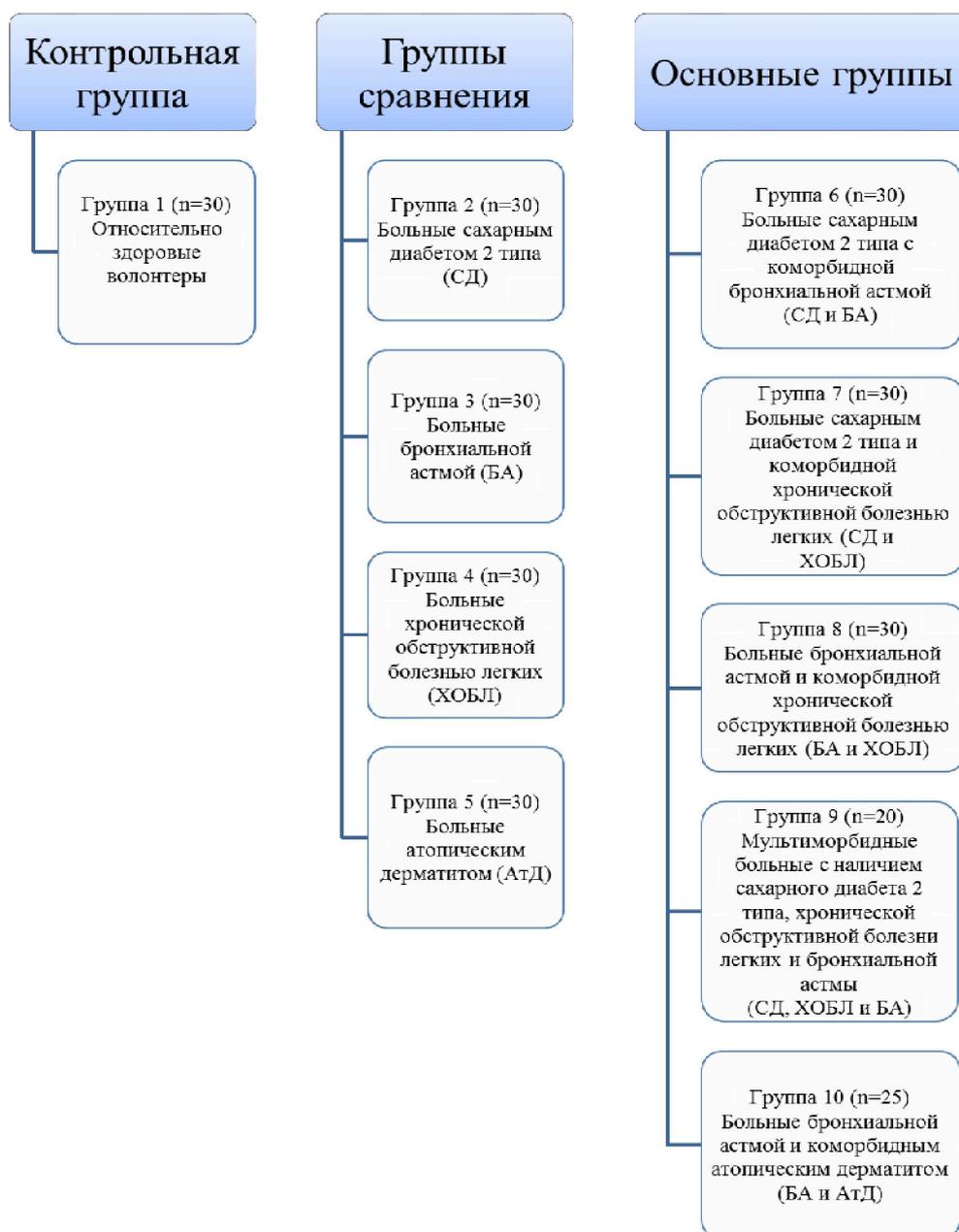
## Глава 2.

# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика групп исследуемых лиц клинической части исследования

Для достижения поставленной цели был исследован биологический материал 285 испытуемых (157 женщин и 128 мужчин), разделенных на 10 групп (рисунок 2.1). Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (Fortaleza, Brazil, October 2013), Федеральном законе Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Все обследованные люди давали «Добровольное информированное согласие», где излагалась суть проводимого исследования, его цели и возможные риски.

Контрольная группа (группа 1) была представлена 30 относительно здоровыми лицами, у которых производился забор крови и РЖ. Все испытуемые этой группы были обследованы на базе МБУЗ ГП № 26 МО г. Краснодар на предмет отсутствия каких-либо острых заболеваний и для исключения заболеваний респираторной системы и нарушений углеводного обмена. Средний возраст обследуемых составил  $50,3 \pm 3,4$  лет, в составе группы наблюдались 16 женщин и 14 мужчин. Критериями исключения были наличие любого острого заболевания, хронического в стадии обострения или хронического заболевания органов респираторной системы в стадии ремиссии, нарушения углеводного обмена, отягощенный аллергологический анамнез, возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование. Критерии включения в контрольную группу: соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.



**Рисунок 2.1 – Дизайн клинической части исследования**

Далее были сформированы четыре группы сравнения (группы 2, 3, 4 и 5), представленные больными, у которых по итогам тщательного обследования было установлено наличие только одного заболевания – сахарный диабет 2 типа, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких или атопический дерматит.

Группу 2 составили 30 больных сахарным диабетом 2 типа (17 женщин и 13 мужчин). Испытуемые этой группы в стадии декомпенсации наблюдались в

эндокринологическом отделении ГБУЗ ГКБ № 1 г. Краснодара и получали стандартную терапию. Критерием исключения было наличие любых коморбидных или сочетанных заболеваний дыхательной системы или аллергических заболеваний; возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование. Критерии включения в группу 2: наличие СД 2 типа; соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.

Группа 3 была представлена 30 исследуемыми (18 женщин и 12 мужчин) с бронхиальной астмой средней степени тяжести, находившимися на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодара и получающими стандартную терапию. Критериями исключения были наличие нарушенной толерантности к глюкозе, любых коморбидных или сочетанных заболеваний дыхательной системы, аллергических заболеваний или сахарного диабета; возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование. Критерии включения в группу 3: наличие БА; соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.

Группу 4 составили 30 больных хронической обструктивной болезнью легких средней степени тяжести (17 женщин и 13 мужчин), которые находились на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодара и получали стандартную терапию. Критериями исключения были наличие нарушенной толерантности к глюкозе, любых коморбидных или сочетанных аллергических заболеваний или сахарного диабета; возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование. Критерии включения в группу 4: наличие ХОБЛ; соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.

В группу 5 были включены 30 больных (15 женщин и 15 мужчин) с атопическим дерматитом в стадии обострения, находящихся на стационарном лечении в ГБУЗ ККВД г. Краснодара. Критериями исключения были наличие нарушенной толерантности к глюкозе, любых коморбидных или сочетанных заболеваний дыхательной системы, других аллергических заболеваний или сахарного диабета; возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование. Критерии включения в группу 5: наличие АтД; соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.

Группы 6–10 были представлены больными с коморбидными заболеваниями.

Группу 6 составили 30 испытуемых с сочетанным течением сахарного диабета 2 типа и бронхиальной астмы (15 женщин и 15 мужчин), находившиеся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодара и получающими стандартную терапию. Критериями исключения были наличие ХОБЛ; возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование. Критерии включения в группу 6: наличие СД 2 типа и коморбидной БА; соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.

В группу 7 были включены 30 испытуемых с сочетанным течением сахарного диабета 2 типа и хронической обструктивной болезнью легких (18 женщин и 12 мужчин), находившихся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодара и получающими стандартную терапию. Критериями исключения были наличие любых других коморбидных или сочетанных заболеваний дыхательной системы; возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного

согласия на обследование. Критерии включения в группу 7: наличие СД 2 типа и коморбидной ХОБЛ; соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.

Группа 8 была представлена 30 больными бронхиальной астмой с коморбидной хронической обструктивной болезнью легких (17 женщин и 13 мужчин), находившимися на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодара и получающими стандартную терапию. Критериями исключения были наличие нарушенной толерантности к глюкозе, сахарного диабета; возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование. Критерии включения в группу 8: наличие БА и коморбидной ХОБЛ; соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.

В группу 9 были включены 20 испытуемых с сочетанным течением сахарного диабета 2 типа, бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезнью легких (11 женщин и 9 мужчин), находившихся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодара и получающих стандартную терапию. Критерии исключения: возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование. Критерии включения в группу 9: наличие СД 2 типа, БА и ХОБЛ одновременно у одного больного; соответствие среднему возрасту взрослого населения (44–60 лет) по ВОЗ, мужской или женский пол, наличие добровольного информированного согласия на обследование.

Группу 10 составили 25 больных бронхиальной астмой с коморбидным атопическим дерматитом (13 женщин и 12 мужчин), находившихся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГБУЗ ККБ № 2 г. Краснодара и получающими стандартную терапию. Критериями исключения были наличие нарушенной толерантности к глюкозе, любых

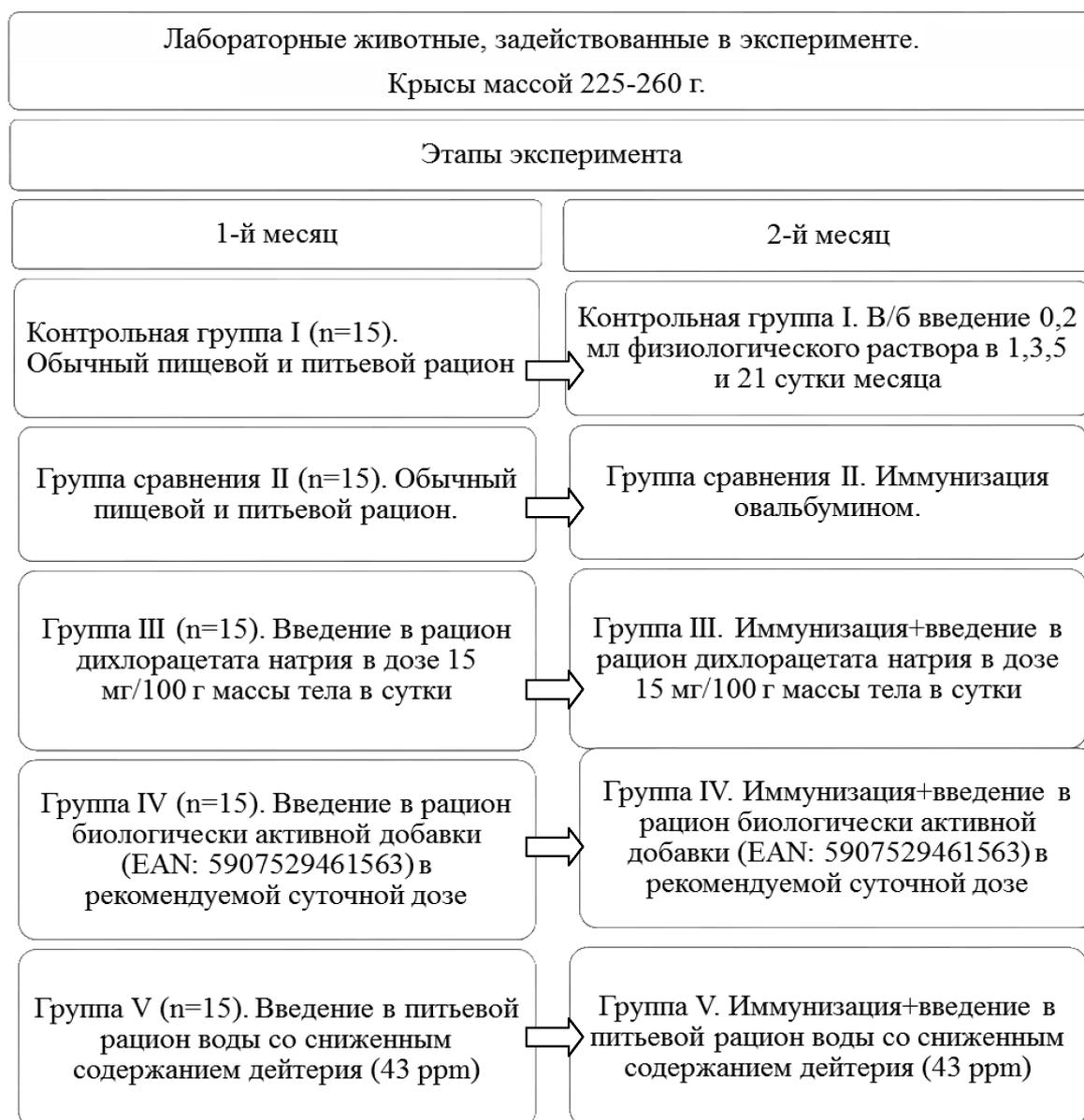
коморбидных или сочетанных заболеваний дыхательной системы или сахарного диабета; возраст менее 44 или более 60 лет; отсутствие добровольного информированного согласия на обследование.

## **2.2. Характеристика экспериментальной части исследования**

Для выполнения экспериментальной части исследования влияния метаболических корректоров на развитие и течение гиперчувствительности немедленного типа были сформированы 5 групп лабораторных животных – 75 белых нелинейных крыс-самцов, массой 225–260 г (рисунок 2.2). Лабораторные животные содержались в одинаковых условиях на стандартном рационе питания и со свободным доступом к воде в виварии ФГБОУ ВО КубГМУ. Все исследования проводились в соответствии с «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986), приказом Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» и приказом министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

Группу I (контрольная группа) составили 15 крыс, которым внутрибрюшинно вводили 0,2 мл физиологического раствора в 1, 3, 5 и 21 сутки второго месяца наблюдения.

Все остальные группы II–V подвергались иммунизации по схеме: в 1, 3 и 5 сутки второго месяца эксперимента внутрибрюшинно вводили раствор, содержащий 100 мкг овальбумина, адсорбированного на 10 мг гидроксида алюминия в 0,2 мл физиологического раствора. Затем на 21-й день второго месяца эксперимента вводили дополнительно еще 10 мкг овальбумина в тех же условиях для индукции вторичного иммунного ответа. Забор биологического материала (цельная кровь) осуществляли на 29-ые сутки после начала иммунизации.



**Рисунок 2.2** – Схема экспериментального исследования влияния метаболических корректоров на развитие и течение гиперчувствительности немедленного типа

Примечание: 1. Схема иммунизации животных: внутрибрюшинное введение 0,2 мл физраствора, содержащего 100 мкг овальбумина, адсорбированного на 10 мг гидроксида алюминия в 1, 3 и 5 день месяца. Введение еще 10 мкг овальбумина в составе такого же раствора на 21 сутки для индукции вторичного иммунного ответа. 2. Выведение животных из эксперимента на 29 сутки второго месяца эксперимента. Забор цельной крови у задействованных в эксперименте крыс для лабораторных исследований.

Группу II (группа сравнения) составили 15 крыс подвергшихся иммунизации, без введения каких-либо дополнительных веществ с целью коррекции.

На лабораторных животных групп III–V на фоне иммунизации исследовали влияние различных средств метаболической коррекции: дихлорацетата натрия, биологически активной добавки с антиоксидантным составом и воды с модифицированным изотопным составом:

Животные III группы ( $n = 15$ ) за месяц до первого введения овальбумина и на протяжении всего эксперимента получали с питьевой водой дихлорацетат натрия в дозировке 15 мг/100 г ежедневно.

IV группу составили 15 животных, получавших биодобавку с комплексным антиоксидантным составом (EAN: 5907529461563) в рекомендуемой суточной дозировке, пересчитанной на массу животных вместе с кормом в течение месяца до иммунизации и на протяжении месяца после – до конца эксперимента.

Животные группы V ( $n = 15$ ) вместо обычной питьевой воды, получали воду со сниженным содержанием дейтерия (43 ppm) на протяжении всего эксперимента, начиная за один месяц до первого введения овальбумина.

### **2.3. Характеристика используемых средств для метаболической коррекции гиперчувствительности немедленного типа у лабораторных животных**

Для коррекции метаболических нарушений, развивающихся при иммунизации крыс белковым аллергеном – овальбумином использовались: биологически активная добавка (EAN: 5907529461563), дихлорацетат натрия и вода со сниженным содержанием дейтерия ( $H_2O$  43 ppm D).

Биологически активная добавка (EAN: 5907529461563, состав 1 капсулы: лютеин 10 мг, зеаксантин 500 мкг, аскорбиновая кислота 60 мг, витамины B<sub>1</sub> 4 мг, B<sub>2</sub> 1,6 мг, B<sub>3</sub> 18 мг, B<sub>6</sub> 2 мг, B<sub>9</sub> 200 мкг, B<sub>12</sub> 1 мкг, E 10 мг, A 800 мкг, жирные кислоты омега-3 280 мг, цинк 15 мг, марганец 2 мг, медь 1 мг, селен 40 мкг) представляет собой комплексный антиоксидантный препарат,

содержащий в большом количестве липофильные антиоксиданты – каротиноиды (лютеин и зеаксантин, витамин А), витамин Е и витамин С в пределах их суточной потребности. Кроме того, парафармацевтик содержит практически все микроэлементы, необходимые для функционирования ферментов антирадикальной защиты – Zn, Mn, Cu и Se. В целом же можно охарактеризовать данную биологически активную добавку, как комплексный антиоксидант прямого действия, содержащий большое количество веществ, способных непосредственно нейтрализовать свободные радикалы [К.А. Мирзабекова, 2014].

Дихлорацетат натрия (ДХА) является известным структурным аналогом аниона пировиноградной кислоты, что позволяет ему взаимодействовать со связывающим участком в центре N-концевого регуляторного домена второй изоформы киназы пируватдегидрогеназы, что вызывает изменения в активном центре и приводит к её неконкурентному ингибированию с последующей активацией пируватдегидрогеназного комплекса [C.V. Ammini, P.W. Stacpoole, 2003; T.R. Knoechel et al., 2006; P.W. Stacpoole et al., 2015]. Увеличение активности ПДК и снижение скорости окисления жирных кислот в митохондриях в результате увеличения концентрации ацетил-КоА и малонил-КоА, которое сопровождается увеличением окисления пирувата оказывает цитопротективный эффект при ишемии [P.W. Stacpoole et al., 2003]. ДХА нормализует энергетический метаболизм, способствует более эффективному протеканию окисления глюкозы в условиях гипоксии, уменьшает степень закисления внутриклеточной среды, что имеет существенное значение в условиях ишемии, развивающейся, в том числе при аллергическом воспалении. Также возрастает содержание восстановленных коферментов (НАДН), что необходимо для функционирования ферментов антиоксидантной системы и регенерации низкомолекулярных антиоксидантов [А.М. Мануйлов и соавт., 2016].

Воду со сниженным содержанием дейтерия получали на установке, разработанной в ФГБОУ ВО КубГУ Минздрава России методом

электролитического разделения. Минерализацию полученной воды, производили путем добавления солей для достижения физиологически полноценного минерального состава, который был идентичен у воды с содержанием дейтерия 43 ppm и 150 ppm. В ряде статей последнего десятилетия показано, что вода с модифицированным изотопным составом, обладает достаточно выраженным влиянием на метаболизм, как неспецифический стимулятор адаптационных возможностей организма, в том числе увеличивает защитный потенциал антиоксидантной системы и системы иммунологической реактивности [А.А. Басов и соавт., 2014; М.И. Быков и соавт., 2015; S.S. Dzhimak et al., 2015; С.С. Джимак и соавт., 2016]. Таким образом, ее также можно отнести к косвенным антиоксидантам.

#### **2.4. Характеристика биологического материала исследуемых людей и лабораторных животных**

Объектами исследований были кровь и РЖ относительно здоровых волонтеров и исследуемых лиц, а также кровь лабораторных крыс. Забор крови у лиц исследуемых групп больных осуществлялся в утреннее время (8–9 часов) натошак из локтевой вены квалифицированным медицинским персоналом в лечебно-профилактических учреждениях, на базе которых они наблюдались. У лабораторных животных кровь забиралась шприцом из хвостовой вены после предварительного нагревания кончика хвоста в теплой (42 °С) воде в утреннее время, до кормления. Кровь сразу помещали в специальные пробирки с напыленным на стенки гепарин-натрием для предотвращения свертывания.

РЖ собиралась у исследуемых без индукции слюноотделения методом сплевывания в чистые сухие пробирки. Сбор осуществлялся в период наибольшей секреции (9–11 часов утра) натошак, не ранее чем через час после чистки зубов и после ополаскивания полости рта кипяченой водой.

Полученный биоматериал доставлялся в лабораторию кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России для дальнейших лабораторных исследований. Цельная кровь и РЖ исследуемых подвергались центрифугированию на стандартной лабораторной центрифуге при 3000 об./мин. в течение 15 минут. Затем разделяли плазму крови и эритроцитарную массу. Эритроциты подвергались отмыванию физиологическим раствором хлорида натрия. Для этого к 1,0 мл эритроцитарной массы добавляли 9,0 мл физ. раствора, аккуратно перемешивали полученную суспензию и вновь центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 20 минут. Надосадочную жидкость сливали, а полученные эритроциты снова подвергали вышеописанной процедуре отмывания. Данную манипуляцию повторяли до получения чистого прозрачного супернатанта, но не менее трех раз. Для определения лабораторных показателей использовали плазму крови, гемолизат эритроцитов и надосадочную жидкость, полученную после центрифугирования РЖ.

## **2.5. Характеристика изучаемых лабораторных показателей в крови и ротовой жидкости исследуемых больных и лабораторных животных**

Изучение особенностей обмена веществ у больных с заболеваниями органов респираторного тракта в сочетании с нарушениями углеводного обмена и аллергическими заболеваниями, а также возможностей коррекции метаболических нарушений, возникающих при развитии аллергических реакций, осуществляли путем исследования иммунологических и биохимических показателей биожидкостей. С целью характеристики состояния иммунологической реактивности организма определяли цитокиновый и иммуноглобулиновый профили плазмы крови. Для биохимической оценки состояния системы неспецифической резистентности

организма определялись параметры функционирования антиоксидантно-прооксидантной системы и системы детоксикации (таблица 2.1).

**Таблица 2.1** – Характеристика лабораторных исследований

| Лабораторные исследования                          |  |
|--|--|
| Показатели состояния иммунологической реактивности | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Содержание иммуноглобулинов: IgA, IgG, IgE и IgM;</li> <li>– Содержание цитокинов: ИЛ-1<math>\beta</math>, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ИФН-<math>\gamma</math>;</li> </ul>  |
| Показатели состояния про/антиоксидантной системы   | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Активность ферментов антиоксидантной защиты: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатионпероксидаза (ГПО), глутатионредуктаза (ГР);</li> <li>– Концентрация восстановленного глутатиона (GSH);</li> <li>– Общая антиоксидантная активность (АОА);</li> <li>– Максимум вспышки хемилюминесценции (МВХЛ);</li> <li>– Площадь вспышки хемилюминесценции (ПХЛ);</li> <li>– Тиобарбитуровое число (ТБЧ);</li> </ul> |
| Биохимические исследования                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Концентрация общего белка плазмы крови;</li> <li>– Содержание веществ со средней и низкой молекулярной массой (ВСиНММ);</li> </ul>  |

### 2.5.1. Определение некоторых цитокинов плазмы крови

Определение содержания ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИФН- $\gamma$  в плазме крови проводили с использованием наборов реагентов для иммуноферментного анализа фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе «Multiscan FC» (Thermo Fisher Scientific, США).

Способ основан на трехстадийном «сэндвич» варианте твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моно- и поликлональных антител к ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 или ИФН- $\gamma$  соответственно для метода определения каждого из цитокинов. На первой стадии имеющийся в

исследуемых образцах и стандартах цитокин связывается иммобилизованными в лунке антителами, затем связавшийся интерлейкин на второй стадии взаимодействует с антителами к нему (конъюгат 1). На третьей стадии связанный конъюгат 1 взаимодействует с другим конъюгатом, содержащим стрептавидин с пероксидазой хрена. Затем проводится цветная реакция с помощью пероксида водорода и хромогенного субстрата (тетраметилбензидин). Интенсивность образующегося желтого окрашивания прямо пропорциональна содержанию в исследуемом образце исследуемого интерлейкина. Расчет концентрации исследуемого интерлейкина проводили по калибровочному графику, который составляли на основании значений оптических плотностей стандартных растворов ИЛ-1 $\beta$  с концентрациями от 0,5 до 250 пг/мл, ИЛ-2 с концентрациями 0–500 пг/мл, ИЛ-6 с концентрациями 0–300 пг/мл, ИЛ-8 с концентрациями 0–250 пг/мл, ИЛ-10 с концентрациями 0–500 пг/мл, ИФН- $\gamma$  с концентрациями 0–1000 пг/мл.

### **2.5.2. Определение содержания иммуноглобулинов плазмы крови**

Определение содержания общих IgA, IgG, IgE и IgM в плазме крови осуществляли с использованием наборов реагентов для иммуноферментного анализа фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе «Multiscan FC» (Thermo Fisher Scientific, США).

Способ основан на двухстадийном «сэндвич» варианте твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител к IgA, IgG, IgE или IgM соответственно для метода определения каждого из иммуноглобулинов. На первой стадии имеющийся в исследуемых образцах и калибровочных растворах иммуноглобулин связывается иммобилизованными в лунке моноклональными антителами к соответствующему классу Ig. На второй стадии связавшиеся в лунках иммуноглобулины с моноклональными антителами обрабатываются конъюгатами антител к легким цепям Ig с

пероксидазой. Образующиеся иммунные комплексы «иммобилизованные моноклональные антитела-определяемые иммуноглобулины-конъюгат» определяют с помощью ферментативной реакции с хромогеном – тетраметилбензидином. Интенсивность развивающегося окрашивания пропорциональна содержанию исследуемого иммуноглобулина в анализируемом образце или калибровочном растворе. На основании полученных значений оптических плотностей калибровочных проб строили калибровочный график, по которому рассчитывали концентрацию иммуноглобулина в опытном образце.

### **2.5.3. Оценка функционального состояния антиоксидантно-прооксидантной системы**

С целью оценки состояния антиоксидантно-прооксидантной системы определяли параметры функционирования ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы и показатели интенсивности окислительных процессов в биожидкостях исследуемых лиц и лабораторных животных. Для выявления изменений в работе ферментного звена определяли активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР). Для оценки неферментного звена определяли концентрацию восстановленного глутатиона и содержание тиоловых групп плазмы крови. Также определяли общую антиоксидантную активность амперометрическим методом. Для оценки интенсивности окислительных процессов в биожидкостях определяли показатели хемилюминесценции и содержание продуктов окислительной модификации по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой.

*Определение активности супероксиддисмутазы в эритроцитах и ротовой жидкости*

Для определения активности СОД был использован косвенный способ, основанный на торможении ферментом реакции с участием супероксидного

анион-радикала. Нами была выбрана тест-система с окислением кверцетина в среде тетраметилэтилендиамина (ТМЭДА). Одним из промежуточных продуктов в данных условиях является  $O_2^{\cdot -}$  поэтому эта реакция ингибируется биосубстратом, содержащим СОД [В.А. Костюк и соавт., 1990].

Для выполнения определения активности СОД вносили 0,1 мл гемолизата 1 : 50 или РЖ жидкости в Na-K буферный раствор (рН = 7,8) с ТМЭДА в конечной концентрации 0,8 ммоль/л. Затем добавляли 0,2 мл кверцетина, перемешивали и измеряли оптическую плотность полученного раствора при 406 нм через 15 секунд и 15 минут от начала реакции. Параллельно ставили контрольную пробу, содержащую 0,1 мл дистиллированной воды, вместо биожидкости.

Расчет активности СОД проводили по формуле:

$$A = (D_k - D_{оп}/D_k) \cdot 100,$$

где А – активность СОД в усл. ед.,  $D_k$  и  $D_{оп}$  – оптические плотности контрольной и опытной проб соответственно; 100 – коэффициент пересчета.

#### *Определение активности каталазы в эритроцитах и ротовой жидкости*

Для определения активности каталазы использовали метод, основанный на определении скорости расщепления пероксида водорода в ходе его ферментативного разрушения [А.И. Карпищенко, 2002]. Для определения активности фермента вносили 0,2 мл биологического субстрата (гемолизат эритроцитов 1 : 200 или РЖ) в 2,5 мл буферного раствора (рН = 7,4), содержащего пероксид водорода в концентрации 0,3 %. Проводили реакцию в течение 5 минут, после чего внесением 0,3 мл 50 % раствора трихлоруксусной кислоты останавливали ее. Пробы центрифугировали для осаждения белков и фотометрировали надосадочную

жидкость для определения концентрации оставшегося пероксида водорода при 260 нм на спектрофотометре. Для оценки исходной концентрации  $\text{H}_2\text{O}_2$  и ферментативной пероксидазной активности биожидкости ставились контрольные пробы, в которые до внесения биологического субстрата вливали трихлоруксусную кислоту.

Расчет активности каталазы вели по формуле:

$$A = ((D_k - D_{оп}) \cdot V_{р.с.} \cdot 201000) / (V_{пр} \cdot l \cdot \epsilon \cdot t),$$

где  $A$  – активность КАТ в ммоль/(мин·л),  $D_k$  и  $D_{оп}$  – оптические плотности контрольной и опытной проб соответственно; 201000 – коэффициент пересчета;  $V_{р.с.}$  – объем реакционной смеси;  $V_{пр}$  – объем пробы;  $l$  – длина оптического пути;  $\epsilon$  – молярный коэффициент светопоглощения  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $22 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ );  $t$  – время инкубации.

#### *Определение активности глутатионпероксидазы в эритроцитах и ротовой жидкости*

Определение активности ГПО осуществляли по регистрации скорости расходования восстановленного глутатиона в ходе ферментативной реакции нейтрализации гидропероксида трет-бутила [А.И. Карпищенко, 2002].

Определение активности ГПО осуществляли путем добавления 0,2 мл биосубстрата (гемолизат эритроцитов 1:200 или РЖ) к 0,73 мл трис-буферного раствора (рН = 8,0), содержащего ЭДТА, азид натрия и восстановленный глутатион в концентрации 1,5 мг/мл. Полученный раствор инкубировали в течение 10 минут в суховоздушном термостате при 37 °С. Затем вносили 70 мкл 0,14 % раствора гидропероксида трет-бутила для инициации реакции. Проводили реакцию в течение 10 минут, не вынимая пробирок из термостата, после чего останавливали реакцию внесением 0,2 мл 20 % раствора трихлоруксусной кислоты. Одновременно ставились контрольные пробы, в которые раствор трихлоруксусной кислоты вносился до инициации реакции,

таким образом, концентрация глутатиона в этих пробирках соответствовала его исходному уровню. Содержание восстановленного глутатиона определяли в супернатанте после депротеинизации контрольных и опытных проб. Для этого вносили 0,1 мл надосадочной жидкости к 2,55 мл трис-буферного раствора (рН = 8,0) и 0,025 мл метанолового раствора 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной) кислоты в концентрации 6 мг/мл. Пробирки тщательно перемешивали и через 5 минут измеряли оптическую плотность растворов на сектрофотометре при 412 нм.

Расчет активности глутатионпероксидазы проводили по формуле:

$$A = ((C_k - C_{оп}) \cdot V_{р.с.} \cdot 201) / (V_{пр} \cdot t),$$

где А – активность ГПО в мкмоль/(мин·л),  $C_k$  и  $C_{оп}$  – концентрации восстановленного глутатиона в контрольной и опытной пробах соответственно; 201 – коэффициент пересчета;  $V_{р.с.}$  – объем реакционной смеси;  $V_{пр}$  – объем пробы; t – время инкубации.

#### *Определение активности глутатионредуктазы в эритроцитах и ротовой жидкости*

Активность глутатионредуктазы определяли по методу, основанному на регистрации скорости расходования НАДФН в ходе ферментативной реакции восстановления окисленного глутатиона [А.И. Карпищенко, 2002].

Для определения активности фермента в кювету вносили 0,05 мл гемолизата эритроцитов 1 : 10 или ротовую жидкость, 1,8 мл Na-K буферного раствора (рН = 7,0) и 0,1 мл раствора окисленного глутатиона в концентрации 12 мг/мл. Инициировали реакцию внесением 0,1 мл раствора НАДФН в концентрации 1,5 мг/мл. Реакционную смесь тщательно перемешивали и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при 340 нм через 1 минуту и через 4 минуты с начала реакции.

Активность глутатионредуктазы рассчитывали по формуле:

$$A = ((D_{\text{исх}} - D') \cdot V_{\text{р.с.}} \cdot 10^6 \cdot 11) / (V_{\text{пр}} \cdot l \cdot \varepsilon \cdot t),$$

где  $A$  – активность КАТ в мкмоль/(мин\*л),  $D_{\text{исх}}$  и  $D'$  – оптические плотности до и после инкубации;  $10^6$  и  $11$  – коэффициенты пересчета;  $V_{\text{р.с.}}$  – объем реакционной смеси;  $V_{\text{пр}}$  – объем пробы;  $l$  – длина оптического пути;  $\varepsilon$  – молярный коэффициент светопоглощения НАДФН ( $6220 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ );  $t$  – время инкубации.

*Определение концентрации восстановленного глутатиона в эритроцитарной массе*

Определение концентрации восстановленного глутатиона было основано на взаимодействии его с 5,5'-дителиобис(2-нитробензойной) кислотой с образованием интенсивно окрашенного тионитроценильного аниона с максимумом поглощения при 412 нм [А.И. Карпищенко, 2002]. Реакцию проводили после осаждения белков трихлоруксусной кислотой, с целью исключения влияния на результат содержания белковых тиоловых групп, а также окраски гемоглобина и мешающего действия  $\text{Fe}^{+2/+3}$  в эритроцитах.

Концентрацию восстановленного глутатиона определяли следующим образом: к 0,6 мл гемолизата эритроцитов 1 : 10 или неразведенной РЖ добавляли 0,2 мл 20 % раствора трихлоруксусной кислоты. Пробы тщательно перемешивали и центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 20 минут. Далее отбирали 0,1 мл супернатанта и вносили в 2,55 мл трис-буферного раствора (рН = 8,0), добавляли 0,025 мл метанолового раствора 5,5'-дителиобис(2-нитробензойной) кислоты в концентрации 6 мг/мл. Растворы перемешивали и через 5 минут измеряли оптическую плотность при 412 нм. Вместе с опытными пробами ставили калибровочные, в которые вместо биожидкости вносили растворы с концентрацией восстановленного глутатиона 0,5–5,0 мкмоль/мл. Содержание глутатиона в эритроцитах и РЖ определяли по построенному калибровочному графику.

### *Определение общей антиоксидантной активности амперометрическим методом*

Общую антиоксидантную активность определяли амперометрическим методом, который основан на пропускании исследуемой биожидкости через ячейку с сероуглеродным электродом, на котором происходит ее окисление, сила возникающего при этом электрического тока пропорциональна восстанавливающим способностям раствора (его потенциальной антиоксидантной активности) [И.М. Быков и соавт., 2005, И.М. Быков и соавт., 2014]. Сигнал с электрода в наноамперах в секунду (нА·с) регистрировали с помощью анализатора Яуза-АА-01 (ОАО НПО «Химавтоматика», Россия). Для осуществления определения в соответствии с методикой разбавляли плазму крови или ротовую жидкость  $1,5 \cdot 10^{-4}$  % раствором ортофосфорной кислоты в 100 раз. Полученный раствор пропускали через анализатор. Полученный сигнал сравнивали с сигналом стандарта измеренного в тех же условиях. В качестве стандартного раствора использовали водные растворы аскорбиновой кислоты (витамин С) в концентрациях 0,5–5,0 мг/л, по результатам измерения антиоксидантной активности которых строили калибровочный график. Таким образом, результат общей антиоксидантной активности исследуемых биожидкостей выражали в мг/л витамина С.

#### **2.5.4. Определение интенсивности окислительных процессов в биологических жидкостях**

##### *Хемилюминесцентный способ оценки интенсивности окислительных процессов*

Определение интенсивности свободнорадикального окисления в плазме крови и РЖ осуществляли с помощью оценки параметров хемилюминесценции – максимума вспышки и площади за 30 секунд с помощью  $H_2O_2$ -индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции

на люминометре LT-01 («Horos», Joint Venture Soviet-Swedish Company) [А.А. Басов и соавт., 2003; М.И. Вуков et al., 2015]. По методике вносили 0,1 мл исследуемой плазмы крови или РЖ в 2,9 мл 0,1 М трис-НСl буфера (рН = 6,8) с 50 мкМ раствором люминола. Полученную смесь инкубировали при 37 °С в течение 500 секунд, вносили в кювету в люминометр и инициировали свободнорадикальные процессы впрыскиванием 0,5 мл 3 % раствора пероксида водорода. Интенсивность максимума вспышки хемилюминесценции регистрировали в условных единицах, а площадь хемилюминесценции определяли с помощью программного обеспечения [А.А. Басов и соавт., 2003] и выражали в единицах площади. Полученные результаты сравнивали с показателями стандартного раствора люминола без внесения дополнительных реагентов.

#### *Определение содержания продуктов окислительной модификации*

Определение продуктов окислительных модификаций биомолекул осуществляли с помощью методики, основанной на взаимодействии продуктов перекисного окисления, прежде всего липидов, содержащихся в эритроцитарной взвеси и РЖ, с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), с образованием комплекса с розовой окраской, интенсивность которой измеряли фотометрически на длинах волн 450 и 532 нм [В.С. Камышников, 2004]. Сумму содержания ТБК-реактивных продуктов называли тиобарбитуровым числом (ТБЧ) и рассчитывали по формуле:

$$\text{ТБЧ} = (D_{450} + D_{532}) \cdot 100,$$

где  $D_{450}$  и  $D_{532}$  – оптические плотности проб при 450 и 532 нм соответственно, в единицах оптической плотности; 100 – коэффициент пересчета.

Для осуществления способа на первом этапе проводили осаждение белков добавлением 1,0 мл 20 % раствора трихлоруксусной кислоты к 1,0 мл

интактной эритроцитарной взвеси или РЖ (опытные пробы). После чего, пробы центрифугировали и отбирали 1,0 мл супернатанта, к которому добавляли 1,0 мл свежеприготовленного раствора ТБК в концентрации 8 г/л. Пробы подвергали кипячению на водяной бане в течение 15 минут (строго по секундомеру). Прокипяченные пробы охлаждали под струей холодной воды. Параллельно с опытными подготавливали холостую пробу, в которую вместо эритроцитов или РЖ вносили 1,0 мл дистиллированной воды. Все остальные манипуляции были аналогичны опытным пробам. Далее измеряли оптическую плотность опытных проб против контрольных на длинах волн 450 нм и 532 нм.

#### **2.5.5. Оценка уровня эндогенной интоксикации**

Оценка степени эндогенной интоксикации проводилась по методу, предполагающему определение содержания веществ со средней и низкой молекулярной массой (ВСиНММ). ВСиНММ представляют собой совокупность веществ небелковой природы, содержащихся в различных биожидкостях организма, в том числе в плазме крови, эритроцитарной взвеси, РЖ и др., и поглощающих свет в ультрафиолетовой области спектра. Поэтому суть методики заключается в осаждении белков и определении оптической плотности раствора в области максимума поглощения или расчета площади фигуры, отсекаемой линией спектра и нулевой линией в УФ-области спектра [М.Я. Малахова и соавт., 2011].

Определение осуществляли следующим образом: к 1,0 мл плазмы крови или РЖ, а также к 1,0 мл эритроцитарной суспензии полученной разведением эритроцитов 1 : 1 физиологическим раствором, добавляли 0,5 мл 20 % раствора трихлоруксусной кислоты. Полученные растворы тщательно перемешивали и центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 30 минут для полного осаждения белков. Затем аккуратно отбирали 0,5 мл чистой надосадочной жидкости и разбавляли ее 1 : 9 физиологическим раствором.

После чего определяли оптическую плотность раствора при длинах волн 238–298 нм через каждые 4 нм. Рассчитывали содержание ВСиНММ в биожидкостях по формуле:

$$C (\text{ВСиНММ}) = (D_{238} + D_{(238+4n)} \dots + D_{298}) \cdot 4,$$

где  $C$  (ВСиНММ) – содержание веществ со средней и низкой молекулярной массой в плазме крови, эритроцитах или РЖ, в единицах оптической плотности (е.о.п.);  $D$  – значения оптических плотностей растворов при определенных длинах волн, указанных в индексе, е.о.п.;  $n$  – целые числа от 1 до 14; 4 – пересчетный коэффициент, соответствующий шагу изменения длин волн при определении оптических плотностей растворов.

#### **2.5.6. Интегральные методы оценки состояния обмена веществ**

Для более полной оценки функционирования метаболических систем организма были рассчитаны некоторые интегральные показатели, основанные на определении нескольких связанных параметров с логическим объединением их в единой формуле. Так для интегральной оценки состояния прооксидантно-антиоксидантной системы был использован интегральный показатель функционирования ферментов антирадикальной защиты (ИПФФАРЗ). Для оценки функционирования системы иммунологической реактивности определяли интегральный цитокиновый индекс (ИЦ).

*Расчет интегрального показателя функционирования ферментов антирадикальной защиты*

Для оценки состояния ферментного звена антиоксидантной защиты рассчитывали так называемый интегральный показатель функционирования ферментов антирадикальной защиты (ИПФФАРЗ) [А.А. Басов и соавт., 2010; А.А. Басов и соавт., 2013]. Для этого определяли активности супероксиддисмутазы и каталазы в гемолизате и РЖ, и оценивали изменение

данных показателей по отношению к средним значениям контрольной группы по формулам:

$$\Delta\text{КАТ} = \text{КАТ}_0 / \text{КАТ}_\text{К},$$

$$\Delta\text{СОД} = \text{СОД}_0 / \text{СОД}_\text{К},$$

где  $\Delta\text{КАТ}$  и  $\Delta\text{СОД}$  изменение активности каталазы и супероксиддисмутазы;  $\text{КАТ}_0$  и  $\text{СОД}_0$  – активности каталазы и супероксиддисмутазы проб опытных групп больных или лабораторных животных;  $\text{КАТ}_\text{К}$  и  $\text{СОД}_\text{К}$  – средние активности каталазы и супероксиддисмутазы проб контрольных групп относительно здоровых исследуемых лиц или интактных лабораторных животных.

Затем рассчитывали соотношение ( $K$ ) изменений активности ферментов КАТ и СОД по формуле:

$$K = \Delta\text{КАТ} / \Delta\text{СОД};$$

При значении этого соотношения равном  $1,000 \pm 0,002$ , определяли отсутствие нарушений функционирования ферментов первых двух линий антирадикальной защиты, а при отклонении значения соотношения в любую сторону дополнительно определяли интенсивность окислительных процессов по показателям хемилюминесценции – максимуму и площади вспышки, и также рассчитывали их изменения по отношению к средним значениям контрольных групп:

$$\Delta\text{ПХЛ} = \text{ПХЛ}_0 / \text{ПХЛ}_\text{К},$$

$$\Delta\text{МВХЛ} = \text{МВХЛ}_0 / \text{МВХЛ}_\text{К},$$

где  $\Delta\text{ПХЛ}$  и  $\Delta\text{МВХЛ}$  изменение площади хемилюминесценции и максимума вспышки хемилюминесценции;  $\text{ПХЛ}_0$  и  $\text{МВХЛ}_0$  – площадь хемилюминесценции и максимум вспышки хемилюминесценции проб опытных групп больных или лабораторных животных;  $\text{ПХЛ}_\text{К}$  и

$MВХЛ_k$  – средняя площадь хемилюминесценции и максимум вспышки хемилюминесценции проб контрольных групп относительно здоровых исследуемых лиц или интактных лабораторных животных.

Далее оценивали дисбаланс функционирования ферментов антирадикальной защиты, рассчитывая показатель ИПФФАРЗ, по формуле:

$$\text{ИПФФАРЗ} = 100 \cdot (\Delta\text{КАТ}/\Delta\text{СОД})^{(\Delta\text{ПХЛ}/\Delta\text{МВХЛ})}$$

При значении ИПФФАРЗ ниже 70,0 ед. определяли недостаточность каталазы, а при значении ИПФФАРЗ выше 130,0 ед. определяли недостаточность супероксиддисмутазы.

*Расчет интегрального цитокинового индекса*

Для комплексной оценки цитокинового баланса в организме проводили определение интегрального цитокинового индекса [Т.В. Юдина и соавт., 2012]. Для этого иммуноферментным методом в плазме крови определяли содержание провоспалительных (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4; ИЛ-10), с последующим расчетом значений индексов интерлейкинов как отношений их концентраций в опытных группах к средним значениям в контрольных группах людей или лабораторных животных по формуле:

$$I_{\text{ИЛ}} = \text{ИЛ}_O / \text{ИЛ}_K,$$

где  $I_{\text{ИЛ}}$  – индекс интерлейкина;  $\text{ИЛ}_O$  – содержание интерлейкина в опытной группе;  $\text{ИЛ}_K$  – среднее содержание интерлейкина в контрольной группе.

Затем рассчитывали средние арифметические значения про- (И1) и противовоспалительных (И2) цитокинов по формулам:

$$I1 = (\text{И}_{\text{ИЛ-1}} + \text{И}_{\text{ИЛ-2}} + \text{И}_{\text{ИЛ-6}} + \text{И}_{\text{ИЛ-8}}) / 4,$$

$$I2 = (\text{И}_{\text{ИЛ-4}} + \text{И}_{\text{ИЛ-10}}) / 2.$$

И далее рассчитывали интегральный цитокиновый индекс (ИЦ) в усл. ед. по формуле:

$$\text{ИЦ} = \text{И1} + (\text{И2}-1),$$

где И1 – среднее арифметическое значение индексов провоспалительных интерлейкинов; И2 – среднее арифметическое значение индексов противовоспалительных интерлейкинов.

По значению ИЦ устанавливали цитокиновый баланс: при значениях  $\text{ИЦ} \leq 1$  констатируют оптимальный баланс цитокинов (отсутствие воспалительного процесса), при  $\text{ИЦ} > 1$  – его нарушение (усиление воспалительных процессов).

## **2.6. Статистическая обработка результатов**

Полученные данные лабораторных исследований подвергали статистической обработке методами вариационной статистики с помощью программного обеспечения находящегося в свободном доступе ((R Development Core Team, 2008). Значимость найденных различий показателей оценивали с помощью непараметрического U-критерия (Манна-Уитни). Данные представляли в виде медианы и 25-го и 75-го перцентилей (Me (p<sub>0,25</sub>/p<sub>0,75</sub>)), на диаграммах также были представлены минимальные и максимальные значения показателей выборки. Статистически значимыми считали различия при вероятности ошибки меньше 5 % ( $p < 0,05$ ). Сравнения показателей основных групп проводилось с контрольной группой и соответствующими группами сравнения. Так в первой части исследования, включающей изучение лабораторных показателей больных с коморбидными заболеваниями, проводили сравнение групп 2–10 с группой 1; групп 6, 7 и 9 с группой 2; групп 6, 8–10 с группой 3; групп 7–9 с группой 4 и группы 10 с группой 5.

С помощью количественно выраженного коэффициента ранговой корреляции Спирмена давали оценку тесноты установленной взаимосвязи между изучаемыми показателями. Оценивали также при помощи t-критерия Стьюдента статистическую значимость полученных коэффициентов корреляции. Силу взаимосвязи анализируемых показателей оценивали по шкале Чеддока.

### **Глава 3.**

## **ПАТОБИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И ПРИ ИХ СОЧЕТАННОМ ТЕЧЕНИИ С ЭНДОКРИННЫМИ НАРУШЕНИЯМИ**

### **3.1. Системный и локальный уровень содержания иммуноглобулинов у больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с эндокринными нарушениями**

Оценка содержания общего иммуноглобулина класса Е на системном уровне (в плазме крови) у обследуемых продемонстрировала статистически значимое его увеличение во всех группах за исключением больных СД 2 типа (2-я группа). При этом наибольших значений концентрация IgE достигала в группах исследуемых лиц с коморбидными заболеваниями: в 8-й группе (БА и ХОБЛ) и в 9-й группе (СД, БА и ХОБЛ), данные которых не только превышали показатель контрольной группы (в среднем в 9 раз), но и показатели соответствующих групп сравнения (групп 2, 3 и 4), что может свидетельствовать о более тяжелом течении БА при сочетанных формах заболевания. Интересно, что наибольшие значения концентрации IgE были характерны для БА в сочетании с ХОБЛ, тогда как при коморбидности СД 2 типа и АтД выявлена меньшая выраженность сенсибилизации организма (таблица 3.1).

Зафиксировано низкое содержание IgG в плазме крови как при изолированном течении БА (3-я группа), так и при ее сочетании с СД, ХОБЛ и АтД в среднем в 3 раза ( $p < 0,05$ ) ниже показателя контрольной группы, что может быть следствием переключения В-лимфоцитов с продукции IgG на IgE, свойственного патогенезу atopических заболеваний. В тоже время при ХОБЛ,

**Таблица 3.1** – Содержание сывороточных иммуноглобулинов в плазме крови больных аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Me (p0,25/p0,75))

| Исследуемые группы | Исследуемые показатели                       |                                    |                                     |                                     |
|--------------------|--|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
|                    | IgE, МЕ/мл                                   | IgG, г/л                           | IgA, г/л                            | IgM, г/л                            |
| 1 (контрольная)    | 120,47<br>(104,11/135,42)                    | 9,97<br>(8,33/10,89)               | 0,97<br>(0,88/1,04)                 | 1,13<br>(1,00/1,25)                 |
| 2 (СД)             | 104,17<br>(99,48/113,75)                     | 13,15<br>(10,88/14,47)             | 1,84*<br>(1,56/2,00)                | 1,87*<br>(1,64/2,02)                |
| 3 (БА)             | 598,33*<br>(526,45/667,67)                   | 3,45*<br>(2,95/5,02)               | 0,11*<br>(0,09/0,17)                | 0,08*<br>(0,05/0,11)                |
| 4 (ХОБЛ)           | 344,08*<br>(287,13/370,55)                   | 25,00*<br>(22,76/27,20)            | 5,05*<br>(4,45/5,37)                | 0,92<br>± 0,14                      |
| 5 (АтД)            | 406,55*<br>(329,06/447,22)                   | 15,04*<br>(13,83/17,02)            | 2,67*<br>(2,40/2,99)                | 3,30*<br>(2,87/3,70)                |
| 6 (СД и БА)        | 276,5*,^,#<br>(254,10/312,02)                | 2,13*,^,#<br>(1,77/2,51)           | 0,43*,^,#<br>(0,35/0,52)            | 0,75*,^,#<br>(0,58/0,90)            |
| 7 (СД и ХОБЛ)      | 347,5*,^<br>(280,97/391,02)                  | 25,14*,^<br>(22,13/27,49)          | 3,21*,^, $\diamond$<br>(2,89/3,54)  | 1,35 $\diamond$<br>(1,21/1,47)      |
| 8 (БА и ХОБЛ)      | 1109,5*,#, $\diamond$<br>(934,15/1305,77)    | 2,56*,#, $\diamond$<br>(2,04/2,84) | 0,45#, $\diamond$<br>(0,39/0,52)    | 0,26*,#, $\diamond$<br>(0,22/0,32)  |
| 9 (СД, БА и ХОБЛ)  | 1142,25*,^,#, $\diamond$<br>(955,28/1309,65) | 23,54*,^,#<br>(22,19/27,32)        | 2,14*, $\diamond$<br>(1,76/2,44)    | 1,87*,#, $\diamond$<br>(1,62/1,95)  |
| 10 (БА и АтД)      | 414,78*<br>(356,99/457,19)                   | 4,37*, $\triangle$<br>(3,98/4,80)  | 0,20*,#, $\triangle$<br>(0,15/0,30) | 0,25*,#, $\triangle$<br>(0,20/0,33) |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ),  $\diamond$  – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ),  $\triangle$  – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Группа 1 (контрольная) – относительно здоровые волонтеры; группа 2 (СД) – больные СД 2 типа; группа 3 (БА) – больные бронхиальной астмой; группа 4 (ХОБЛ) – больные хронической обструктивной болезнью легких; группа 5 (АтД) – больные атопическим дерматитом; группа 6 (СД и БА) – больные сахарным диабетом 2 типа с коморбидной бронхиальной астмой; группа 7 (СД и ХОБЛ) – больные сахарным диабетом 2 типа и коморбидной хронической обструктивной болезнью легких; группа 8 (БА и ХОБЛ) – больные бронхиальной астмой и коморбидной хронической обструктивной болезнью легких; группа 9 (СД, ХОБЛ и БА) – мультиморбидные больные с наличием сахарного диабета 2 типа, хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы; группа 10 (БА и АтД) – больные бронхиальной астмой и коморбидным атопическим дерматитом.

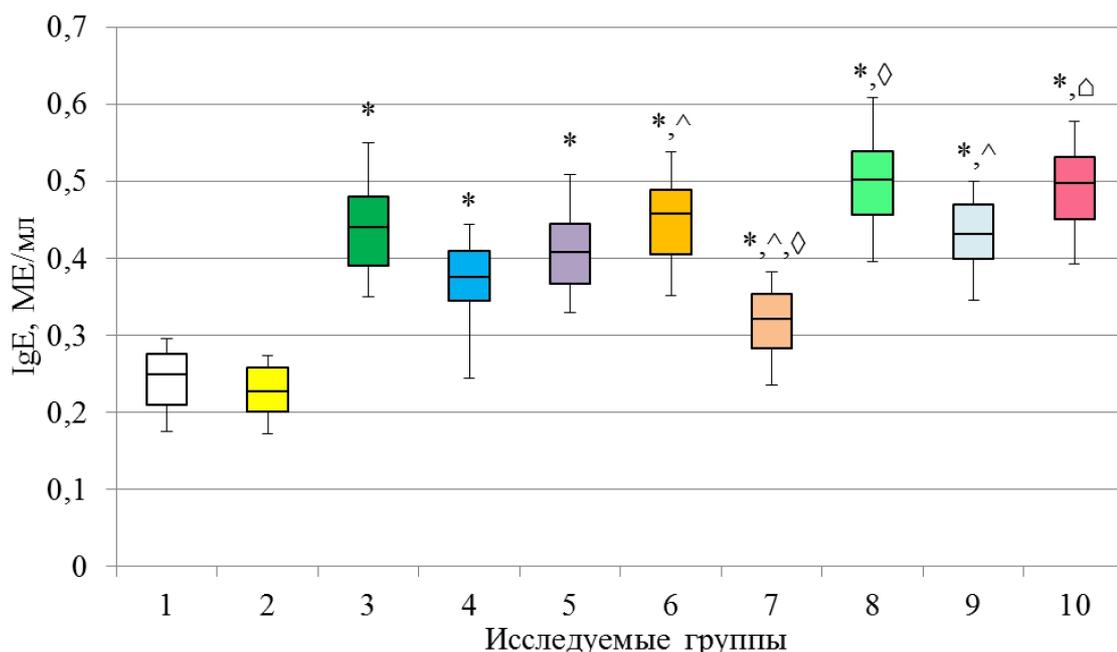
ее сочетании и СД-2 и в 9 группе (СД, БА и ХОБЛ) отмечалось превышение концентрации IgG (в 2,5 раза относительно этого показателя контрольной группы,  $p < 0,05$ ), что может быть обусловлено развитием инфекционного процесса на фоне ХОБЛ и СД 2 типа. У больных с IgE-опосредованным atopическим дерматитом было отмечено не столь значительное превышение IgG по сравнению с контрольной группой (в 1,5 раза). Возможной причиной увеличения сывороточного IgG при АД может также быть присоединение вторичной инфекции кожного покрова на фоне его atopического повреждения и снижение местного иммунитета (таблица 3.1).

Сходные изменения были выявлены и при оценке сывороточных иммуноглобулинов классов М и А в виде достоверного снижения показателей при БА, а также при ее сочетании с АД и эндокринными нарушениями (таблица 3.1).

Наряду с оценкой патогенетически значимого IgE на системном уровне – в периферической крови больных atopическими заболеваниями и их сочетанием с эндокринными нарушениями, представляло интерес локальное исследование IgE (в РЖ), что дает возможность не только определить сходство или отличие в характере изменений данного показателя на системном и локальном уровне, но и определить целесообразность его использования в неинвазивной саливодиagnosticике названных заболеваний.

Результаты исследования показали, что в РЖ (как и в плазме крови) больных групп 3–10 имела место повышенная концентрация IgE (в среднем в 1,3–2,0 раза) с отсутствием значимых различий между группами сравнения и основными группами обследуемых (рисунок 3.1).

При этом прослеживается тот факт, что как при БА (3-я группа), так и при ее сочетании с СД (6-я группа), ХОБЛ (8-я группа) и, особенно, с АД (10-я группа) уровень содержания IgE РЖ был наиболее высоким, что находится в полном соответствии с патогенезом БА и АД.



**Рисунок 3.1** – Содержание общего иммуноглобулина Е в ротовой жидкости больных аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (min-p0,25-Me-p0,75-max)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), diamond – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), triangle – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Группа 1 (контрольная) – □ – относительно здоровые волонтеры; группа 2 (СД) – ■ – больные СД 2 типа; группа 3 (БА) – ■ – больные бронхиальной астмой; группа 4 (ХОБЛ) – ■ – больные хронической обструктивной болезнью легких; группа 5 (АтД) – ■ – больные атопическим дерматитом; группа 6 (СД и БА) – ■ – больные сахарным диабетом 2 типа с коморбидной бронхиальной астмой; группа 7 (СД и ХОБЛ) – ■ – больные сахарным диабетом 2 типа и коморбидной хронической обструктивной болезнью легких; группа 8 (БА и ХОБЛ) – ■ – больные бронхиальной астмой и коморбидной хронической обструктивной болезнью легких; группа 9 (СД, ХОБЛ и БА) – ■ – мультиморбидные больные с наличием сахарного диабета 2 типа, хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы; группа 10 (БА и АтД) – ■ – больные бронхиальной астмой и коморбидным атопическим дерматитом.

Таким образом, полученные данные оценки патогенетически значимого IgE на местном уровне у больных атопическими заболеваниями и при их

сочетании с эндокринными нарушениями свидетельствуют о сходном возрастании содержания IgE на системном и локальном уровне и возможности оценки данного показателя методом неинвазивной саливодиагностики. Наряду с этим установлено преимущественное снижение иммуноглобулинов основных классов (IgA, IgM, IgG) при заболеваниях атопической природы (БА, АтД) с сохранением данного признака в качестве доминирующего при сочетании БА с эндокринными нарушениями.

### **3.2. Системный и локальный уровень содержания цитокинов у больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с эндокринными нарушениями**

Поскольку патогенетическую основу аллергической гиперчувствительности 1 типа [P.G.H. Gell, R.R.A. Coombs, 1975] составляют IgE-опосредуемые аллергические реакции, которые, в свою очередь, обусловлены изменением соотношения Th<sub>2</sub>/Th<sub>1</sub> с уклоном в продукцию цитокинов Th<sub>2</sub> [И.С. Гушин, 1997], интерес представляла оценка некоторых показателей цитокинового профиля у испытуемых с аллергическими заболеваниями и при их сочетании с сахарным диабетом 2 типа. Исследованиями показано, что при общем сходстве изменений цитокинового профиля у больных аллергическими IgE-опосредованными заболеваниями имеют место некоторые отличительные особенности. В частности, при АтД и БА выявлено однонаправленное увеличение сывороточной концентрации ИЛ-2, ИЛ-8, ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10, тогда как при АтД имело место увеличение содержания ИЛ-1β в 2 раза ( $p < 0,05$ ) относительно данного показателя контрольной группы (при нормальном его уровне у исследуемых лиц с БА). У больных БА выявлено снижение содержания ИФН-γ в 7 раз ( $p < 0,05$ ), при нормальном его содержании у исследуемых лиц с АтД (таблица 3.2).

**Таблица 3.2** – Содержание цитокинов в плазме крови больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Ме (p0,25/p0,75))

| Исследуемые группы | Исследуемые показатели        |                               |                                  |                                  |                               |                                |                             |
|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
|                    | ИЛ-1β, пг/мл                  | ИЛ-2, пг/мл                   | ИЛ-8, пг/мл                      | ИЛ-6, пг/мл                      | ИЛ-4, пг/мл                   | ИЛ-10, пг/мл                   | ИФН-γ, пг/мл                |
| 1 (контрольная)    | 3,77<br>(3,22/<br>4,16)       | 1,09<br>(0,84/<br>1,18)       | 1,67<br>(1,47/<br>1,83)          | 3,16<br>(2,75/<br>3,48)          | 2,11<br>(1,90/<br>2,31)       | 1,53<br>(1,39/<br>1,68)        | 5,19<br>(4,54/<br>5,60)     |
| 2 (СД)             | 12,20*<br>(10,13/<br>13,74)   | 3,05*<br>(2,71/<br>3,35)      | 21,40*<br>(17,98/<br>24,55)      | 10,86*<br>(10,04/<br>12,03)      | 3,02*<br>(2,69/<br>3,32)      | 3,45*<br>(2,99/<br>3,77)       | 4,38<br>(4,02/<br>4,80)     |
| 3 (БА)             | 3,11<br>(2,94/<br>3,28)       | 2,31*<br>(2,07/<br>2,57)      | 30,86*<br>(26,84/<br>33,78)      | 4,88*<br>(4,51/<br>5,20)         | 5,87*<br>(5,33/<br>6,20)      | 3,33*<br>(2,98/<br>3,65)       | 0,83*<br>(0,79/<br>0,90)    |
| 4 (ХОБЛ)           | 0,49*<br>(0,42/<br>0,56)      | 2,89*<br>(2,61/<br>3,45)      | 6,75*<br>(5,14/<br>7,49)         | 4,17<br>(3,88/<br>4,46)          | 7,96*<br>(7,41/<br>8,54)      | 1,17<br>(0,95/<br>1,26)        | 0,71*<br>(0,68/<br>0,75)    |
| 5 (АтД)            | 7,88*<br>(7,46/<br>8,10)      | 2,47*<br>(2,13/<br>2,60)      | 4,68*<br>(4,04/<br>5,10)         | 24,04*<br>(22,34/<br>26,38)      | 11,96*<br>(10,83/<br>13,14)   | 6,36*<br>(5,85/<br>6,92)       | 5,37<br>(4,75/<br>6,03)     |
| 6 (СД и БА)        | 3,10<br>(2,75/<br>3,42)       | 4,22*,#<br>(3,84/<br>4,57)    | 7,66*^,#<br>(6,86/<br>8,80)      | 61,9*^,#<br>(55,18/<br>64,82)    | 8,25*^,#<br>(7,78/<br>8,68)   | 12,60*^,#<br>(10,33/<br>14,05) | 1,05*^<br>(0,90/<br>1,13)   |
| 7 (СД и ХОБЛ)      | 4,55^,◇<br>(4,03/<br>4,80)    | 3,56*<br>(3,20/<br>3,89)      | 12,38*^,◇<br>(10,35/<br>15,01)   | 5,18*^<br>(4,79/<br>5,37)        | 5,03*^,◇<br>(4,67/<br>5,28)   | 1,49^<br>(1,21/<br>1,65)       | 0,69*^<br>(0,62/<br>0,80)   |
| 8 (БА и ХОБЛ)      | 0,16*^,#,◇<br>(0,11/<br>0,23) | 0,69*^,#,◇<br>(0,46/<br>0,85) | 8,21*^,#<br>(7,40/<br>9,00)      | 4,54<br>(4,13/<br>4,80)          | 2,84#^,◇<br>(2,57/<br>3,00)   | 1,06#<br>(0,94/<br>1,20)       | 0,70*<br>(0,65/<br>0,77)    |
| 9 (СД, БА и ХОБЛ)  | 5,95*^,#,◇<br>(5,50/<br>6,41) | 1,38^,◇<br>(1,20/<br>1,54)    | 15,77*^,#,◇<br>(13,85/<br>16,90) | 9,12*^,#,◇<br>(8,35/<br>9,79)    | 3,16*^,#,◇<br>(2,80/<br>3,42) | 2,44*^,#,◇<br>(2,03/<br>2,77)  | 0,72*^<br>(0,65/<br>0,76)   |
| 10 (БА и АтД)      | 5,67*^,#<br>(5,16/<br>6,03)   | 1,95*<br>(1,82/<br>2,15)      | 21,38*^,#,△<br>(19,68/<br>23,42) | 14,65*^,#,△<br>(12,31/<br>16,17) | 5,33*^,△<br>(4,84/<br>5,75)   | 5,48*^,#<br>(4,93/<br>5,89)    | 1,16*^,△<br>(1,01/<br>1,32) |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), ◇ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), △ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп такие же, как в примечании к таблице 3.1.

Следует отметить, что уровень содержания исследуемых цитокинов у больных с СД 2 типа в целом похож на значения аналогичных показателей при АтД, однако его отличает более значительное статистически значимое превышение концентрации ИЛ-8 (в 13 раз относительно контрольной группы,  $p < 0,05$ ). Профиль исследуемых цитокинов при ХОБЛ имеет отличительные особенности. Так концентрации ИЛ-1 $\beta$  существенно (в 7,5 раз,  $p < 0,05$ ) ниже этого показателя в контрольной группе. У больных ХОБЛ отсутствуют значимые отличия концентрации провоспалительного ИЛ-6 по сравнению с 1-ой группой, тогда как при других заболеваниях имели место его существенно более высокие концентрации.

При сочетании СД 2 типа с БА спектр исследуемых сывороточных цитокинов похож на таковой при БА, однако прослеживается более высокое содержание провоспалительного ИЛ-6 (в 19 раз относительно контрольных значений, в 6,2 раза по сравнению с группой больных СД 2 типа и в 12 раз – относительно этого показателя у лиц с изолированной БА,  $p < 0,05$ ).

У исследуемых лиц с клиническими признаками СД 2 типа и ХОБЛ доминировал профиль цитокинов, характерный для больных с ХОБЛ с той лишь разницей, что при сочетании ХОБЛ с СД 2 типа отмечается нивелирование дефицита ИЛ-1 $\beta$ , выявленного при изолированном течении ХОБЛ (таблица 3.2).

Оценка цитокинов крови при сочетанном течении клинически сходных заболеваний – БА и ХОБЛ показала большее сходство их концентраций с таковыми при ХОБЛ, о чем свидетельствует низкий уровень ИЛ-1 $\beta$  и ИФН $\gamma$ , повышенное содержание ИЛ-8 и сохранение на уровне контрольных значений ИЛ-6 и ИЛ-10. Между тем имела место особенность, свойственная сочетанию БА и ХОБЛ: нормальный уровень содержания противовоспалительного ИЛ-4, что не отмечалось ни в одной клинической группе (таблица 3.2).

У больных с коморбидным течением АтД и БА имел место высокий уровень всех цитокинов, кроме ИФН- $\gamma$ , содержание которого было ниже контрольного в 4,5 раза ( $p < 0,05$ ) и отражало сходство показателя содержания

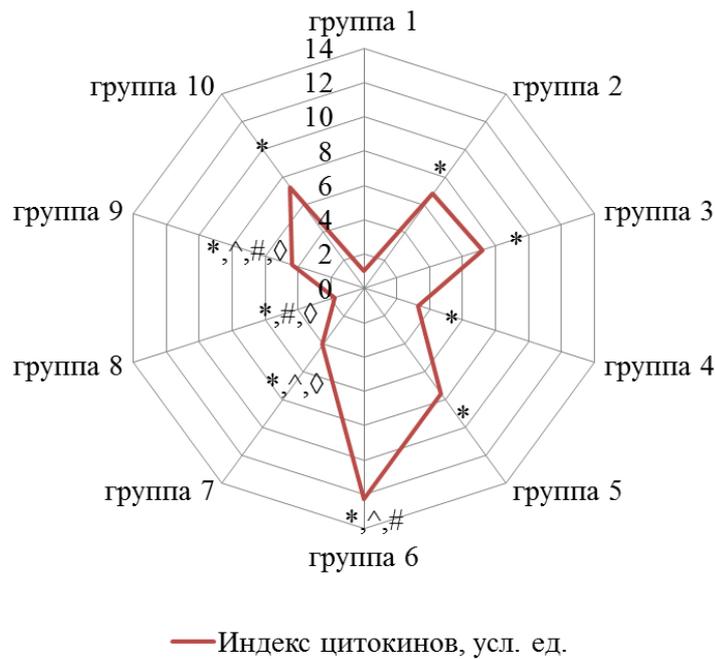
данного цитокина с таковым при БА. Наряду с этим при сочетании БА и АтД прослеживается более выраженное превышение хемокина ИЛ-8, уровень которого был выше его контрольного значения в 13 раз ( $p < 0,05$ ), выше такового в группе испытуемых лиц, у которых диагностирован только АтД в 5 раз, но ниже уровня ИЛ-8 в группе больных БА в 1,5 раза.

Одновременное выявление клинических признаков СД 2 типа, БА и ХОБЛ также позволяет обнаружить преобладающее превышение показателей контрольной группы всех исследуемых цитокинов, за исключением ИФН- $\gamma$ , уровень содержания которого был в 7 раз ниже такового у исследуемых 1-ой контрольной группы ( $p < 0,05$ ), и в 6 раз – по сравнению с больными СД 2 типа ( $p < 0,05$ ). Последнее может быть обусловлено тем, что у исследуемых лиц с полиморбидным состоянием два их трех заболеваний (БА и ХОБЛ) отличает резкое угнетение продукции ИФН- $\gamma$  (в 6 и 7 раз, соответственно) (таблица 3.2).

Поскольку среди оцениваемых цитокинов имеются как про-, так и противовоспалительные интерлейкины, для которых была установлено сходство их профилей, мы посчитали целесообразным для комплексной оценки цитокинового баланса в организме исследуемых клинических групп вычислить интегральный цитокиновый индекс, как отношение суммы средних арифметических значений про- и противовоспалительных цитокинов.

Было установлено (рисунок 3.2), что во всех клинических группах отсутствует оптимальный баланс цитокинов и имеет место его существенный сдвиг в сторону воспалительного компонента.

Важно отметить, что наибольший интегральный цитокиновый индекс зафиксирован при сочетанном течении СД 2 типа и БА (в 12 раз,  $p < 0,05$ ) и это обусловлено, в основном, значительным уровнем провоспалительного ИЛ-6, а минимальное значение данного расчетного показателя выявлено при сочетании БА и ХОБЛ, что можно связать с очень низким содержанием ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$  на фоне близкого к контрольным показателям содержания противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-4, ИЛ-10).



**Рисунок 3.2** – Значения интегрального цитокинового индекса плазмы крови исследуемых групп больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетании с сахарным диабетом 2 типа (Me)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), \diamond – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), \triangle – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп такие же, как в примечании к рисунку 3.1.

Анализ полученных данных также позволяет констатировать, что значения интегрального цитокинового индекса у больных БА, АтД, а также при их сочетании соответствуют таковым при СД 2 типа и в среднем в 7,5 раз превышали этот показатель у практически здоровых лиц ( $p < 0,05$ ). Между тем у больных ХОБЛ (4-я группа) и при ее сочетании с другими заболеваниями (7-я, 8-я, 9-я группы) сдвиг баланса цитокинов в сторону провоспалительного звена был менее выраженным (рисунок 3.2).

Сравнение профиля исследуемых цитокинов периферической крови обследуемых с таковыми показателями в РЖ не позволяет сделать заключение об их полном сходстве (таблица 3.2., 3.3.).

**Таблица 3.3** – Содержание цитокинов в ротовой жидкости больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Ме (p0,25/p0,75))

| Исследуемые группы | Исследуемые показатели         |                              |                                 |                                   |                              |                              |                                |
|--------------------|--------------------------------|------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
|                    | ИЛ-1β,<br>пг/мл                | ИЛ-2,<br>пг/мл               | ИЛ-8,<br>пг/мл                  | ИЛ-6,<br>пг/мл                    | ИЛ-4,<br>пг/мл               | ИЛ-10,<br>пг/мл              | ИФН-γ,<br>пг/мл                |
| 1 (контрольная)    | 15,84<br>(13,15/<br>17,21)     | 10,05<br>(8,55/<br>11,37)    | 7,80<br>(7,12/<br>8,36)         | 48,51<br>(42,86/<br>54,38)        | 1,90<br>(1,78/<br>2,00)      | 4,28<br>(3,89/<br>4,56)      | 2,43<br>(2,00/<br>2,78)        |
| 2 (СД)             | 17,76<br>(16,03/<br>19,30)     | 2,09*<br>(1,70/<br>2,89)     | 16,10*<br>(15,05/<br>17,10)     | 57,94<br>(51,21/<br>61,90)        | 1,21*<br>(1,03/<br>1,35)     | 2,05*<br>(1,98/<br>2,13)     | 2,02<br>(1,80/<br>2,31)        |
| 3 (БА)             | 14,11<br>(12,78/<br>15,63)     | 6,41*<br>(5,94/<br>6,88)     | 7,10<br>(6,56/<br>7,73)         | 95,41*<br>(87,14/<br>106,18)      | 3,67*<br>(3,45/<br>3,97)     | 6,32*<br>(5,78/<br>7,00)     | 1,15*<br>(1,05/<br>1,16)       |
| 4 (ХОБЛ)           | 12,30<br>(11,35/<br>13,06)     | 8,58<br>(7,94/<br>9,01)      | 24,15*<br>(22,17/<br>25,86)     | 39,55*<br>(34,55/<br>42,91)       | 2,01<br>(1,88/<br>2,23)      | 4,29<br>(3,80/<br>4,63)      | 2,14<br>(1,90/<br>2,41)        |
| 5 (АтД)            | 16,95<br>(15,47/<br>18,10)     | 5,43*<br>(4,90/<br>5,82)     | 10,84<br>(9,23/<br>11,54)       | 55,17<br>(49,08/<br>59,65)        | 3,03*<br>(2,65/<br>3,38)     | 6,45*<br>(6,00/<br>6,92)     | 1,63*<br>(1,54/<br>1,75)       |
| 6 (СД и БА)        | 10,65*,^,#<br>(9,14/<br>11,76) | 4,96*,^<br>(4,65/<br>5,38)   | 12,43*,#<br>(10,25/<br>13,85)   | 63,78*,#<br>(59,43/<br>66,07)     | 2,50*,#<br>(2,21/<br>2,80)   | 6,71*,^<br>(6,11/<br>7,14)   | 1,38*,^<br>(1,13/<br>1,51)     |
| 7 (СД и ХОБЛ)      | 9,80*,^<br>(9,05/<br>10,78)    | 6,50*,^<br>(6,12/<br>6,86)   | 22,19*,^<br>(20,55/<br>23,67)   | 41,35^<br>(37,14/<br>45,00)       | 2,14^<br>(1,95/<br>2,28)     | 5,67*,^<br>(5,24/<br>6,01)   | 1,95<br>(1,72/<br>2,10)        |
| 8 (БА и ХОБЛ)      | 10,52*,#<br>(9,89/<br>11,34)   | 5,03*,◇<br>(4,71/<br>5,40)   | 15,54*,#,◇<br>(14,39/<br>16,27) | 54,24#,◇<br>(50,01/<br>58,42)     | 2,85*,#,◇<br>(2,64/<br>3,03) | 6,95*,◇<br>(6,33/<br>7,43)   | 1,07*,◇<br>(0,91/<br>1,20)     |
| 9 (СД, БА и ХОБЛ)  | 2,06*,^,#,◇<br>(1,63/<br>3,45) | 4,53*,^,◇<br>(4,09/<br>4,79) | 22,22*,^,#<br>(20,50/<br>23,83) | 12,63*,^,#,◇<br>(10,22/<br>17,25) | 3,46*,^,◇<br>(3,00/<br>3,70) | 6,57*,^,◇<br>(6,03/<br>7,11) | 0,57*,^,#,◇<br>(0,52/<br>0,61) |
| 10 (БА и АтД)      | 14,75<br>(13,38/<br>15,74)     | 4,21*,#<br>(3,96/<br>4,55)   | 12,23*,#<br>(10,95/<br>13,21)   | 67,42*,#,△<br>(63,31/<br>71,02)   | 3,09*<br>(2,88/<br>3,40)     | 8,02*,#,△<br>(7,32/<br>8,70) | 1,21*,△<br>(1,05/<br>1,33)     |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), ◇ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), △ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп такие же, как в примечании к таблице 3.1.

В частности, только при двух заболеваниях (БА и ее сочетании с ХОБЛ) на локальном и системном уровне было установлено сходство параметров ИЛ-1 $\beta$  в виде статистически значимого его меньшего содержания (при сочетании БА и ХОБЛ) и соответствия показателю контрольной группы (при БА). Между тем если в периферической крови при ХОБЛ имеет место существенно меньшее содержание данного провоспалительного цитокина, то на локальном уровне этот показатель не отличается от контрольных значений. Кроме того уровень сывороточного ИЛ-1 $\beta$  у больных СД 2 типа и при коморбидном течении его с БА и ХОБЛ, а также у исследуемых лиц 10-й группы с сочетанным течением БА и АтД, выявлен более низкий показатель его концентрации на местном уровне или не измененный относительно контроля.

В отношении цитокина Т-хелперов 1 порядка – ИЛ-2 отмечен сходный характер его содержания в плазме крови и в РЖ исключительно при сочетании БА и ХОБЛ (однонаправленное снижение показателя), тогда как при других заболеваниях на локальном уровне выявлен противоположный системному характер изменений данного интерлейкина. Между тем содержание в РЖ провоспалительного хемокина – ИЛ-8 в большинстве случаев соответствует параметрам этого показателя в кровотоке. Так при СД 2 типа, ХОБЛ, и при всех исследованных вариантах коморбидных состояний на местном и на системном уровнях наблюдается статистически значимый высокий уровень ИЛ-8. Однако если максимальное содержание ИЛ-8 в крови имеет место при БА, то в РЖ наибольшее его значение отмечено при ХОБЛ и его сочетании с СД 2 типа и БА.

Саливодиagnostика содержания провоспалительного ИЛ-6 приемлема только при БА, ее сочетании с СД 2 типа и с АтД, при которых зафиксированы сходные параметры присутствия данного интерлейкина и в крови и в РЖ, тогда как при других заболеваниях значения его концентраций на местном и системном уровне имели противоположный характер.

Противовоспалительный ИЛ-4 продемонстрировал сходные значения этого показателя в РЖ и в периферической крови лишь при БА, ее сочетании с АтД, а также с СД и ХОБЛ, которые заключаются в статистически значимом превышении его содержания в контрольной группе.

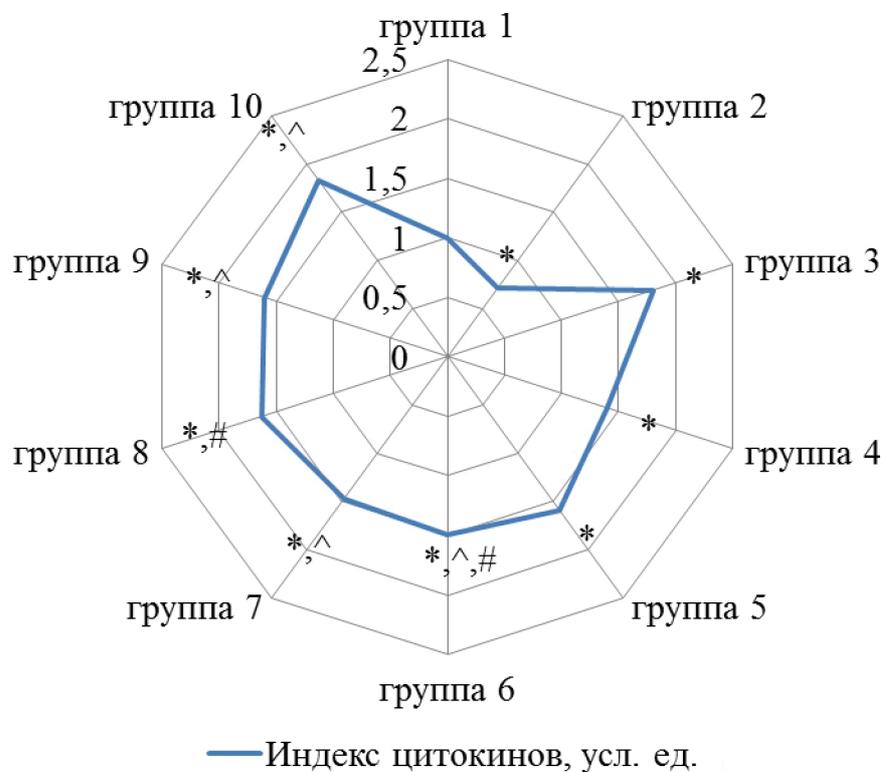
Общность характеристик присутствия на системном и локальном уровне другого цитокина Т-хелперов 2-го порядка (ИЛ-10) наблюдалась во второй группе (СД) (более низкое значение концентрации), в группах 3 (БА), 5 (АтД), 6 (СД и БА), 9 (СД, БА и ХОБЛ), 10 (БА и АтД) (более высокое содержание), а также в группе 4 (ХОБЛ) (соответствие контрольным показателям).

Содержание основного продукта Т-хелперов 1 порядка, отвечающего за реакции клеточного иммунитета – ИФН- $\gamma$  также имело сходство по характеру присутствия как на системном, так и на локальном уровне. Его сниженное содержание было выявлено у больных с БА, а также при ее сочетании с СД 2 типа (6-я группа) с ХОБЛ (8-я группа), с АтД (10-я группа) и при коморбидном течении СД, БА и ХОБЛ (9-я группа), а соответствие показателям контрольной группы имело место при изолированном эндокринном нарушении (СД).

Таким образом, анализ профилей сывороточных и локальных цитокинов позволил обнаружить их сходство, а значит и возможность саливодиагностики лишь при оценке таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-8 и ИФН $\gamma$ , а также при определении противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-4 и ИЛ-10) у больных СД 2 типа, БА, ХОБЛ и при коморбидных заболеваниях – группа 9 (СД, БА и ХОБЛ) и группа 10 (БА и АтД) (таблица 3.3).

Для суждения о балансе про- и противовоспалительных цитокинов РЖ и о его сравнении с таковым в периферической крови по полученным данным производили расчет интегрального цитокинового индекса, как отношения суммы средних арифметических значений локальных про- и противовоспалительных цитокинов. Установлено, что сдвиг баланса цитокинов в сторону провоспалительного звена цитокинов имеет место во

всех группах обследуемых, за исключением группы больных СД 2 типа, у которых величина ИЦ на 25 % была ниже значений контрольной группы и в 2–2,5 раза ниже средних значений ИЦ в остальных клинических группах (рисунок 3.3). Следует отметить, что наибольшие значения ИЦ имеют место при атопических заболеваниях – при БА и, особенно, при ее сочетании с АтД (в 1,75 раза относительно контрольной группы), тогда как при ХОБЛ и при ее сочетанном течении ИЦ превышал аналогичный параметр контрольной группы только в 1,5 раза.



**Рисунок 3.3** – Значения интегрального цитокинового индекса ротовой жидкости исследуемых групп больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетании с сахарным диабетом 2 типа (Me)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ),  $\diamond$  – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ),  $\triangle$  – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп такие же, как в примечании к рисунку 3.1.

### 3.3. Показатели активности свободнорадикальных процессов, функционирования антиоксидантной системы и уровня эндогенной интоксикации

В результате исследований ожидаемо было продемонстрирована интенсификация свободнорадикальных процессов во всех группах по данным параметров хемилюминесценции плазмы крови и ТБЧ в эритроцитарной массе (таблица 3.4).

**Таблица 3.4** – Показатели интенсивности свободнорадикальных процессов в крови больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Me (p0,25/p0,75))

| Исследуемые группы | Исследуемые показатели |                       |                          |
|--------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|
|                    | МВХЛ, усл. ед.         | ПХЛ, ед. пл.          | ТБЧ, усл. ед.            |
| 1 (контрольная)    | 0,12 (0,10/0,14)       | 0,31 (0,28/0,36)      | 14,18 (12,76/15,24)      |
| 2 (СД 2 типа)      | 0,43 (0,38/0,48)*      | 0,96 (0,89/1,04)*     | 29,75 (27,03/32,25)*     |
| 3 (БА)             | 0,39 (0,37/0,45)*      | 1,52 (1,39/1,64)*     | 19,29 (17,36/20,82)*     |
| 4 (ХОБЛ)           | 0,47 (0,42/0,51)*      | 1,50 (1,37/1,60)*     | 24,53 (22,55/25,78)*     |
| 5 (АтД)            | 0,24 (0,21/0,26)*      | 0,57 (0,49/0,62)*     | 17,31 (16,09/18,59)*     |
| 6 (СД и БА)        | 0,53 (0,46/0,58)*,#    | 1,62 (1,41/1,77)*,^   | 28,54 (26,51/30,00)*,#   |
| 7 (СД и ХОБЛ)      | 0,57 (0,52/0,62)*,^    | 1,70 (1,65/1,83)*,^   | 35,76 (33,35/36,88)*,^,◇ |
| 8 (БА и ХОБЛ)      | 0,45 (0,41/0,50)*      | 1,59 (1,45/1,70)*     | 25,93 (24,33/27,14)*,#   |
| 9 (СД, БА и ХОБЛ)  | 0,58 (0,53/0,62)*,^,#  | 1,75 (1,63/1,88)*,^,◇ | 31,99 (29,64/33,58)*,#,◇ |
| 10 (БА и АтД)      | 0,38 (0,34/0,41)*,△    | 1,79 (1,65/1,95)*,#,△ | 22,50 (20,84/24,16)*,△   |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), ◇ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), △ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к таблице 3.1.

Так, МВХЛ превышал контрольный показатель в 2,0–4,7 раза, достигая наибольших значений в группах с сочетанными формами заболеваний. Ведущее влияние оказывало наличие СД 2 типа. В группах 6, 7 и 9

исследуемый показатель достоверно превышал значения аналогичных показателей соответствующих групп сравнения и контрольные значения в 4,3–4,7 раза ( $p < 0,05$ ), тогда как в группах больных с сочетанным течением БА с ХОБЛ или АтД МВХЛ превышал значения группы 1 в 3,0–3,7 раза ( $p < 0,05$ ) и слабо отличался от соответствующих групп сравнения. Регистрируемая площадь хемилюминесценции в группах больных 2–10 была существенно больше данного показателя в контрольной группе, в среднем в 3,1–5,7 раза ( $p < 0,05$ ), наибольшие значения ПХЛ выявлены у больных с заболеваниями респираторного тракта и атопическим дерматитом.

Высокое значение ТБЧ в эритроцитах, отражающее длительное течение окислительного стресса, наблюдалось также во всех изученных группах, но наибольшие величины этого показателя отмечены в группе больных СД 2 типа – в 2,1 раза и в группе больных ХОБЛ – в 1,7 раза выше значений контрольной группы ( $p < 0,05$ ). В группах с сочетанными формами заболеваний наблюдалось еще большее превышение показателя ТБЧ, с максимальным значением в группах 7 (СД и ХОБЛ) и 9 (СД, БА и ХОБЛ) – увеличение в 2,3–2,5 раза по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

В РЖ также отмечалась высокая интенсивность свободнорадикальных процессов, хотя и менее выраженная и не во всех группах. Большие значения МВХЛ зафиксированы в группах 4, 6–9, то есть в группах больных ХОБЛ и коморбидных с ХОБЛ заболеваний, в среднем на 30–62 % ( $p < 0,05$ ). ПХЛ существенно превышала контрольные значения этого показателя у больных ХОБЛ, СД 2 типа, а также во всех исследованных группах с коморбидными состояниями. ПХЛ превышала в 1,6–2,1 раза этот показатель контрольной группы ( $p < 0,05$ ), достигая максимальных значений в группе с полиморбидной патологией (СД, БА и ХОБЛ) (таблица 3.5).

Значения ТБЧ в целом соответствовали параметрам хемилюминесцентного анализа. Так был определен показатель ТБЧ в группах больных СД 2 типа и больных ХОБЛ, который превысил этот параметр

контроля на 66,3 % и 26,1 % соответственно ( $p < 0,05$ ). В группах с сочетанными заболеваниями определялись еще большие количества продуктов окислительных модификаций биомолекул. Их содержание в крови больных в группах 8 (БА и ХОБЛ) и 10 (БА и АтД) было выше этого показателя контрольной группы на 20,3–32,5 %, а в группах 6, 7 и 9 – на 57,7–63,9 % ( $p < 0,05$ ). Необходимо заметить, что прослеживается взаимосвязь интенсивности окислительных процессов в РЖ с наличием у больных ХОБЛ и СД 2 типа.

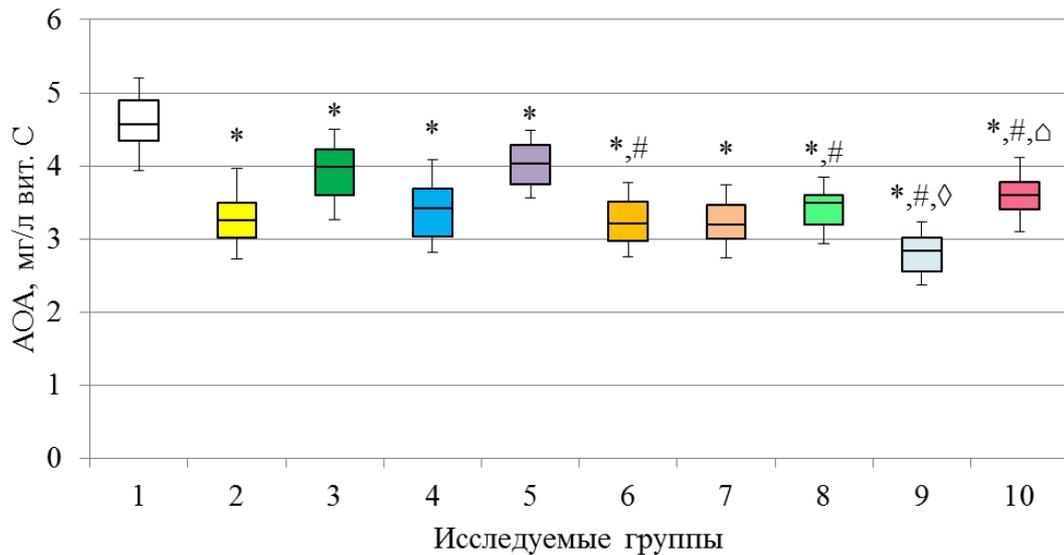
Таблица 3.5 – Показатели интенсивности свободнорадикальных процессов в ротовой жидкости больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Me ( $p0,25/p0,75$ ))

| Исследуемые группы | Исследуемые показатели |                       |                       |
|--------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
|                    | МВХЛ, усл. ед.         | ПХЛ, ед. пл.          | ТБЧ, усл. ед.         |
| 1 (контрольная)    | 0,75 (0,69/0,84)       | 1,01 (0,95/1,15)      | 4,18 (3,67/4,32)      |
| 2 (СД)             | 0,92 (0,84/1,04)*      | 1,80 (1,47/1,90)*     | 6,95 (6,31/7,54)*     |
| 3 (БА)             | 0,74 (0,70/0,85)       | 1,19 (1,08/1,26)      | 4,12 (3,75/4,35)      |
| 4 (ХОБЛ)           | 1,06 (0,97/1,20)*      | 1,94 (1,81/2,03)*     | 5,27 (4,81/5,74)*     |
| 5 (АтД)            | 0,79 (0,72/0,86)       | 1,21 (1,08/1,33)      | 4,79 (4,30/5,00)      |
| 6 (СД и БА)        | 0,97 (0,92/1,07)*,#    | 1,66 (1,54/1,79)*,#   | 6,59 (6,02/6,89)*,#   |
| 7 (СД и ХОБЛ)      | 1,11 (1,04/1,21)*,^    | 1,93 (1,75/2,06)*     | 6,60 (6,12/7,05)*,◇   |
| 8 (БА и ХОБЛ)      | 1,21 (1,10/1,32)*,#    | 2,01 (1,90/2,11)*,#   | 5,54 (5,21/5,83)*,#   |
| 9 (СД, БА и ХОБЛ)  | 1,16 (1,08/1,25)*,^,#  | 2,10 (1,93/2,18)*,^,# | 6,85 (6,30/7,21)*,#,◇ |
| 10 (БА и АтД)      | 0,90 ± (0,84/0,94)     | 1,59 (1,49/1,67)*,#,△ | 5,03 (4,73/5,40)*,#   |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), ◇ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), △ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к таблице 3.1.

Исследование общей антиоксидантной активности плазмы крови и РЖ амперометрическим методом продемонстрировало ее низкий уровень во всех исследуемых группах больных. Наименьший показатель АОА плазмы крови

зафиксирован в группах больных СД 2 типа и больных ХОБЛ, а также в группах, представленных больными с сочетанными формами исследуемых заболеваний (рисунок 3.4). В среднем в этих группах показатель АОА был меньше контрольных значений на 21,2–37,0 % ( $p < 0,05$ ). Причем наименьшее значение АОА выявлено в группе 9, в которой у исследуемых лиц наблюдалось сочетанное течение СД 2 типа, ХОБЛ и БА одновременно. В группах 3 и 4 АОА была меньше значений контроля только на 12,0–13,0 %.

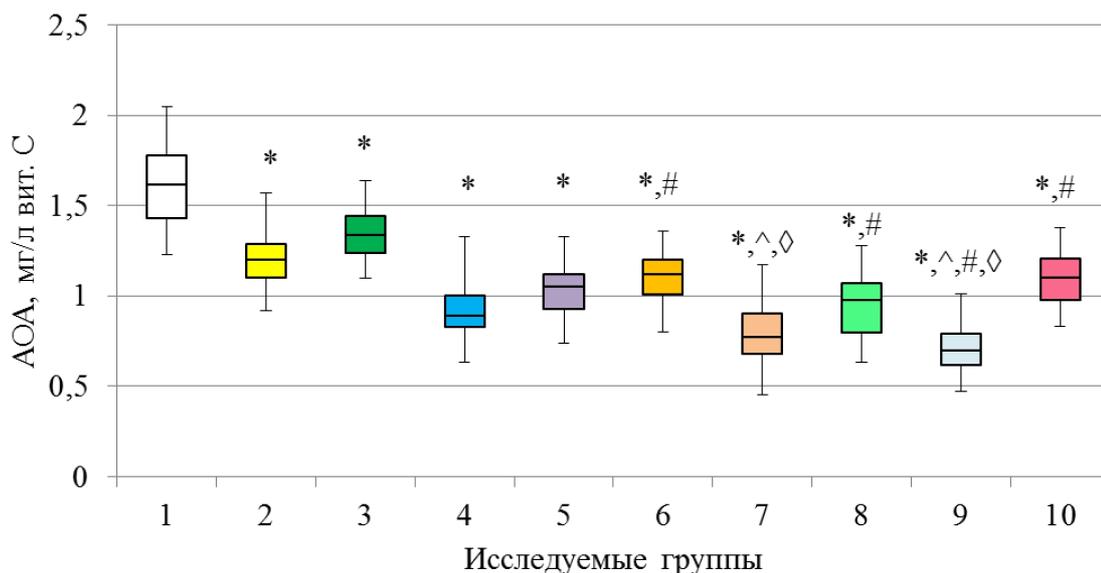


**Рисунок 3.4** – Общая антиоксидантная активность плазмы крови больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (min-p0,25-Me-p0,75-max)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), \diamond – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), \triangle – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к рисунку 3.1.

В РЖ зафиксированы более существенные различия общей АОА (рисунок 3.5). В группах сравнения наиболее выраженные различия от контрольных значений отмечены в 4-й и 5-й группах, в которых АОА была меньше этого показателя контрольной группы на 45,1 % и 35,2 %

соответственно ( $p < 0,05$ ). В основных группах с сочетанными формами заболеваний выявлены еще более низкие значения этого показателя. В группах 7 (СД и ХОБЛ) и 9 (СД, БА и ХОБЛ) антиоксидантный потенциал РЖ был меньше контрольных значений на 52,5 % и 56,8 % соответственно ( $p < 0,05$ ).



**Рисунок 3.5** – Общая антиоксидантная активность ротовой жидкости больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (min-p0,25-Me-p0,75-max)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), \diamond – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), \triangle – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к рисунку 3.1.

Полученные результаты исследований демонстрируют сходные изменения функционирования АОС у изучаемых категорий больных, однако, разной интенсивности (таблица 3.6). Анализ активностей СОД и КАТ – ферментов 1 и 2 звена АОС в эритроцитах показал наиболее выраженные изменения у при СД 2 типа. У исследуемых лиц данной группы активность СОД была в 1,85 раза меньше ( $p < 0,05$ ), а активность КАТ на 50 % больше ( $p < 0,05$ ) этих показателей контрольной группы. У больных БА и ХОБЛ

активность СОД либо превышала (группа 3), либо не отличалась (группа 4) от контрольных значений, а активность КАТ превышала данные контроля, но менее существенно – на 31–33 % ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 3.6** – Показатели функционирования антиоксидантной системы крови больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Me ( $p_{0,25}/p_{0,75}$ ))

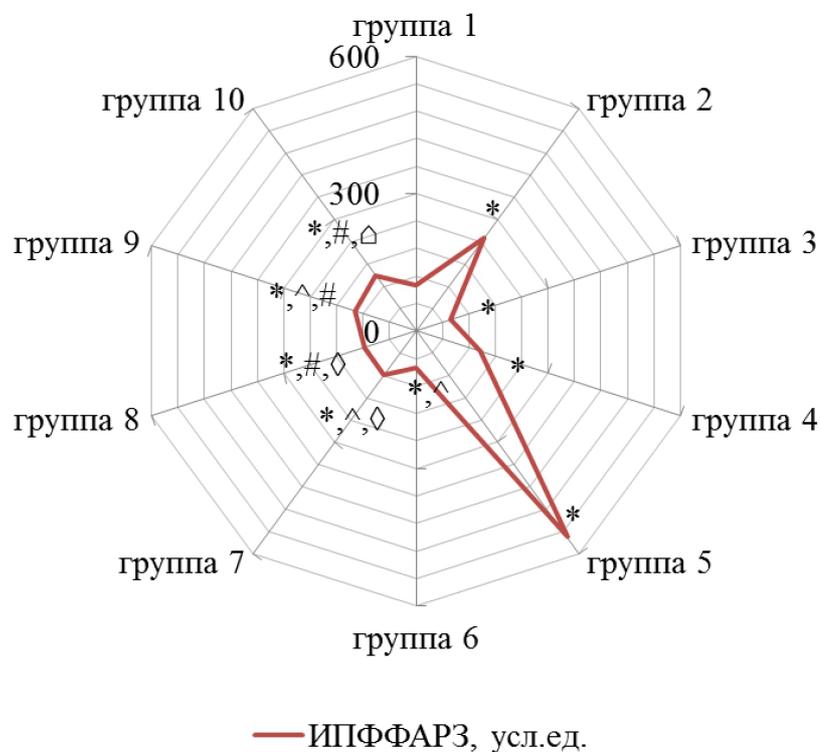
| Исследуемые группы | Исследуемые показатели                  |                                       |                                      |  |                                  |
|--------------------|---|---------------------------------------|--------------------------------------|--|----------------------------------|
|                    | СОД, усл. ед.                           | КАТ, (ммоль/ (минхл)) $\times 10^3$   | ГПО, мкмоль/ (минхл)                 | ГР, мкмоль/ (минхл)                      | GSH, мкмоль/мл                   |
| 1 (контрольная)    | 46,52<br>(43,20/50,10)                  | 27,46<br>(26,10/29,23)                | 131,55<br>(105,21/145,12)            | 387,5<br>(350,7/405,3)                   | 2,62<br>(2,50/2,70)              |
| 2 (СД 2 типа)      | 26,11*<br>(22,72/28,30)                 | 42,83*<br>(40,47/44,53)               | 81,01*<br>(71,03/85,19)              | 572,3*<br>(505,1/627,1)                  | 2,15*<br>(2,03/2,24)             |
| 3 (БА)             | 73,00*<br>(69,65/75,36)                 | 36,60*<br>(35,06/38,77)               | 42,93*<br>(38,95/44,70)              | 1033,0*<br>(934,0/1101,0)                | 2,24*<br>(2,13/2,30)             |
| 4 (ХОБЛ)           | 46,91<br>(44,82/49,80)                  | 37,12*<br>(36,00/38,29)               | 35,67*<br>(32,44/37,91)              | 947,4*<br>(904,2/175,5)                  | 2,45<br>(2,37/2,52)              |
| 5 (АтД)            | 32,94*<br>(29,22/35,14)                 | 38,50*<br>(35,56/39,87)               | 34,78*<br>(30,22/37,90)              | 1262,6*<br>(955,2/1329,9)                | 2,40<br>(2,33/2,49)              |
| 6 (СД и БА)        | 84,15*,^,#<br>(80,34/88,19)             | 41,27*<br>(40,07/42,30)               | 21,86*,^,#<br>(19,10/23,56)          | 1817,5*,^,#<br>(1626,0/1929,2)           | 2,50^,#<br>(2,41/2,58)           |
| 7 (СД и ХОБЛ)      | 66,99*,^, $\diamond$<br>(64,27/69,73)   | 45,10*, $\diamond$<br>(43,84/46,01)   | 10,72*,^, $\diamond$<br>(6,46/12,13) | 1092,4*,^<br>(969,3/1207,4)              | 2,63^<br>(2,52/2,71)             |
| 8 (БА и ХОБЛ)      | 66,42*,#, $\diamond$<br>(63,18/70,41)   | 43,40*,#, $\diamond$<br>(42,20/44,17) | 37,82*<br>(35,05/39,66)              | 1259,2*,#, $\diamond$<br>(1076,1/1390,0) | 3,06#, $\diamond$<br>(2,72/3,17) |
| 9 (СД, БА и ХОБЛ)  | 59,94*,^,#, $\diamond$<br>(57,33/62,64) | 46,01*,#, $\diamond$<br>(44,82/46,90) | 39,61*,^<br>(36,81/42,74)            | 926,9*,^<br>(837,9/1008,8)               | 2,08*, $\diamond$<br>(2,02/2,20) |
| 10 (БА и АтД)      | 54,23*,#, $\triangle$<br>(51,90/56,20)  | 39,46*<br>(38,01/40,32)               | 42,75*<br>(40,18/44,81)              | 1576,2*,#<br>(1321,5/1677,5)             | 2,17*<br>(2,06/2,26)             |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ),  $\diamond$  – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ),  $\triangle$  – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к таблице 3.1.

При изучении активностей этих ферментов у испытуемых с сочетанными формами заболеваний были установлены более высокие по сравнению с контролем значения активности СОД и КАТ во всех группах. Наибольшая активность СОД отмечена в 6-й группе больных (СД и БА) – на 81 % ( $p < 0,05$ ), а показатели активности КАТ у больных с сочетанным течением СД, БА и ХОБЛ превысили аналогичные показатели контрольной группы на 48–65 % ( $p < 0,05$ ).

Анализ показателей тиолового метаболизма в эритроцитарной взвеси показал наименее выраженные различия активности ГР и ГПО у больных с СД 2 типа в сравнении с другими группами. Так активность ГПО была меньше контрольных значений в эритроцитах данной группы в 1,7 раза, тогда как у исследуемых лиц с БА и ХОБЛ активность этого фермента была ниже показателя контроля в 3–3,7 раза ( $p < 0,05$ ). Активность ГР у исследуемых лиц с СД превышала соответствующие контрольные значения на 41 %, а у больных БА и ХОБЛ – на 146–168 % ( $p < 0,05$ ). Наиболее низкая концентрация восстановленного глутатиона определена у больных СД 2 типа – на 17,2 % меньше значения группы 1 ( $p < 0,05$ ), что возможно связано с переходом изменений активности ферментов антирадикальной защиты от повышения компенсаторного характера к срыву компенсации с дальнейшим падением активности ГР, что проявляется неспособностью поддерживать содержанием GSH на необходимом уровне и кажущимся менее существенным изменением ферментативной активности. Рассматривая изменения в эритроцитах при сочетанных формах заболеваний следует отметить более низкие показатели активности ГПО и статистически значимое превышение активности ГР по сравнению с контрольной группой. Так в группе больных СД и ХОБЛ активность ГПО была ниже контроля в 19,4 раза ( $p < 0,05$ ), а активность ГР превысила аналогичный показатель контроля в 2,8 раза ( $p < 0,05$ ). Наибольшие значения активности ГР отмечалось в группе 6 (СД и БА) – в 4,7 раза больше контроля ( $p < 0,05$ ). В группе 9 с сочетанным течением СД 2 типа, БА и ХОБЛ наблюдались изменения ферментативной активности аналогичные и

соразмерные изменениям в группах 6, 7 и 8, однако, только в этой группе отмечалось снижение концентрации GSH на 19 % ( $p < 0,05$ ). Полученные результаты свидетельствуют о более глубоких метаболических нарушениях у данной группы больных в системе неспецифической резистентности организма. Как известно, низкомолекулярные тиолсодержащие соединения могут не только сами участвовать в нейтрализации свободных радикалов, реактивных молекул и детоксикации ксенобиотиков, но и вовлечены в регенерацию других компонентов системы неспецифической резистентности [А.А. Vasov et al., 2013].



**Рисунок 3.6** – Значения интегрального показателя функционирования ферментов антирадикальной защиты крови больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Me)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), \diamond – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), \triangle – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к рисунку 3.1.

Анализ ИПФФАРЗ крови показал наличие выраженной супероксиддисмутазной недостаточности у испытуемых групп 2 (251 ед.) и 5 (556 ед.), в группе 4 также отмечалась недостаточность СОД, но менее значительная (145 ед.) (рисунок 3.6). В группе 3 показатель говорил о сбалансированном действии ферментов первых двух линий антирадикальной защиты, что, однако не отменяет развития окислительного стресса [И.И. Павлюченко и соавт., 2004]. У больных с сочетанным течением БА и АтД выявлена недостаточность СОД – ИПФФАРЗ = 149 ед., тогда как в других группах основной части исследования отмечалось значение данного показателя в пределах баланса функционирования КАТ/СОД.

В РЖ уровни ферментативной активности в целом соответствовали показателям на системном уровне – в крови (таблица 3.7).

Активность СОД в РЖ больных СД 2 типа была ниже контрольных значений на 48 % ( $p < 0,05$ ), в то время как в других группах, аналогично АОС эритроцитов, активность СОД была выше контрольных значений. Наиболее выраженное превышение отмечалось при сочетанных формах заболеваний – в группе 8 и 9 на 79–81 % ( $p < 0,05$ ). Активность каталазы наоборот была ниже, в наибольшей степени в 9,2 раза в группе 9, с сочетанным течением у исследуемых лиц всех трех изучаемых нозологических единиц. В остальных группах активность КАТ в РЖ была меньше показателя контрольной группы в 1,6–4,7 раза ( $p < 0,05$ ). Причем более низкие показатели активности наблюдалось у больных с болезнями дыхательной системы – БА и ХОБЛ – в 2,3 и 4,7 раза соответственно, а показатели больных с сочетанными формами были ближе к указанным значениям. Так у больных СД 2 типа, коморбидным с БА или ХОБЛ активность КАТ оказалась ниже контрольных значений в 3,3 и 2,8 раза ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 3.7** – Показатели функционирования антиоксидантной системы ротовой жидкости больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Ме (p0,25/p0,75))

| Исследуемые группы | Исследуемые показатели      |                             |                             |                             |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                    | СОД,<br>усл. ед.            | КАТ,<br>ммоль/(мин×л)       | ГПО,<br>мкмоль/(мин×л)      | ГР,<br>мкмоль/(мин×л)       |
| 1 (контрольная)    | 17,58<br>(16,02/19,44)      | 67,02<br>(57,77/75,00)      | 0,153<br>(0,131/0,167)      | 15,2<br>(13,4/17,5)         |
| 2 (СД)             | 9,32*<br>(8,46/10,14)       | 41,89*<br>(38,21/44,17)     | 0,116*<br>(0,103/0,129)     | 11,7*<br>(10,1/12,9)        |
| 3 (БА)             | 22,72*<br>(20,56/23,88)     | 29,76*<br>(28,40/30,49)     | 0,044*<br>(0,035/0,054)     | 13,7<br>(12,1/15,4)         |
| 4 (ХОБЛ)           | 31,52*<br>(29,14/33,50)     | 14,28*<br>(12,47/18,24)     | 0,101*<br>(0,088/0,110)     | 100,3*<br>(88,5/107,7)      |
| 5 (АтД)            | 6,90*<br>(6,47/7,40)        | 44,78*<br>(41,53/46,60)     | 0,058*<br>(0,053/0,067)     | 24,2*<br>(22,1/27,1)        |
| 6 (СД и БА)        | 39,54*,^,#<br>(35,72/41,08) | 20,17*,^,#<br>(16,23/22,75) | 0,110*,#<br>(0,099/0,124)   | 11,8*<br>(10,2/13,4)        |
| 7 (СД и ХОБЛ)      | 20,00^,◇<br>(18,00/21,79)   | 24,19*,^,◇<br>(22,76/27,91) | 0,107*<br>(0,091/0,123)     | 53,2*,^,◇<br>(47,1/58,6)    |
| 8 (БА и ХОБЛ)      | 32,04*,#<br>(29,83/34,45)   | 45,76*,#,◇<br>(41,07/47,24) | 0,234*,#,◇<br>(0,205/0,250) | 14,3◇<br>(13,0/15,4)        |
| 9 (СД, БА и ХОБЛ)  | 32,45*,^,#<br>(29,64/35,11) | 7,35*,^,#,◇<br>(6,50/10,11) | 0,132#,◇<br>(0,124/0,144)   | 27,79*,^,#,◇<br>(24,8/29,0) |
| 10 (БА и АтД)      | 12,75*,#,△<br>(11,78/13,55) | 26,80*,△<br>(24,55/29,32)   | 0,045*<br>(0,037/0,58)      | 19,2*,#,△<br>(18,4/21,1)    |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), ◇ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), △ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к таблице 3.1.

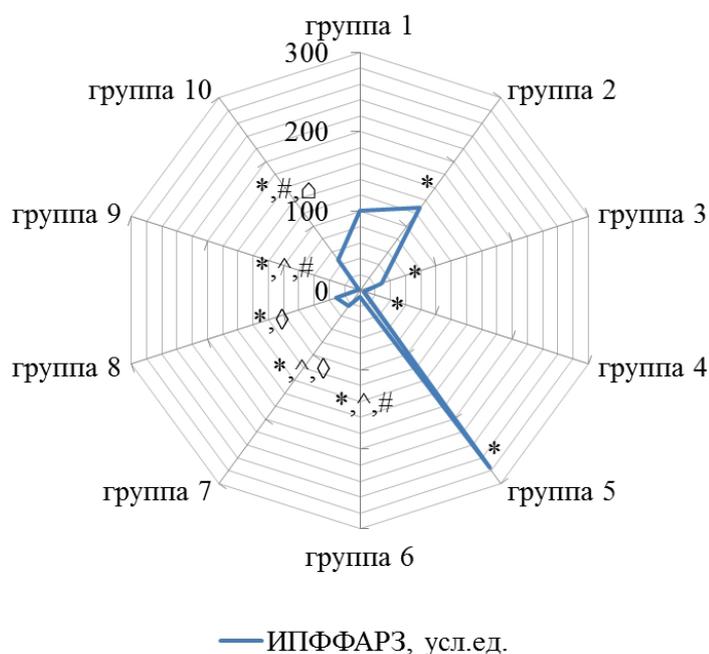
Показатели тиолового метаболизма РЖ также существенно изменялись. Активность ГПО имела тенденцию снижаться. В группах 2, 4, 6 и 7 уменьшение активности составляло 22–32 % ( $p < 0,05$ ), в 3 группе активность была меньше контроля на 70 % ( $p < 0,05$ ). В группе 8 активность ГПО наоборот превышала контрольные значения на 83 % ( $p < 0,05$ ), а в группе 9 не

отличалась от значения 1-й группы. Активность ГР была несколько меньше контроля в РЖ у больных СД 2 типа – на 23 %. У исследуемых лиц с БА не отличалась от контрольных цифр, а при ХОБЛ была выше в 6,6 раза ( $p < 0,05$ ). При сочетанных формах заболеваний изменение активности зависело от формы респираторной патологии. У больных с БА активность, как правило, либо не различалась, либо отличия были менее выражены, а у больных ХОБЛ активность ГР была повышенной по сравнению с контрольными значениями. Так у испытуемых с СД 2 типа и БА активность ГР была меньше на 22 %, а у больных с СД 2 типа и ХОБЛ больше контрольных значений в 3,5 раза ( $p < 0,05$ ). У больных БА с коморбидной ХОБЛ, без СД активность ГР не отличалась от значения того показателя в 1-й группе. При наличии всех трех изучаемых заболеваний – в группе 9, наблюдалось превышение активности ГР на 83 % по сравнению с контрольным показателем ( $p < 0,05$ ).

В РЖ по данным расчета интегрального показателя ИПФФАРЗ в большей степени страдала каталазная активность. Так недостаточность СОД определялась в группе больных АтД (276 ед.), а у больных СД 2 типа определялся нормальный баланс ферментов (рисунок 3.7). В остальных группах отмечалась недостаточность КАТ, наиболее выраженная в группе больных ХОБЛ (6 ед.), а также в группах с сочетанным течением СД и БА и полиморбидной патологией (СД, БА и ХОБЛ).

Содержание ВСиНММ в плазме крови и эритроцитах характеризовало состояние эндогенной интоксикации организмов исследуемых больных. У испытуемых лиц групп сравнения определялось высокое содержание обеих фракций, в меньшей степени в группе 3. Так плазменная фракция превышала аналогичный показатель контрольной группы на 32,0–59,9 %, а эритроцитарная – на 36,6–72,3 %, с максимальными значениями в группе больных СД 2 типа (таблица 3.8). Формирование групп с сочетанными формами заболеваний сопровождалось еще более высоким содержанием субстратов интоксикации или декомпенсации системы детоксикации, что характеризовалось меньшим

содержанием сорбированных на мембране эритроцитов эндотоксинов. В группе 6 и 8 концентрация ВСиНММ превышала контрольные значения на 61,7–70,0 % и на 76,0–79,6 % в плазме крови и эритроцитах соответственно. В группе 7 (СД и ХОБЛ) и 10 (БА и АтД) аналогичные показатели были выше показателя контроля на 72,9–85,2 % и 51,1–62,9 % соответственно в плазме крови и эритроцитарной взвеси. Высокая концентрация плазменной фракции на фоне сравнительно меньшего содержания эритроцитарной можно рассматривать как переход к декомпенсации функционального состояния детоксицирующих систем, что практически не вызывает сомнений в группе больных с коморбидным течением СД 2 типа, БА и ХОБЛ, у которых наблюдалось превышение содержания ВСиНММ в плазме крови на 76,2 %, а в эритроцитах всего на 25,8 % по сравнению со значениями контрольной группы.



**Рисунок 3.7** – Значения интегрального показателя функционирования ферментов антирадикальной защиты ротовой жидкости больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Me)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ),  $\diamond$  – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ),  $\triangle$  – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к рисунку 3.1.

**Таблица 3.8** – Показатели эндогенной интоксикации крови и ротовой жидкости больных с аллергическими заболеваниями и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа (Me (p0,25/p0,75))

| Исследуемые группы | Исследуемые показатели      |                             |                            |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|                    | ВСиНММпл, е.о.п.            | ВСиНММэр, е.о.п.            | ВСиНММрж, е.о.п.           |
| 1 (контрольная)    | 12,13<br>(11,56/13,24)      | 15,85<br>(14,16/16,64)      | 5,06<br>(4,53/5,43)        |
| 2 (СД 2 типа)      | 19,55*<br>(18,50/22,75)     | 27,46*<br>(22,58/28,34)     | 7,88*<br>(7,48/8,49)       |
| 3 (БА)             | 16,14*<br>(15,42/16,77)     | 21,77*<br>(20,07/23,44)     | 5,71<br>(5,29/6,00)        |
| 4 (ХОБЛ)           | 18,35*<br>(17,13/19,22)     | 26,94*<br>(25,42/28,13)     | 8,75*<br>(8,00/9,39)       |
| 5 (АтД)            | 18,37*<br>(17,47/19,76)     | 23,09*<br>(21,52/24,01)     | 6,65*<br>(6,20/7,29)       |
| 6 (СД+БА)          | 19,78*,#<br>(18,35/20,90)   | 28,06*,#<br>(26,88/29,20)   | 8,43*,#<br>(7,74/8,92)     |
| 7 (СД+ХОБЛ)        | 21,14*<br>(19,79/22,68)     | 24,08*,^<br>(23,11/25,10)   | 10,56*,^,◇<br>(9,80/12,00) |
| 8 (БА+ХОБЛ)        | 20,79*,#<br>(19,55/22,00)   | 28,63*,#<br>(27,40/29,70)   | 8,34*,#<br>(7,81/8,83)     |
| 9 (СД+БА+ХОБЛ)     | 21,55*,#,◇<br>(20,61/22,34) | 20,05*,^,◇<br>(19,31/20,80) | 9,86*,^,#<br>(9,00/10,65)  |
| 10 (БА+АтД)        | 22,65*,#,△<br>(21,45/23,50) | 25,97*,#<br>(24,50/28,00)   | 7,02*,#<br>(6,55/7,61)     |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 2 ( $p < 0,05$ ), # – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 3 ( $p < 0,05$ ), ◇ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 4 ( $p < 0,05$ ), △ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы 5 ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к таблице 3.1.

В РЖ также наблюдалось высокое содержание ВСиНММ, во всех исследуемых группах, кроме группы больных БА (таблица 3.8). Причем наиболее высокие концентрации наблюдались в группах, представленных больными ХОБЛ в виде монопатологии, так и при сочетании с другими заболеваниями. В группах 7 (СД и ХОБЛ) и 9 (СД, БА и ХОБЛ) наблюдались наибольшие значения содержания ВСиНММ в РЖ на 107,5 % и 93,7 % превышающие показатель контрольной группы.

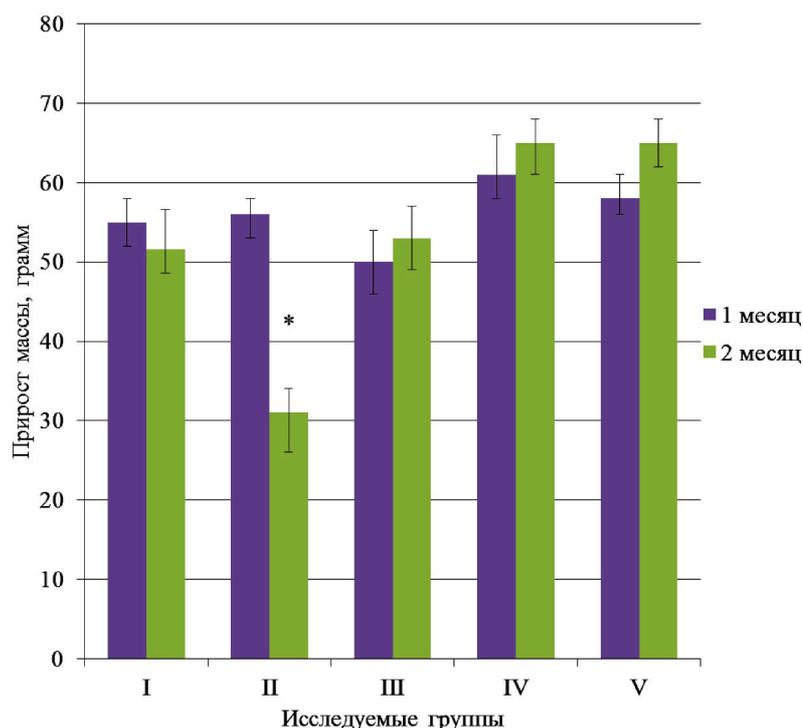
## Глава 4.

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА И СПОСОБЫ ЕЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

### 4.1. Влияние метаболических корректоров на изменение массы тела, содержание общего белка и состояние показателей иммунологической реактивности лабораторных животных при моделировании гиперчувствительности немедленного типа

В ходе проведенных исследований была осуществлена оценка изменения массы тела за 2 месяца эксперимента. В контрольной группе масса тела крыс увеличилась в среднем на 111,5 грамм (55 грамм в первый месяц и 51,5 грамм во второй месяц). В группе сравнения, при моделировании иммунизации животных овалбумином, адсорбированным на гидроксиде алюминия, суммарный прирост массы тела был значительно ниже и составил 87 грамм (56 грамм в первый месяц и 31 грамм во второй месяц). В группах III-IV масса тела животных существенно не изменялась по сравнению со значениями контрольной группы и в среднем возрастала на 103–126 грамм (50–61 грамм в первый месяц и 53–65 грамма во второй месяц). Таким образом, иммунизация лабораторных животных способствовала в группе сравнения статистически значимой задержке прироста массы тела (на 39,8 % по сравнению с контрольной группой,  $p < 0,05$ ), тогда как используемые средства метаболической коррекции нивелировали данный эффект (рисунок 4.1).

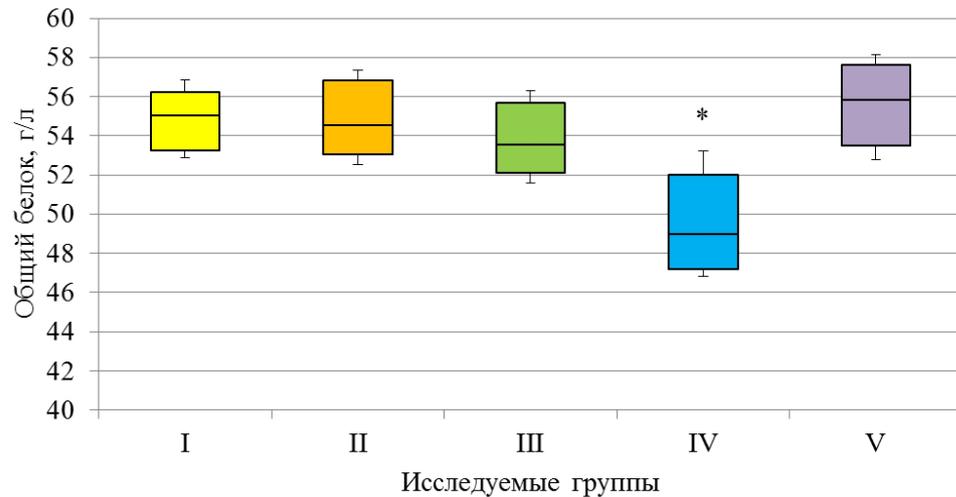
Также была проведена оценка содержания общего белка в плазме крови, в ходе которой было установлено интересное явление – снижение концентрации на 11 %, до 49 г/л в группе IV у крыс, получавших биологически активную добавку. В группах II, III и V средняя концентрация общего белка находилась в пределах 53,5–55,5 г/л и не отличалась от показателей группы I – 55 г/л (рисунок 4.2).



**Рисунок 4.1** – Влияние метаболических корректоров на изменение массы тела при моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс, иммунизированных овальбумином (Me (p0,25/p0,75))

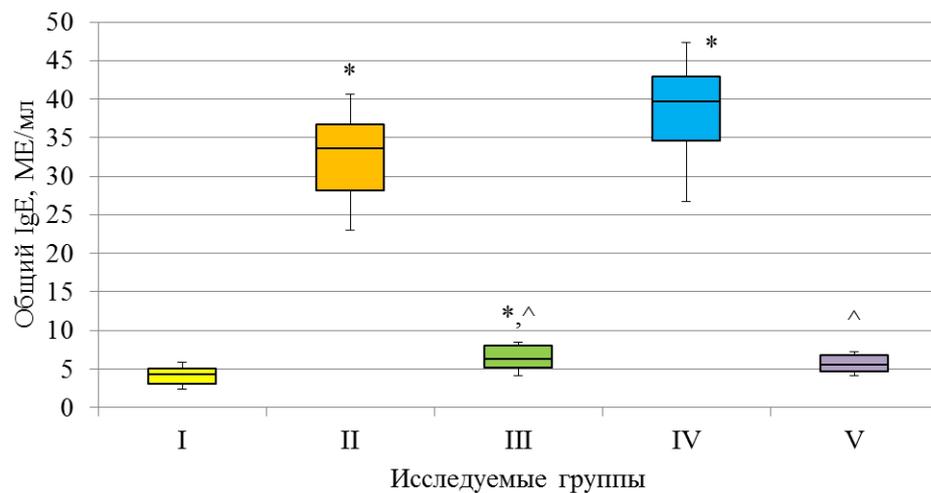
Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Группа I – контрольная группа белых крыс-самцов; группа II – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином без метаболической коррекции; группа III – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием дихлорацетата натрия; группа IV – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием биологически активной добавки (EAN: 5907529461563); группа V – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием воды со сниженным содержанием дейтерия.

В ходе проведенных лабораторных исследований по определению содержания разных классов иммуноглобулинов в плазме крови иммунизированных овальбумином крыс было установлено увеличение концентрации общего IgE в группе сравнения в 5,8 раза ( $p < 0,05$ ) – до 33,6 МЕ/мл (рисунок 4.3), что было ожидаемо, ввиду развития сенсибилизации организма белковым аллергеном. Концентрация IgM статистически значимо не изменялась, а содержание IgG и IgA снижалось до 1,58 мг/мл и 0,34 мг/мл соответственно, что можно объяснить переключением плазматических клеток на биосинтез иммуноглобулинов класса E в условиях экспериментальной гиперчувствительности.



**Рисунок 4.2** – Влияние метаболических корректоров на концентрацию общего белка в плазме крови при моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс, иммунизированных овальбумином (min-p0,25-Me-p0,75-max)

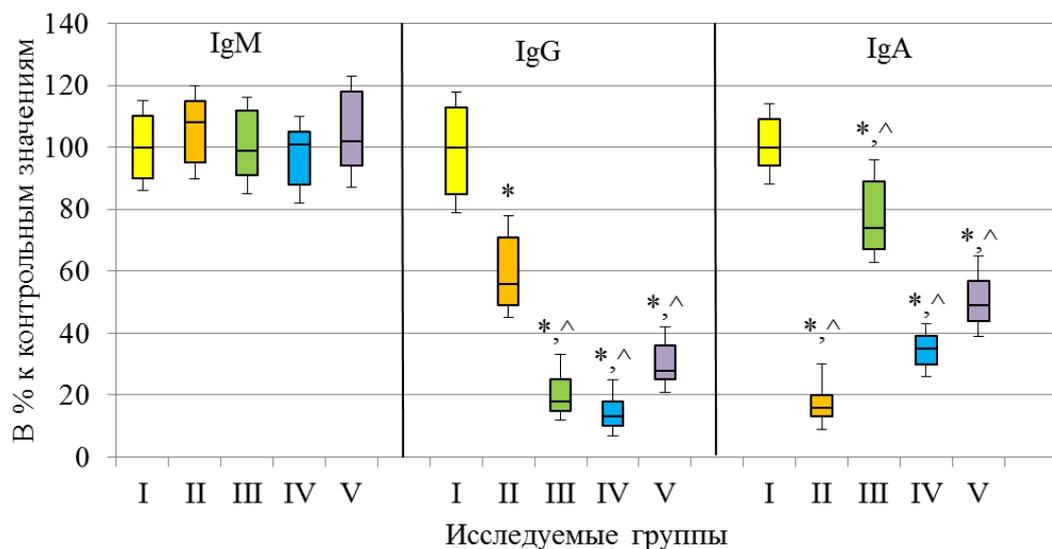
Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Группа I – ■ – контрольная группа белых крыс-самцов; группа II – ■ – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином без метаболической коррекции; группа III – ■ – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием дихлорацетата натрия; группа IV – ■ – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием биологически активной добавки (EAN: 5907529461563); группа V – ■ – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием воды со сниженным содержанием дейтерия.



**Рисунок 4.3** – Влияние метаболических корректоров на содержание общего иммуноглобулина E в плазме крови при моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс, иммунизированных овальбумином (min-p0,25-Me-p0,75-max)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы II ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к рисунку 4.2.

Введение различных веществ с целью коррекции метаболических изменений имело выраженное влияние на иммуноглобулиновый профиль крови иммунизированных животных. Так показатели групп III и V, в которых крысам вводились ДХА и вода с модифицированным изотопным составом, были практически идентичны друг другу и существенно отличались от значений показателей группы сравнения. Содержание IgE в плазме крови животных группы III было выше значений контрольной группы всего на 46 % и составило 6,26 МЕ/мл, а в группе V статистически значимо не отличалось. Содержание IgG и IgA снижалось в экспериментальных группах III и V до 0,50–0,78 мг/мл ( $p < 0,05$ ). Между тем ведение иммунизированным крысам биодобавки с антиоксидантным составом не выявило положительного влияния на продукцию иммуноглобулинов. При этом концентрация IgE была даже выше значений группы сравнения на 18,2 % и составила 39,72 МЕ/мл. Концентрации IgG и IgA аналогично другим группам снижались на 65–85 % в сравнении с группой интактных крыс ( $p < 0,05$ ) (рисунок 4.4).



**Рисунок 4.4** – Влияние метаболических корректоров на содержание иммуноглобулинов M, G и A в плазме крови при моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс, иммунизированных овальбумином (min-p0,25-Me-p0,75-max)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы II ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к рисунку 4.2.

Известно, что патогенетическую основу аллергических болезней составляют IgE-опосредуемые аллергические реакции, связанные с изменением соотношения Th2/Th1-лимфоцитов за счет преобладания Th2-цитокинового профиля и снижения активности Th1-лимфоцитов [И.С. Гущин, 1997]. Исследования содержания сывороточных провоспалительных цитокинов у животных группы II выявили значительное снижение концентрации ИФНу (в 37 раз,  $p < 0,05$ ) и ИЛ-6 (в 1,25 раза), тогда как содержание ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 находилось в пределах значений интактных животных, а уровень ИЛ-2 – был в 1,5 раза выше таковых в контрольной группе (таблица 4.1).

**Таблица 4.1** – Влияние метаболических корректоров на концентрацию некоторых цитокинов в плазме крови при моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс, иммунизированных овальбумином (Me ( $p_{0,25}/p_{0,75}$ ))

| Исследуемые группы | Исследуемые показатели                   |                                       |                                  |                                    |                                    |  |                                    |
|--------------------|--|---------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|------------------------------------|
|                    | ИФНу, пг/мл                              | ИЛ-2, пг/мл                           | ИЛ-4, пг/мл                      | ИЛ-6, пг/мл                        | ИЛ-8, пг/мл                        | ИЛ-10, пг/мл                             | ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл               |
| I                  | 41,46<br>(35,17/47,20)                   | 2,66<br>(2,24/3,05)                   | 1,38<br>(1,28/1,51)              | 3,64<br>(3,47/3,78)                | 1,11<br>(0,98/1,25)                | 6,51<br>(6,01/7,12)                      | 1,44<br>(1,33/1,52)                |
| II                 | 1,12*<br>(0,96/1,27)                     | 4,06*<br>(3,55/4,60)                  | 8,97*<br>(7,85/10,10)            | 2,92*<br>(2,70/3,09)               | 1,21<br>(1,00/1,36)                | 31,33*<br>(28,40/33,81)                  | 1,59<br>(1,49/1,72)                |
| III                | 714,03*, <sup>^</sup><br>(630,18/801,36) | 17,05*, <sup>^</sup><br>(15,50/18,29) | 1,47 <sup>^</sup><br>(1,16/1,62) | 0,41*, <sup>^</sup><br>(0,25/0,72) | 1,36<br>(1,15/1,50)                | 207,41*, <sup>^</sup><br>(190,34/230,00) | 3,86*, <sup>^</sup><br>(3,60/4,11) |
| IV                 | 1,11*<br>(1,00/1,25)                     | 1,36*, <sup>^</sup><br>(1,12/1,55)    | 1,37 <sup>^</sup><br>(1,27/1,49) | 4,47 <sup>^</sup><br>(4,04/5,00)   | 6,46*, <sup>^</sup><br>(4,88/7,01) | 5,84 <sup>^</sup><br>(5,20/6,56)         | 2,18<br>(1,77/2,35)                |
| V                  | 26,29*, <sup>^</sup><br>(23,81/29,44)    | 5,60*, <sup>^</sup><br>(5,10/6,25)    | 1,84 <sup>^</sup><br>(1,53/2,00) | 0,44*, <sup>^</sup><br>(0,30/0,75) | 1,32<br>(1,07/1,51)                | 149,89*, <sup>^</sup><br>(122,76/160,84) | 2,24*<br>(1,99/2,46)               |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), <sup>^</sup> – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы II ( $p < 0,05$ ). Группа I – контрольная группа белых крыс-самцов; группа II – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином без метаболической коррекции; группа III – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием дихлорацетата натрия; группа IV – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием биологически активной добавки (EAN: 5907529461563); группа V – животные, подвергавшиеся иммунизации овальбумином и метаболической коррекции с использованием воды со сниженным содержанием дейтерия.

Исследование противовоспалительных цитокинов у крыс II-й группы позволило установить существенное увеличение содержания ИЛ-4 (в 6,5 раза,  $p < 0,05$ ) и ИЛ-10 (в 4,8 раза,  $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Данный характер изменения цитокинового профиля крови крыс, иммунизированных белковым аллергеном, свидетельствует о дисбалансе Т-хелперов первого (Th1) и второго (Th2) порядка с преобладанием продукции Th-2-цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10), свойственного гиперчувствительности немедленного типа [K. Irifune et al., 2005].

Введение экспериментальным животным ДХА за месяц до начала иммунизации и на протяжении всего эксперимента в дозировке 15 мг/100 г массы ежедневно позволило, прежде всего, установить его способность смещать баланс Th1- и Th2-цитокинов в сторону Th1, о чем свидетельствует резкое снижение ИЛ-4 (в 6 раз) относительно такового у крыс II-й опытной группы ( $p < 0,05$ ), что в целом вывело данный показатель на уровень показателя контрольной группы (таблица 4.1). При этом существенно повысился уровень цитокинов, продуцируемых Th1, отвечающих за реализацию клеточного иммунитета. В частности, уровень содержания сывороточного ИФН $\gamma$  не только был восстановлен относительно контрольных значений, но и достоверно превышал таковые (в 17 раз,  $p < 0,05$ ), а также значительно усилилась продукция ИЛ-2 (в 6,4 раза относительно контроля и в 4 раза – относительно II-й экспериментальной группы). Отмечено также что противовоспалительный цитокин – ИЛ-10, продуцируемый Th2-лимфоцитами, был также существенно повышен относительно I-й и II-й групп, что следует рассматривать как механизм конкуренции и ограничения продукции ИФН $\gamma$  Тх-1-клетками [И.С. Гуцин 1997]. Наряду с этим наметилась тенденция к повышению содержания известного хемокина ИЛ-8 и статистически значимо увеличился провоспалительный цитокин моноцитарно-макрофагального происхождения – ИЛ1 $\beta$ , как активаторы клеток врожденного иммунитета, вторично вовлекаемых в аллергическое воспаление [И.С. Гуцин, 1997].

Сходные эффекты были отмечены у крыс, в питьевой режим которых была введена вода со сниженным содержанием дейтерия (43 ppm), которую животные получали на протяжении всего эксперимента (V-я группа). Так относительно II-й группы иммунизированных животных в условиях иммунизации овальбумином крыс, потреблявших H<sub>2</sub>O (43 ppm) было выявлено снижение сывороточной концентрации ИЛ-4 (в 4,8 раза,  $p < 0,05$ ), увеличение содержания ИФН $\gamma$  (в 23 раза,  $p < 0,05$ ), ИЛ-2 (в 1,4 раза), ИЛ-10 (в 4,8 раза,  $p < 0,05$ ) и ИЛ1 $\beta$  (в 1,4 раза).

Между тем при исследовании эффектов биологически активной добавки с комплексным антиоксидантным составом (EAN: 5907529461563) был выявлен несколько иной характер изменения сывороточных цитокинов. Установлены нижеследующие изменения цитокинового профиля крыс: под влиянием БАД наблюдалось снижение содержания ИЛ-4 (в 6,55 раза,  $p < 0,05$ ), провоспалительного ИЛ-2 – в 3 раза и противовоспалительного ИЛ-10 (в 5,4 раза,  $p < 0,05$ ). Содержание провоспалительного ИЛ-6 – в 1,5 раза, а ИЛ-8 – более чем в 5 раз превысило данный показатель у сенсibilизированных крыс группы сравнения ( $p < 0,05$ ). В отличии от ДХА и H<sub>2</sub>O (43 ppm) не выявлено влияния биодобавки на содержание ИФН $\gamma$  и ИЛ1 $\beta$ , уровень которых был таким же низким, как и у иммунизированных овальбумином крыс II-й опытной группы.

Следует отметить также, что достоверное снижение продукции ИЛ-4 сочеталось с соответствующей нормализацией синтеза патогенетически значимого IgE только при использовании ДХА и H<sub>2</sub>O (43 ppm), тогда как при оценке эффектов БАД сохранялся достаточно высокий уровень его продукции.

Учитывая выявленный не всегда однозначный характер влияния исследуемых веществ на молекулярные механизмы аллергического воспаления немедленного типа, интерес представляет оценка их влияния на антиоксидантный статус эритроцитов экспериментальных животных.

## 4.2. Состояние прооксидантно-антиоксидантной системы и уровень эндогенной интоксикации у лабораторных животных

Изучение антиоксидантного статуса эритроцитов крыс показало отсутствие статистически значимых изменений активности ферментов антирадикальной защиты и содержания восстановленного глутатиона при иммунизации овальбумином (таблица 4.2).

**Таблица 4.2** – Влияние метаболических корректоров на показатели функционирования антиоксидантной системы эритроцитов при моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс, иммунизированных овальбумином (Me (p0,25/p0,75))

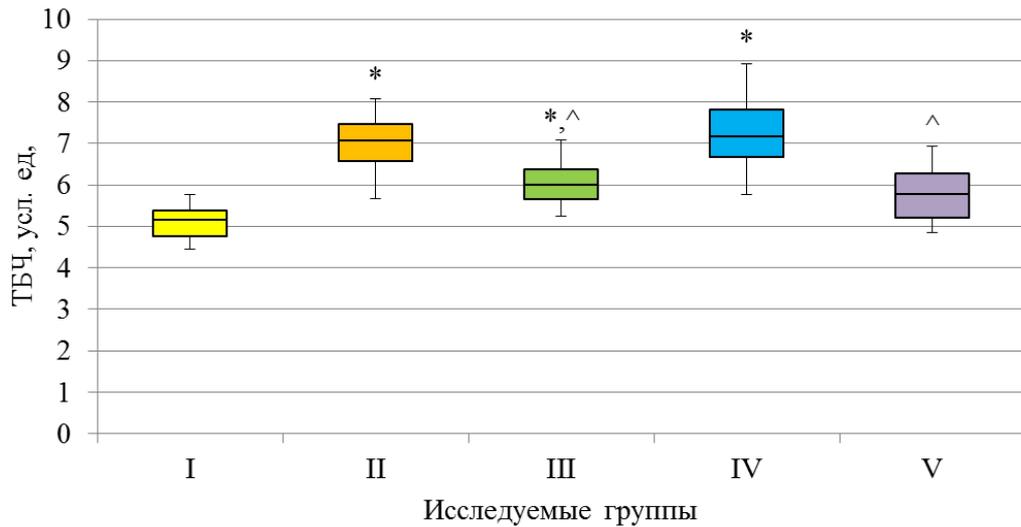
| Исследуемые группы | Показатель             |   |                            |                             |                     |
|--------------------|------------------------|---|----------------------------|-----------------------------|---------------------|
|                    | СОД,<br>усл. ед.       | КАТ,<br>(ммоль/<br>(минжл)) $\times 10^3$ | ГПО,<br>мкмоль/<br>(минжл) | ГР,<br>мкмоль/<br>(минжл)   | GSH,<br>мкмоль/мл   |
| I                  | 80,5<br>(77,65/83,12)  | 32,33<br>(31,05/33,46)                    | 60,06<br>(53,50/64,19)     | 743,9<br>(712,0/778,4)      | 2,74<br>(2,59/2,84) |
| II                 | 79,79<br>(76,41/83,10) | 35,83<br>(34,40/36,45)                    | 58,52<br>(52,37/64,00)     | 804,3<br>(756,1/830,8)      | 2,68<br>(2,53/2,80) |
| III                | 79,72<br>(75,80/81,73) | 33,66<br>(31,75/34,82)                    | 65,51<br>(58,26/68,72)     | 809,4<br>(768,3/856,0)      | 2,81<br>(2,61/2,90) |
| IV                 | 76,69<br>(74,50/80,11) | 38,56*<br>(37,15/40,12)                   | 68,33^<br>(64,02/75,48)    | 1162,3*,^<br>(995,5/1301,0) | 2,89<br>(2,66/2,95) |
| V                  | 78,35<br>(75,20/82,33) | 30,55^<br>(29,27/31,49)                   | 73,23*,^<br>(68,33/77,91)  | 558,4*,^<br>(510,4/613,7)   | 2,43<br>(2,35/2,54) |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы II ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к таблице 4.1.

Также не отмечено изменений в III-й группе подопытных животных, получавших дихлорацетат натрия с целью коррекции развития аллергической реакции. У крыс IV-й группы, получавших биодобавку с антиоксидантным

составом, наблюдались статистически значимое увеличение активности ферментативного звена антиоксидантной системы, так активность каталазы возросла на 19,3 % в сравнении с контрольной группой крыс, глутатионпероксидазы – на 16,8 % в сравнении с группой II, глутатионредуктазы – на 56 % и 44,5 % в сравнении с группами I и II соответственно. У животных V-й группы наблюдалось увеличение активности ГПО на 21–25 % в сравнении с группами I и II, но активности КАТ и ГР несколько снижались. Так активность КАТ была ниже значений группы сравнения на 15 %, а активность ГР была ниже значений контрольной группы и группы сравнения на 24,9 % ( $p < 0,05$ ) и 30,6 % ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Концентрация восстановленного глутатиона в эритроцитах крыс во всех исследуемых группах не изменялась. Учитывая показатели группы сравнения, можно говорить об отсутствии очевидного влияния иммунизации животных на АОС. Анализ экспериментальных данных групп III–V позволяет констатировать, что введение ДХА крысам на фоне иммунизации также не оказало существенного влияния на функциональное состояние ферментного и неферментного звеньев системы антиоксидантной защиты. Это было вполне ожидаемо, поскольку прямого воздействия дихлорацетат натрия на антиоксидантную систему не оказывает, однако влияет на углеводный и липидный обмен путем активации пируватдегидрогеназного комплекса. При этом имеет место увеличение образования восстановленных коферментов, что может увеличивать антиоксидантный потенциал [А.М. Мануйлов и соавт., 2016]. Кроме того, не исключено наличие неизвестных на сегодняшний день механизмов действия ДХА. Вода с модифицированным изотопным составом, как известно, может оказывать неспецифическое стрессовое воздействие на разные звенья системы гуморального гомеостаза, что часто приводит к увеличению резервных возможностей организма [М.Г. Барышев и соавт., 2011; S.S. Dzhimak et al., 2015; А.А. Басов и соавт., 2016]. Биологически активная добавка ожидаемо увеличивала антиоксидантный потенциал крови крыс.



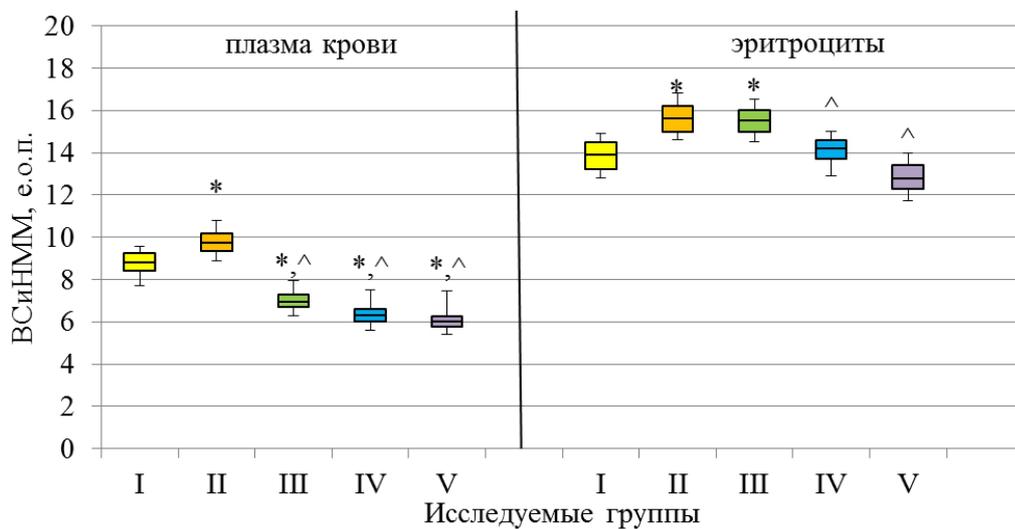
**Рисунок 4.5** – Влияние метаболических корректоров на содержание продуктов окислительной модификации биомолекул в эритроцитах при моделировании гиперчувствительности немедленного типа у крыс, иммунизированных овальбумином (min-p0,25-Me-p0,75-max)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ), ^ – статистически значимые различия при сравнении с показателями группы II ( $p < 0,05$ ). Обозначения групп смотреть в примечании к рисунку 4.2.

Для оценки интенсивности окислительных процессов проводили определение концентрации продуктов окислительных модификаций биологических молекул – липидов и белков, которые активно взаимодействуют с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивные продукты). В результате проведенных исследований было показано, что наблюдается увеличение ТБЧ в эритроцитах при иммунизации лабораторных животных. Так в группе сравнения отмечалось увеличение ТБЧ на 31,7 % ( $p < 0,05$ ), в группе IV наблюдалось увеличение на 34 %, что значимо не отличалось от группы II. В группах III и V были определены ТБЧ существенно ниже группы сравнения – в III-й группе – на 14,9 % и в группе V – на 18,1 % (рисунок 4.5).

Исследование уровня эндогенной интоксикации проводилось на основании определения содержания ВСиНММ в плазме крови и эритроцитах (рисунок 4.6). Было зафиксировано, что в группе сравнения имеет место развитие второй фазы интоксикации, характеризующейся увеличением

содержания ВСиНММ в плазме крови на 10,2 % и в эритроцитарной взвеси на 12,3 %. Исследуемые показатели у крыс III–V групп характеризовались сниженными концентрациями молекул средней и низкой масс в плазме крови, даже по сравнению с контрольной группой: в III-й группе – на 21,2 %, в IV-й группе – на 28,8 % и в группе V – на 31,6 %. Содержание ВСиНММ эритроцитов в группе III увеличивалось на 11,7 % по сравнению с контрольной группой животных, как и в группе сравнения. У крыс IV-й подопытной группы концентрация молекул средней и низкой массы соответствовала значению контрольной группы, а в V-й группе была даже несколько ниже – на 8,1 % по сравнению с группой I.



**Рисунок 4.6** – Показатели уровня эндогенной интоксикации иммунизированных овальбумином крыс (min-p0,25-Me-p0,75-max)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  в сравнении с показателями контрольной группы, ^ –  $p < 0,05$  в сравнении с показателями группы сравнения. Обозначения групп смотреть в примечании к рисунку 4.2.

## Глава 5.

### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

#### 5.1. Характеристика метаболических нарушений при сочетанном течении аллергических заболеваний, хронической обструктивной болезни легких и сахарного диабета 2 типа

Анализ полученных результатов показал, что повышенный уровень свободнорадикального окисления в плазме крови и эритроцитах характерен для всех изученных групп больных, но особенно для сочетанных форм заболеваний. Наиболее высокая интенсивность окислительного метаболизма регистрировалась в группе больных СД 2 типа и ХОБЛ, а в группах с коморбидными фенотипами заболеваний, прежде всего, зависела от наличия этих двух нозологических форм. Это вероятнее всего связано с выраженностью метаболических нарушений при сахарном диабете 2 типа, обусловленных развитием инсулинорезистентности, при которой страдают все виды обмена веществ, но в первую очередь углеводный и энергетический. ХОБЛ в свою очередь характеризуется значительными длительными нарушениями функций внешнего дыхания с развитием гипоксии, вследствие чего, патобиохимические изменения энергетического обмена также выступают на первый план у таких больных. Так содержание ТБК-реактивных продуктов превышало контрольные значения в группах 2 и 4 в 1,7–2,1 раза ( $p < 0,05$ ), в группах 3 и 5 – всего лишь в 1,2–1,4 раза, а в группах 6–9 – в 1,8–2,5 раза ( $p < 0,05$ ). У больных 10-й группы (БА и АтД) отмечено несколько менее значительное превышение контрольных цифр в 1,6 раза. Поскольку в последней группе нет ни больных СД 2 типа, ни больных ХОБЛ, подобные изменения вполне ожидаемы, но и здесь стоит отметить, что значение концентрации ТБК-реактивных продуктов у больных этой группы все же выше значений в обеих группах сравнения с

монопатологиями, то есть у больных с изолированным течением БА или АтД. Уровень МВХЛ в тех же группах больных соответствовал содержанию продуктов окислительных модификаций молекул, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой. Для ПХЛ также был характерен повышенный уровень по сравнению с контрольными значениями, однако у больных группы 2 (СД 2 типа) этот показатель был ниже других групп, в том числе групп сравнения. Такой эффект возможно связан с наличием очага повреждения при заболеваниях респираторной системы и атопическом дерматите, который постоянно поддерживает интенсивность окислительных процессов и с большей готовностью метаболических систем организма при СД 2 типа тушить свободнорадикальные реакции.

Проведенные исследования общей антиоксидантной активности с помощью амперометрического метода показали низкие значения этого показателя во всех группах, что на фоне интенсификации окислительного метаболизма характерно для развития оксидативного стресса. Здесь также наиболее низкая АОА выявлена в группах больных СД 2 типа, ХОБЛ и при всех исследованных фенотипах сочетанных форм заболеваний в группах 6–10. Для ферментативной активности в эритроцитах было характерно превышение активности каталазы и супероксиддисмутазы во всех исследуемых группах больных по сравнению с аналогичными параметрами контрольной группы, исключение составил показатель СОД у больных СД 2 типа. Баланс функционирования ферментов первых двух линий антиоксидантной защиты хорошо прослеживается при расчете ИПФФАРЗ, включающего также параметры хемилюминесценции. Изучение данного интегрального коэффициента показало наличие выраженной недостаточности СОД в группах больных СД 2 типа и АтД и несколько менее выраженной недостаточности этого же фермента в группах больных ХОБЛ и коморбидным фенотипом БА и АтД. Также была изучена активность ферментов обмена глутатиона и концентрация самого глутатиона в эритроцитах. Активность ГПО была значительно ниже контрольных значений, причем наиболее низкие цифры

зафиксированны в группах с аллергопатологиями и ХОБЛ, а также в группах с сочетанными формами заболеваний по сравнению с больными СД 2 типа. Активность ГР наоборот превышала контрольные значения. Такой характер состояния ферментов метаболизма глутатиона говорит о несостоятельности ГПО адекватно нейтрализовывать образующиеся в избытке пероксиды и гидропероксиды. При этом усиление деятельности ГР направлено на попытки обеспечить достаточную регенерацию восстановленной формы глутатиона [И.Ю. Цымбалюк и соавт., 2016], концентрация которого в эритроцитах все же была ниже контрольных значений этого показателя в группах больных СД 2 типа, БА и с коморбидным течением БА с АтД (группа 10) и СД, БА и ХОБЛ (группа 9) одновременно.

Уровень эндогенной интоксикации, также отражающий тяжесть патологического процесса, оценивался по содержанию в плазме и эритроцитах метаболитов со средней и низкой молекулярными массами, содержание которых возрастает при повреждении тканей за счет вымывания из них внутриклеточных метаболитов, распада белков с образованием пептидов, зачастую обладающих биологической провоспалительной активностью и других веществ. Высокое содержание ВСиНММ в плазме крови на 30–60 % и в эритроцитах на 40–70 % выше показателей контрольной группы ( $p < 0,05$ ) в группах сравнения демонстрирует развитие фазы накопления продуктов деструкции биомолекул из очага агрессии в крови у больных с монопатологиями, причем сорбционная способность биомембран эритроцитов постепенно снижается. В группах с коморбидными заболеваниями наблюдались схожий характер распределения эндотоксинов, но, как правило, характеризующийся несколько более высоким содержанием ВСиНММ и в плазме и в эритроцитах. Интересно, что эти группы представлены больными с сочетанным течением БА и других исследованных нозологических форм. Показатели при БА были, кроме того, наиболее низкими в группе 3. Группы 7 и 9, представленные больными с обязательным наличием СД 2 типа и ХОБЛ, характеризовались еще более высоким значением концентрации плазменной

фракции эндотоксинов, но меньшим содержанием эритроцитарной фракции, чем в соответствующих группах сравнения, а в группе с полиморбидным фенотипом заболевания даже ниже плазменной фракции. Такой характер показателей говорит о переходе эндогенной интоксикации к фазе срыва компенсаторных возможностей с развитием необратимых нарушений функционирования поврежденных органов и тканей.

В целом, аналогично показателям на системном уровне, нарушения окислительного метаболизма в РЖ были более выражены при сочетанных формах заболеваний, а значения конкретных биохимических показателей ближе к аналогичным параметрам при заболеваниях дыхательной системы. Также прослеживалась зависимость характера и выраженности значений исследуемых показателей от формы заболевания – БА или ХОБЛ. Более выраженные нарушения в РЖ отмечались, как правило, при сочетании СД 2 типа с ХОБЛ. Возможно, это связано с высокой зависимостью развития хронической обструктивной болезни легких с длительным курением, что является дополнительным повреждающим фактором в ротовой полости, тем более что в крови не наблюдалось таких очевидных закономерностей метаболических изменений.

Так по данным МВХЛ и ПХЛ наиболее высокий уровень активности свободнорадикального окисления наблюдалась в группах больных СД 2 типа и больных ХОБЛ, эти показатели были еще выше при сочетанных формах заболеваний и, особенно в группе 9, в которой у больных имело место сочетание трех заболеваний: СД 2 типа, ХОБЛ и БА. ТБЧ в РЖ было наибольшим в группе 2, а в группах исследуемых больных 6–10 этот показатель не превышал значения у больных СД 2 типа, что указывает на большую зависимость накопления продуктов окислительных модификаций от сахарного диабета 2 типа. Это возможно связано с наличием хронической гипергликемии и соответственно длительными нарушениями метаболизма, тогда как при остальных нозологических формах выраженность нарушений обмена веществ находится в зависимости от обострения заболевания.

Общая АОА РЖ была ниже контрольных значений у больных всех исследуемых групп, хоть и менее значительно, чем в плазме крови. И здесь опять же прослеживались те же тенденции – наиболее низкие показатели АОА в группах 2,4 и 6–10. Значения ферментативной активности РЖ не всегда соответствовали аналогичным показателям в крови, что говорит о некоторой обособленности метаболических систем ротовой полости, при которой общая направленность биохимических нарушений соответствует системным изменениям, но механизм их развития может несколько отличаться. Так примерно в половине случаев отмечались высокие показатели активности СОД по сравнению с контрольной группой, что чаще всего было связано с заболеваниями респираторного тракта – БА и ХОБЛ. Активность КАТ во всех группах наоборот была низкой, достигая минимальных значений в группе 9 у больных с сочетанным течением ХОБЛ, БА и СД 2 типа. Анализ ИПФФАРЗ показал во всех группах, кроме больных АтД, явную каталазную недостаточность, что абсолютно не соответствовало изменениям ферментного звена эритроцитов. Интересно заметить, что отсутствие дисбаланса функционирования ферментов первых двух линий антирадикальной защиты наблюдалось еще во 2-й группе. Таким образом, получается, что недостаточность КАТ находилась в первоочередной взаимосвязи с респираторной патологией. Это можно объяснить прямым контактом, как бронхоальвеолярного дерева, так и ротовой полости с воздухом, который оказывает повреждающее действие за счет своего обычного компонента – кислорода, так и за счет табачного дыма при курении.

Показатели активности ГПО и ГР в РЖ по большей части совпадали с аналогичными данными в крови. ГПО была преимущественно ниже контроля, причем наиболее значимо при аллергических заболеваниях – БА, АтД и их сочетании. Активность ГР в большинстве случаев была выше контрольных значений (группы 4, 5, 7, 9 и 10). У больных СД 2 типа и коморбинным фенотипом заболевания СД 2 типа с БА активность этого фермента была ниже показателей группы контроля. Наибольшее значение

активности ГР было в группах с ХОБЛ, в то время как изученные аллергические заболевания оказывали меньшее воздействие, а у больных СД 2 отмечены низкие значения активности ГР, что могло быть обусловлено длительным существованием нарушений метаболизма при хронической гипергликемии с развитием уже явлений декомпенсации системы неспецифической защиты ротовой полости и организма.

Таким образом, у больных СД 2 типа, БА или ХОБЛ были установлены существенные нарушения функционирования АОС эритроцитов и РЖ, с более выраженными сдвигами ферментного звена у больных с респираторной патологией, и неферментного, оцениваемого концентрацией восстановленного глутатиона при СД. Показатели у больных с сочетанным течением СД 2 типа, БА и ХОБЛ ближе к показателям при патологиях респираторной системы по направлению изменений и абсолютным значениям показателей, однако установленные нарушения были более выражены.

Также результаты исследований показали возможность определения нарушений окислительного метаболизма у больных с изучаемыми соматическими патологиями в РЖ, что может быть перспективным, особенно у детей и в геронтологической практике в связи со сложностями забора крови.

## **5.2. Возможности метаболической коррекции реакции гиперчувствительности немедленного типа в эксперименте**

Исследование содержания иммуноглобулинов основных классов, а также про- и противовоспалительных цитокинов периферической крови крыс в модели гиперчувствительности немедленного типа позволило выявить иммуномодулирующие эффекты ДХА и  $\text{H}_2\text{O}$  43 ppm D, которые отменяли дисбаланс ИЛ4/ИФН $\gamma$  с нормализацией продукции IgE. Это имеет большое значение с точки зрения возможности коррекции иммунологических нарушений при атопиях путем направленного смещения баланса Th1/Th2 с помощью иммуномодуляторов патогенетического действия.

В целом можно отметить положительное влияние используемых средств для метаболической коррекции биохимических нарушений при реакции гиперчувствительности немедленного типа. Например, выравнивался прирост массы тела, который в III-й группе хоть и был ниже значений IV-V групп, но оказался выше значений группы сравнения и достоверно не отличался от контрольной группы. Неожиданным было установление эффекта снижения концентрации общего белка в плазме группы IV, однако, обращаясь к показателям продукции иммуноглобулинов можно отметить, что в этой группе наблюдалось наиболее выраженное снижение концентрации IgG, который составляет основу всех белков этого семейства в плазме крови. Поэтому наблюдаемое явление вызвано, вероятнее всего, гипогаммаглобулинемией.

Уровень ТБК-реактивных продуктов в группах II и IV был существенно выше контрольных значений, что говорит об интенсификации свободнорадикальных процессов. Использование ДХА или воды со сниженным содержанием дейтерия способствовало существенному снижению концентрации ТБК-реактивных продуктов по сравнению с группой II. При этом в функционировании ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы практически не регистрировались изменения. Использование биологически активной добавки способствовало увеличению активности КАТ, ГПО и ГР, вероятно за счет пополнения пула прямых антиоксидантов. Введение в питьевой режим крыс воды с модифицированным изотопным составом наоборот способствовало небольшому снижению активности КАТ и ГР при увеличении активности ГПО. Однако вряд ли это связано с развитием окислительного стресса, вероятно, имеет место небольшая «расслабленность» данных защитных механизмов, развивающаяся в результате ненужности ее повышенной функциональной активности [S.S. Dzhimak et al., 2014; A.B. Lisicin et al., 2014]. А возможно снижение их активности связано с напряженным их функционированием, вследствие чего мы наблюдали нормальный уровень

окислительных процессов и в целом адекватное поддержание гомеостаза в данной группе.

Интересным образом изменялось содержание ВСиНММ в плазме крови и эритроцитах лабораторных животных. В ходе проведенных исследований было показано, что при моделировании гиперчувствительности немедленного типа развивался эндотоксикоз, соответствующий первой-второй фазам по М.Я. Малаховой. Введение исследуемых средств метаболической коррекции способствовало снижению уровня ВСиНММ в плазме крови даже ниже значений контрольной группы, а в эритроцитах – до контрольных значений.

### **5.3. Оценка корреляционных взаимосвязей между биохимическими и иммунологическими показателями крови и ротовой жидкости больных при сочетанном течении аллергических заболеваний, хронической обструктивной болезни легких и сахарного диабета 2 типа**

Все коэффициенты корреляции, рассчитанные для анализируемых биохимических и иммунологических показателей крови больных с сочетанным течением СД 2 типа и БА свидетельствуют о наличии между ними прямой зависимости. Однако сила взаимосвязи различных показателей варьировала в больших пределах. Так значения коэффициентов корреляции между содержанием IgE и ИЛ-8 ( $R = 0,84$ ,  $p < 0,01$ ) и IgE и ИЛ-2 ( $R = 0,71$ ,  $p < 0,01$ ), а также ИЛ-4 и ИЛ-10 ( $R = 0,73$ ,  $p < 0,01$ ) свидетельствуют о высокой силе корреляционной взаимосвязи данных иммунологических показателей. Взаимосвязь средней силы выявлена между содержанием в крови больных с коморбидным фенотипом (СД 2 типа и БА) IgG и IgA ( $R = 0,54$ ,  $p < 0,05$ ), ИЛ-8 и ИЛ-6 ( $R = 0,57$ ,  $p < 0,05$ ). Средняя теснота взаимосвязи у этих же больных имеет место при анализе показателей содержания ТБК-реактивных продуктов и активностью ГР ( $R = 0,62$ ,  $p < 0,05$ ). Коррелятивная зависимость между

биохимическими и иммунологическими показателями РЖ характеризуется наличием высокой тесной связи активности КАТ и интегральным показателем функционирования ферментов антирадикальной защиты ( $R = 0,82$ ,  $p < 0,01$ ). Коэффициенты корреляции между показателями IgE и ИЛ-8 ( $R = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ) и содержанием в РЖ ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-2 указывают на наличие взаимозависимости средней силы. Корреляционный анализ, проведенный между аналогичными показателями крови и РЖ, позволил установить наличие высокой тесноты взаимосвязи между содержанием IgE ( $R = 0,81$ ,  $p < 0,01$ ) и активности СОД ( $R = 0,73$ ,  $p < 0,01$ ) в этих биологических жидкостях, положительной корреляционной зависимости средней силы между показателями ТБЧ, ИЛ-6, ИЛ-10 и отрицательной взаимосвязи содержания ИЛ-2 ( $R = -0,59$ ,  $p < 0,05$ ), каталазы ( $R = -0,54$ ,  $p < 0,05$ ). Более слабая взаимосвязь имела место по показателям ИФН- $\gamma$  ( $R = 0,47$ ,  $p < 0,05$ ), ГПО ( $R = 0,49$ ,  $p < 0,05$ ), ИЛ-8 ( $R = 0,45$ ,  $p < 0,05$ ) и ИЛ-4 ( $R = 0,43$ ,  $p < 0,05$ ). Высокая сила взаимосвязи содержания СОД и IgE в исследованных биожидкостях позволяет считать целесообразным проведение саливодиagnostических исследований по данным показателям у больных с сочетанными СД 2 типа и БА.

Анализ корреляционных взаимосвязей исследуемых показателей крови больных СД 2 типа в сочетании с ХОБЛ позволил отметить, что между содержанием IgE и ИЛ-8 имеется прямая взаимосвязь средней силы ( $R = 0,66$ ,  $p < 0,01$ ). Такая же корреляционная взаимозависимость характерна для уровней IgG и ИЛ-8 ( $R = 0,69$ ,  $p < 0,05$ ), а также для IgA и ИЛ-8 ( $R = 0,54$ ,  $p < 0,05$ ). Коэффициенты корреляции между содержанием в РЖ ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-2 ( $R = 0,61$ ,  $p < 0,01$ ), ИЛ-8 и ИЛ-4 ( $R = 0,57$ ,  $p < 0,01$ ) и показателями АОА и КАТ ( $R = 0,63$ ,  $p < 0,01$ ) позволяют зафиксировать наличие взаимосвязи средней силы между названными показателями. Что касается корреляционной взаимозависимости одноименных показателей крови и РЖ, то только в случае ИЛ-8 имелась прямая связь уровней этого цитокина в РЖ и крови ( $R = 0,62$ ,  $p < 0,01$ ). Отрицательная

корреляционная зависимость слабой и очень слабой силы выявлена по показателям содержания в крови и РЖ ИЛ-2, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10 и ИЛ-6.

Корреляционные взаимосвязи изученных биохимических и иммунологических показателей у больных с коморбидным течением БА и ХОБЛ свидетельствуют о наличии высокой взаимозависимости содержания IgE и ИЛ-8 ( $R = 0,89$ ,  $p < 0,01$ ) в крови и еще более выраженной связи этих иммунологических биомаркеров в РЖ ( $R = 0,91$ ,  $p < 0,01$ ). При этом значение коэффициентов корреляции по содержанию IgE в обеих биологических жидкостях составил всего 0,39 ( $p < 0,05$ ), что позволяет интерпретировать эту взаимосвязь как слабую. Коррелятивная зависимость между содержанием ИЛ-8 в крови и РЖ существенно теснее и соответствует средней силе взаимосвязи этого показателя в исследуемых биожидкостях. Средней силы взаимосвязь содержания ТБК-реактивных продуктов и активности КАТ выявлена в крови больных с сочетанным течением БА и ХОБЛ, а в их РЖ корреляционные связи средней тесноты отмечены для содержания ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$  ( $R = 0,61$ ,  $p < 0,01$ ), ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-2 ( $R = 0,54$ ,  $p < 0,05$ ), а также между показателем общей АОА и активностью каталазы ( $R = 0,59$ ,  $p < 0,05$ ). У больных данной группы коэффициенты корреляции между одноименными показателями крови и РЖ свидетельствуют о наличии прямой связи средней силы по концентрациям ИЛ-2, ИЛ-4, активности СОД. Высокая сила взаимосвязи выявлена по содержанию в исследованных биосубстратах ИЛ-8, а по активности в них ГПО установлено статистически значимое наличие отрицательной корреляции средней силы ( $R = -0,54$ ,  $p < 0,01$ ).

При сочетанном течении БА и АтД по данным корреляционного анализа по Спирмену выявлена прямая взаимосвязь между исследованными показателями иммунного статуса и прооксидантно-антиоксидантной системы. Так между содержанием IgE и ИЛ-1 $\beta$  в крови больных с коморбидным фенотипом БА и АтД имелась тесная корреляционная взаимосвязь ( $R = 0,78$ ,  $p < 0,01$ ). Несколько меньшими значениями

коэффициента корреляции характеризуется взаимозависимость содержания IgM и ИФН- $\gamma$  ( $R = 0,61$ ,  $p < 0,01$ ), а также ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 ( $R = 0,59$ ,  $p < 0,01$ ). Корреляционная взаимосвязь умеренной силы выявлена между показателями ИЛ-6 и ИЛ-4 ( $R = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ), СОД и КАТ ( $R = 0,37$ ,  $p < 0,05$ ), КАТ и ГР ( $R = 0,39$ ,  $p < 0,05$ ). В РЖ больных с коморбидным течением БА и АтД имелась высокая теснота взаимосвязи показателей содержания IgE и ИЛ-8 ( $R = 0,86$ ,  $p < 0,01$ ), IgE и ИЛ-6 ( $R = 0,70$ ,  $p < 0,01$ ), а также ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$  ( $R = 0,73$ ,  $p < 0,01$ ). Менее сильная, но статистически значимая взаимосвязь отмечена между содержанием в РЖ ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-2 ( $R = 0,54$ ,  $p < 0,05$ ), АОА и СОД ( $R = 0,47$ ,  $p < 0,05$ ), а также между АОА и КАТ ( $R = 0,53$ ,  $p < 0,05$ ). Показатели корреляции содержания в крови и РЖ ИЛ-6 свидетельствуют о тесной их взаимосвязи ( $R = 0,71$ ,  $p < 0,01$ ). Также определены статистически значимые взаимозависимости содержания в крови и РЖ ИЛ-4 ( $R = 0,67$ ,  $p < 0,01$ ), IgE ( $R = 0,53$ ,  $p < 0,01$ ) и ГПО ( $R = 0,56$ ,  $p < 0,01$ ).

У больных с коморбидным фенотипом ХОБЛ+СД 2 типа+БА выявлены статистически значимые корреляционные взаимосвязи разной силы между исследованными биохимическими и иммунологическими показателями крови, РЖ и между одноименными показателями крови и РЖ (таблица 5.1).

Полученные расчетные данные свидетельствуют, что у больных этой группы основные особенности лабораторной картины как крови, так и РЖ определяются прежде всего изменениями иммунологического статуса и в меньшей мере показателями баланса прооксидантно-антиоксидантной системы. Соотношение абсолютных значений исследованных биохимических и иммунологических показателей крови и РЖ у больных с исследованными фенотипами коморбидных заболеваний, их сопоставление с аналогичными данными лиц контрольной группы и больных групп сравнения (с изолированным течением СД 2 типа, БА, ХОБЛ и АтД), а также анализ коррелятивных взаимосвязей в группах с сочетанным течением этих нозологических форм позволяют выделить конstellации маркеров

**Таблица 5.1** – Корреляции между показателями крови и ротовой жидкости у больных при сочетанном течении сахарного диабета 2 типа, бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких

| Показатели          | R    | p      | Показатели                   | R    | p      | Показатели               | R    | p      |
|---------------------|------|--------|------------------------------|------|--------|--------------------------|------|--------|
| Кровь               |      |        | Ротовая жидкость             |      |        | Кровь – ротовая жидкость |      |        |
| IgE – IgA           | 0,64 | < 0,01 | IgE – ИЛ-8                   | 0,69 | < 0,01 | IgE                      | 0,43 | < 0,05 |
| IgE – IgG           | 0,75 | < 0,01 | ИЛ-1 $\beta$ – ИЛ-2          | 0,67 | < 0,01 | ИЛ-8                     | 0,68 | < 0,01 |
| IgE – IgM           | 0,58 | < 0,01 | ИЛ-1 $\beta$ – ИЛ-6          | 0,71 | < 0,01 | ИЛ-4                     | 0,41 | < 0,05 |
| IgM – ИЛ-1 $\beta$  | 0,62 | < 0,01 | ИЛ-1 $\beta$ – ИФН- $\gamma$ | 0,62 | < 0,01 | ИЛ-10                    | 0,63 | < 0,01 |
| ИЛ-1 $\beta$ – ИЛ-2 | 0,65 | < 0,01 | ИЛ-2 – ИФН- $\gamma$         | 0,63 | < 0,01 | ИФН- $\gamma$            | 0,59 | < 0,01 |
| ИЛ-8 – ИЛ-6         | 0,79 | < 0,01 | ИЛ-6 – ИФН- $\gamma$         | 0,66 | < 0,01 | ТБЧ                      | 0,44 | < 0,05 |
| ИЛ-8 – ИЛ-4         | 0,40 | < 0,05 | ТБЧ – ГР                     | 0,46 | < 0,05 | АОА                      | 0,62 | < 0,01 |
| ИЛ-6 – ИЛ-10        | 0,28 | < 0,05 | АОА – КАТ                    | 0,41 | < 0,05 | СОД                      | 0,47 | < 0,05 |
| ТБЧ – СОД           | 0,16 | 0,089  | КАТ – ГПО                    | 0,27 | < 0,05 | ГПО                      | 0,16 | 0,083  |
| ТБЧ – КАТ           | 0,33 | < 0,05 | –                            | –    | –      | –                        | –    | –      |
| АОА – ГПО           | 0,42 | < 0,05 | –                            | –    | –      | –                        | –    | –      |
| АОА – GSH           | 0,38 | < 0,05 | –                            | –    | –      | –                        | –    | –      |

*Примечание:* ТБЧ – тиобарбитуровое число; АОА – общая антиоксидантная активность; СОД – активность супероксиддисмутазы; КАТ – активность каталазы; ГПО – активность глутатионпероксидазы; ГР – активность глутатионредуктазы; R – коэффициент корреляции Спирмена, p – уровень значимости.

изменений иммунной и оксидативной систем, характерных для разных фенотипов коморбидности. Эти конstellации иммунологических и биохимических показателей могут рассматриваться как алгоритмы расширенного спектра дополнительных лабораторных исследований, которые могут быть использованы для точной верификации диагнозов и определения оптимальной персонифицированной тактики ведения таких больных.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние десятилетия заболеваемость аллергическими заболеваниями постоянно растет и уже занимает третье место после сердечно-сосудистых и онкологических, а в некоторых экологически неблагоприятных регионах выходит на первое, охватывая порядка 10–30 % взрослого и 20–50 % детского населения [Akdis C. et al., 2012, Papadopoulos N.G. et al., 2012; Platts-Mills T.A., 2015]. Распространенность таких патологий в различных регионах Российской Федерации составляет 15–35 %. При этом данный показатель по данным официальной статистики в 2–3 раза ниже, чем по результатам эпидемиологических исследований, что указывает на гиподиагностику данных заболеваний [Козулина И.Е. и соавт., 2013]. Для структуры всей аллергической патологии характерен рост числа отдельных заболеваний. Прежде всего, это касается увеличения числа больных такими заболеваниями, как бронхиальная астма (БА), аллергический ринит и аллергодерматозы, которые в общей структуре патологии встречаются у 10–20 % населения страны [Шумная Т.Е., 2015]. Одним из наиболее распространенных является атопический дерматит (АтД).

В последнее время большое внимание исследователей и практикующих врачей привлекает проблема коморбидных патологий – сочетанных заболеваний, как правило, связанных некоторыми звеньями патогенеза друг с другом. Наиболее частыми коморбидными состояниями при бронхиальной астме являются заболевания верхних дыхательных путей (в том числе ХОБЛ), ожирение и депрессия. Бронхиальная астма и ожирение – наиболее частый вариант сочетания [Чучалин А.Г. и соавт., 2014]. Ожирение характеризуется развитием метаболического синдрома с исходом в сахарный диабет 2 типа. У больных бронхиальной астмой старше 65 лет в 16 % выявляют сахарный диабет [Клименко В.А. и соавт., 2012; Иванов В.А., 2014]. В последние годы активно обсуждается вопрос сочетанного течения

бронхиальной астмы и ХОБЛ, для обозначения которого даже используют специальный термин – «синдром перекрёста БА-ХОБЛ». Распространённость такого состояния варьирует в больших пределах (15–55 %).

Ведущую роль в развитии и течении atopических аллергических заболеваний, которые, как правило, относятся к IgE-зависимым процессам, играет нарушение регуляции синтеза IgE на уровне продукции IL-4, что лежит в основе концепции о дисбалансе продукции цитокинов Th<sub>1</sub>- и Th<sub>2</sub>-лимфоцитами в патогенезе аллергии [Barlow J.L. et al., 2014; Liu B., Lee J.V. et al., 2015; Jee-Boong Lee, 2016]. Также сегодня известно, что и другие цитокины, такие как интерлейкины семейства IL-10, IL-17 и некоторые другие, способны влиять на формирование и течение аллергических заболеваний. Цитокины представленных семейств оказывают регуляторное действие на синтез IgE с помощью как прямых, так и опосредованных механизмов с возможностью отрицательной и положительной регуляции. Прямые механизмы заключаются преимущественно в усилении синтеза цитокинов Th<sub>2</sub>-лимфоцитами, возрастании экспрессии генов IL-4, IL-5 и IL-13, а также увеличении активности В-лимфоцитов. Опосредованные механизмы связаны с усилением распознавания аллергенов антиген-распознающими клетками и возрастанием продукции ИФН $\gamma$ , являющегося важным регулятором продукции IgE [Lee J.V., 2016]. В процессе развития аллергических реакций, наряду с классическими иммунологическими изменениями, развиваются также биохимические нарушения. Существенную роль играет дисбаланс в прооксидантно-антиоксидантной системе, с интенсификацией свободнорадикальных процессов и развитием окислительного стресса. Усугубляет окислительные нарушения часто развивающаяся тканевая гипоксия. Тесная связь окислительного стресса, воспаления и иммунного ответа на сегодняшний день общепризнана. В частности, известно, что активные формы кислорода (АФК), провоспалительные цитокины: фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ),

интерлейкин-1 (ИЛ-1) и др. вызывают и поддерживают окислительный стресс (ОС), тогда как антиоксиданты обладают противовоспалительной активностью [Nakamaru Y. et al., 2015; Vouamama S. et al., 2017]. В целом же следует отметить, что аллергические заболевания сами по себе чаще всего характеризуются небольшими системными метаболическими сдвигами, однако существенно влияет на обмен веществ применяемая терапия, в особенности лечение стероидами [Reinke S.N., et al. 2017].

Учитывая вышеизложенное целью исследования явилось изучение особенностей патобиохимических изменений на местном и системном уровнях при сочетанном течении бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких, атопического дерматита и сахарного диабета, а также оценка эффективности коррекции метаболических нарушений при экспериментальной гиперчувствительности немедленного типа.

В ходе проведенных исследований были выявлены закономерные статистически значимые высокие значения содержания общего иммуноглобулина класса Е в плазме крови исследуемых больных, за исключением больных СД 2 типа. Наибольших значений концентрация IgE достигала в группах больных с коморбидным течением БА, ХОБЛ и СД 2 типа – в 9,2–9,5 раз выше контрольных значений ( $p < 0,05$ ) и существенно выше показателей групп сравнения, что может говорить о более тяжелом течении сочетанных форм заболеваний. Интересно, что наибольшие значения содержания IgE характерны для групп больных, в фенотипе коморбидности которых были и БА и ХОБЛ, тогда как наличие АтД оказывало меньшее влияние на выраженность сенсibilизации организма.

Содержание IgG в плазме крови было статистически значимо ниже контроля в группах 3, 6, 8 и 10, представленных больными БА, СД, ХОБЛ и АтД, в среднем в 2,3–3,9 раза ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о преимущественном переключении плазматических клеток на биосинтез иммуноглобулинов класса Е. В группах больных ХОБЛ, ХОБЛ+СД 2 типа и

ХОБЛ+БА+СД 2 типа были определены концентрации IgG в 2,5 раза выше значения контрольной группы ( $p < 0,05$ ), что может быть связано с развитием инфекционного процесса на фоне ХОБЛ и СД 2 типа. Небольшие значения содержания иммуноглобулина G, в 1,5 раза превышающие контроль, были отмечены в группе больных с изолированным течением атопического дерматита, что вероятно инициировано развитием инфекции кожного покрова на фоне ее повреждения и снижения местного иммунитета. Также как и в плазме крови, в РЖ в группах 3–10 определялась повышенная концентрация IgE, но превышение было не таким заметным – в среднем в 1,3–2,0 раза выше аналогичных показателей контрольной группы.

В результате исследований ожидаемо было продемонстрирована высокая интенсивность свободнорадикальных процессов во всех группах по данным параметров хемилюминесценции плазмы крови и ТБЧ эритроцитарной массы. МВХЛ в 2,0–4,7 раза превышал уровень этого показателя контрольной группы ( $p < 0,05$ ), достигая наибольших значений в группах с сочетанными формами заболеваний. Ведущее влияние оказывало наличие СД 2 типа. В группах 6, 7 и 9 исследуемый показатель статистически значимо превышал значения аналогичных показателей соответствующих групп сравнения и контрольные значения в 4,3–4,7 раза ( $p < 0,05$ ). Регистрируемая площадь хемилюминесценции была в среднем в 3,1–5,7 раза выше значений контрольной группы ( $p < 0,05$ ), причем наибольшее значение этого показателя зафиксированно у больных с заболеваниями респираторного тракта и атопическим дерматитом. Накопление ТБКРП в эритроцитах, отражающее длительное течение окислительного стресса, наблюдалось также во всех изученных группах больных, но наиболее значительно этот показатель превышал контрольные цифры в группе 2 у больных СД 2 типа – в 2,1 раза и в группе 4 у больных ХОБЛ – в 1,7 раза. В группах с сочетанными формами заболеваний наблюдались еще более высокие концентрации ТБК-реактивных продуктов, с максимальными

значениями в группах 7 (фенотип СД 2 типа и ХОБЛ) и 9 (фенотип СД, ХОБЛ и БА) – в 2,3–2,5 раза выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Таким образом, в первую очередь интенсификация окислительного метаболизма регистрировалась в группе больных СД 2 типа и ХОБЛ и в группах больных с коморбидными заболеваниями, прежде всего, зависела от наличия этих двух нозологических форм. Такие изменения вероятнее всего связаны с выраженностью метаболических нарушений при сахарном диабете 2 типа, вызванными эндокринными нарушениями и нарушениями энергетического метаболизма вследствие гипоксии при нарушении функции внешнего дыхания при ХОБЛ.

В РЖ также отмечался высокая интенсивность свободнорадикальных процессов. Уровень МВХЛ в группах 4, 6–9, то есть в группах больных, как с изолированным, так и коморбидными фенотипами ХОБЛ, в среднем на 30,0–62,0 % превышал аналогичный показатель контрольной группы. Также зафиксированы высокие значения ПХЛ в этих же группах больных, а также в группе 2, представленной испытуемыми лицами с СД 2 типа. Значение ТБЧ в целом соответствовало параметрам хемилюминесцентного анализа. Наиболее высокие значения этого показателя наблюдались в группах больных коморбидными заболеваниями 6 (СД и БА), 7 (СД и ХОБЛ) и 9 (СД, БА и ХОБЛ) – на 57,7–63,9 %. Представляется возможным констатировать, что прослеживается очевидная зависимость интенсивности окислительных процессов в РЖ от наличия у больных ХОБЛ и сахарного диабета 2 типа.

Исследование общей антиоксидантной активности плазмы крови и РЖ амперометрическим методом продемонстрировало низкие ее значения во всех группах. Наименьшее значение АОА плазмы крови отмечалось в группах больных с изолированным течением СД 2 типа или ХОБЛ, а также представленных сочетанными формами исследуемых заболеваний (на 21,2–37,0 % ниже контрольных значений). В РЖ, что интересно, были определены еще более низкие значения общей АОА – на 45,1 % и 35,2 % ниже контроля

соответственно в группах больных ХОБЛ и АтД. В основных группах с сочетанными формами заболеваний были выявлены наиболее низкие значения антиоксидантного потенциала, так в группах 7 (СД 2 типа и ХОБЛ) и 9 (СД 2 типа, БА и ХОБЛ) – уменьшение на 52,5 % и 56,8 % соответственно по сравнению с группой здоровых добровольцев.

Анализ активностей СОД и КАТ – ферментов 1 и 2 звена АОС в эритроцитах показал наиболее выраженные отклонения от контрольных значений у больных СД 2 типа – сниженная активность СОД в 1,85 раза и повышенная активность КАТ на 50 %, в то время как у исследуемых лиц БА и ХОБЛ активность СОД либо превышала контрольные значения (группа 3), либо не отклонялась (группа 4), а КАТ превышала аналогичный показатель контрольной группы, но менее существенно – на 31–33 %. При изучении активностей этих ферментов у больных с сочетанными формами заболеваний было установлено повышенное значение активности СОД и КАТ во всех исследуемых группах. Расчет ИПФФАРЗ крови показал наличие выраженной супероксиддисмутазной недостаточности у исследуемых лиц групп 2 и 5, в группе 4 также отмечалась недостаточность СОД, но менее значительная (145 ед.). Группа 10 характеризовалась недостаточностью СОД – ИПФФАРЗ = 149 ед., тогда как в других группах основной части исследования отмечалось значение данного показателя в пределах баланса функционирования КАТ/СОД, но ввиду развития окислительного стресса, подтвержденного показателями интенсивности свободнорадикального окисления и снижения АОА, можно считать, что наблюдалась недостаточность обоих ферментов.

Анализ показателей тиолового метаболизма в эритроцитраной взвеси показал менее выраженные отклонения активности ГР и ГПО у больных с СД 2 типа в сравнении с другими группами, но существенное более низкие концентрации восстановленного глутатиона – на 17,2 % ниже показателя контроля. Это возможно связано с переходом изменений активности ферментов антирадикальной защиты от повышения компенсаторного

характера к срыву компенсации с дальнейшим падением активности ГР. Активность ГПО была ниже контрольных значений у больных БА и ХОБЛ – в 3–3,7 раза. Активность ГР наоборот превышала аналогичный показатель контрольной группы на 146-168 %. Рассматривая характер показателей метаболизма глутатиона у больных с сочетанными формами патологий следует отметить более низкие значения активности ГПО и высокое значение активности ГР. Так в группе испытуемых лиц с СД и ХОБЛ активность ГПО была выше контроля в 19,4 раза, а активность ГР – в 2,8 раза. Наибольшие значения активности ГР определены в группе 6 (СД и БА) – в 4,7 раза. В группе 9 кроме того отмечалась низкая концентрация GSH – на 19 % ниже значения группы здоровых добровольцев. Такие тенденции тиолового метаболизма говорят о нарушениях его использования антиоксидатной системой для нейтрализации пероксида водорода и, других органических пероксидов и гидропероксидов, при этом усиление деятельности ГР направлено на попытки обеспечить достаточную регенерацию GSH.

Изменения ферментативной активности РЖ не всегда соответствовали изменениям в крови, что говорит о некоторой обособленности метаболических систем ротовой полости, при которой общая направленность биохимических нарушений соответствует системным изменениям, но механизм их развития может несколько отличаться. Активность СОД в РЖ больных СД 2 типа была ниже контрольных значений на 48 %, в то время как в других группах, аналогично АОС эритроцитов, активность СОД превышала аналогичный показатель. Наиболее высокие значений активности этого фермента отмечены при течении сочетанных форм патологий – в группе 8 и 9 на 79–81 % выше контроля. Активность каталазы была ниже контрольных цифр, в наибольшей степени в группе 9, с сочетанным течением у исследуемых лиц всех трех изучаемых патологий, – в 9,2 раза. По данным расчета интегрального показателя ИПФФАРЗ в большей степени страдала каталазная активность. Недостаточность СОД определялась только в группе

5, во второй группе определялся нормальный баланс ферментов, а в остальных группах отмечалась недостаточность КАТ, наиболее выраженная в группе 4 (6 ед.), в группе 6 (8 ед.) и в группе 9 (2 ед.). Таким образом, недостаточность КАТ находилась в первоочередной зависимости от респираторной патологии. Это можно объяснить прямым контактом, как бронхоальвеолярного дерева, так и ротовой полости с воздухом, который оказывает повреждающее действие за счет своего обычного компонента – кислорода, так и за счет табачного дыма при курении.

Активность ГПО в РЖ была существенно ниже этого показателя контрольной группы. В группах 2, 4, 6 и 7 активность данного фермента на 22–32 % была ниже значения группы здоровых добровольцев, в 3 группе активность была еще ниже – на 70 % по сравнению с 1-й группой. В группе 8 активность ГПО наоборот превышала на 83 % контрольные значения. Активность ГР была снижена в РЖ у больных СД 2 типа – на 23 % по сравнению с контрольной группой, а у исследуемых лиц с ХОБЛ наоборот превышала аналогичный показатель 1-й группы в 6,6 раза. При сочетанных формах патологий значение активности зависело от формы респираторной патологии, так у больных с БА активность, как правило, либо не отклонялась, либо нарушения были менее выражены, а с ХОБЛ активность ГР была повышенной. При наличии всех трех изучаемых заболеваний – в группе 9, наблюдалась высокая активность ГР – на 83 % выше, чем в контрольной группе.

Содержание ВСиНММ в плазме крови, эритроцитах и РЖ характеризовало состояние эндогенной интоксикации. У испытуемых лиц групп сравнения определялось высокое содержание обеих фракций, в меньшей степени в группе 3. Так плазменная фракция на 32,0–59,9 %, а эритроцитарная на 36,6–72,3 % превышала значения контрольной группы, с максимальными значениями в группе 2. В группе 6 и 8 концентрация ВСиНММ была выше на 61,7–70,0 % и на 76,0–79,6 % в плазме крови и

эритроцитах соответственно по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы. В группе 7 и 10 аналогичные показатели были выше контроля на 72,9–85,2 % и 51,1–62,9 % соответственно в плазме крови и эритроцитарной взвеси. Высокое содержание эндотоксинов плазменной фракции на фоне сравнительно меньшей концентрации эритроцитарной, можно рассматривать как переход к декомпенсации функционального состояния детоксицирующих систем, что практически не вызывает сомнений уже в группе 9 – содержание ВСиНММ в плазме крови на 76,2 % выше контроля, а в эритроцитах всего на 25,8 %. В РЖ также наблюдалось повышенное содержание ВСиНММ, во всех группах, кроме 3-й. Причем наиболее выраженные отклонения наблюдались в группах, представленных больными с ХОБЛ в виде монопатологии, так и при сочетании с другими заболеваниями.

Кроме того результаты исследований подтвердили перспективность определения нарушений окислительного метаболизма у больных с изучаемыми соматическими патологиями в РЖ, что может быть перспективным, особенно у детей и в геронтологической практике в связи со сложностями забора крови.

Для выполнения экспериментальной части исследования влияния метаболических корректоров на развитие и течение гиперчувствительности немедленного типа были сформированы 5 групп лабораторных животных – контрольная, сравнения и три основных группы, в которых животные получали дихлорацетат натрия, биологически активную добавку с прямым антиоксидантным составом или воду со сниженным содержанием дейтерия.

В ходе проведенных исследований было показано, что в группе сравнения снизился прирост массы тела за два месяца эксперимента на 22 %, что ни в какой другой группе не определялось. Также была проведена оценка содержания общего белка в плазме крови, в ходе которой было установлено интересное явление – снижение ее на 11 % в группе IV у крыс, получавших

биологически активную добавку, однако можно отметить, что в этой группе наблюдалось наиболее выраженное снижение концентрации IgG, который составляет основу всех белков этого семейства в плазме крови. Поэтому наблюдаемое явление было вызвано, вероятнее всего, гипогаммаглобулинемией.

В ходе проведенных лабораторных исследований по определению содержания разных классов Ig в плазме крови иммунизированных овалбумином крыс было установлено увеличение концентрации общего IgE в группе сравнения в 5,8 раза, что было ожидаемо, ввиду развития сенсibilизации организма белковым аллергеном. Концентрация IgM достоверно не изменялась, а содержание IgG и IgA снижалось до 1,58 мг/мл и 0,34 мг/мл соответственно, что можно объяснить переключением плазматических клеток на биосинтез иммуноглобулинов класса E. Введение различных веществ с целью коррекции метаболических изменений имело выраженное влияние на иммуноглобулиновый профиль крови иммунизированных животных. Содержание IgE в группе III было выше значений контрольной группы всего на 46 % и составило 6,26 МЕ/мл, а в группе V и вовсе статистически значимо не отличалось от группы 1. Между тем ведение иммунизированным крысам биодобавки с антиоксидантным составом не выявило положительного влияния на продукцию иммуноглобулинов. При этом концентрация IgE была даже выше значений группы сравнения на 18,2 %, а концентрации IgG и IgA аналогично другим группам снижались на 65–85 % в сравнении с группой интактных крыс.

Исследования содержания сывороточных провоспалительных цитокинов выявили значительное статистически значимое снижение концентрации ИФН $\gamma$  (в 37 раз) и ИЛ-6 (в 1,25 раза), тогда как содержание ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 находилось в пределах значений контрольной группы, а уровень ИЛ-2 – был в 1,5 раза выше. Исследование противовоспалительных цитокинов показало увеличение содержания ИЛ-4 (в 6,5 раза) и ИЛ-10

(в 4,8 раза). Характер изменения цитокинового профиля крови крыс, иммунизированных белковым аллергеном, свидетельствует о дисбалансе Т-хелперов первого и второго порядка с преобладанием продукции Th-2-цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) [K. Irifune et al., 2005].

Введение животным ДХА позволило прежде всего установить его способность смещать баланс Th1- и Th2-цитокинов в сторону Th1, о чем свидетельствует снижение ИЛ-4 (в 6 раз) относительно крыс группы сравнения, что в целом вывело данный показатель на уровень нормы. При этом существенно повысился уровень Th1-цитокинов, в частности, уровень содержания сывороточного ИФН $\gamma$  статистически значимо превышал содержание его в контрольной группе (в 17 раз), а также значительно усилилась продукция ИЛ-2 (в 6,4 раза относительно контроля и в 4 раза – относительно 2 экспериментальной группы). Наряду с этим наметилась тенденция к повышению содержания хемокина ИЛ-8 и достоверно увеличился провоспалительный цитокин моноцитарно-макрофагального происхождения – ИЛ1 $\beta$ .

Похожий характер действия имела вода со сниженным содержанием дейтерия (V-я группа). Относительно II-й группы иммунизированных животных в условиях иммунизации овальбумином крыс, потреблявших H $_2$ O (43 ppm) было выявлено снижение сывороточной концентрации ИЛ-4 (в 4,8 раза), увеличение содержания ИФН $\gamma$  (в 23 раза), ИЛ-2 (в 1,4 раза), ИЛ-10 (в 4,8 раза) и ИЛ1 $\beta$  (в 1,4 раза). Статистически значимое снижение продукции ИЛ-4 сочеталось с соответствующей нормализацией синтеза патогенетически значимого IgE только при использовании ДХА и H $_2$ O (43 ppm).

При исследовании эффектов биологически активной добавки был выявлен несколько иной характер изменения содержания цитокинов в плазме крови. Относительно цитокинового профиля крыс II-й группы, под влиянием БАД наблюдалось снижение содержания не только ИЛ-4 (в 6,55 раза), но и провоспалительного ИЛ-2 – в 3 раза, а также противовоспалительного

ИЛ-10 (в 5,4 раза), в то время как содержание провоспалительного ИЛ-6 – в 1,5 раза, а ИЛ-8 – более чем в 5 раз превышало таковое у сенсibilизированных крыс группы сравнения. Кроме того не выявлено влияние биологически активной добавки на содержание ИФН $\gamma$  и ИЛ1 $\beta$ , уровень которых был таким же низким, как и у иммунизированных овалбумином крыс II-й опытной группы.

Учитывая выявленный не всегда однозначный характер влияния исследуемых веществ на молекулярные показатели аллергического воспаления немедленного типа, интерес представляет оценка их влияния на антиоксидантный статус эритроцитов экспериментальных животных. Изучение антиоксидантного статуса эритроцитов крыс показало отсутствие статистически значимых изменений активности ферментов антирадикальной защиты и содержания восстановленного глутатиона при иммунизации овалбумином.

В III-й группе, получавшей дихлорацетат натрия с целью коррекции развития аллергической реакции, также не отмечено статистически значимых изменений исследуемых показателей. В группе IV, получавшей биодобавку с антиоксидантным составом, наблюдалось небольшое возрастание активностей ферментов: каталазы – на 19,3 % в сравнении с группой I, глутатионпероксидазы – на 16,8 % в сравнении с группой II, глутатионредуктазы – на 56 % и 44,5 % в сравнении с группами I и II соответственно. В V-й группе наблюдалось увеличение активности ГПО на 21–25 % в сравнении с группами I и II, но активности КАТ и ГР несколько снижались. Так активность КАТ была ниже значений группы сравнения на 15 %, а активность ГР была ниже значений контрольной группы и группы сравнения на 24,9 % и 30,6 % соответственно. Концентрация восстановленного глутатиона во всех исследуемых группах не изменялась. Учитывая показатели группы сравнения, можно говорить об отсутствии очевидного влияния иммунизации животных на АОС. Биологически активная добавка ожидаемо увеличивала антиоксидантный потенциал крови крыс.

Для оценки интенсивности окислительных процессов проводили определение концентрации ТБК-реактивных продуктов. В результате проведенных исследований было показано, что наблюдается увеличение ТБЧ в эритроцитах при иммунизации лабораторных животных. Так в группе сравнения отмечалось увеличение ТБЧ на 31,7 %, в группе IV наблюдалось увеличение на 34 %, что значимо не отличалось от группы II. В группах III и V были определены ТБЧ существенно ниже группы сравнения – в III-й группе – на 14,9 % и в группе V – на 18,1 %.

Также в ходе исследований было продемонстрировано, что в группе сравнения развивается вторая фаза интоксикации, характеризующаяся увеличением содержания ВСиНММ в плазме крови на 10,2 % и в эритроцитарной взвеси на 12,3 %. Группы III–V характеризовались сниженными концентрациями молекул средней и низкой масс в плазме крови, даже по сравнению с контрольной группой: в III-й группе – на 21,2 %, в IV-й группе – на 28,8 % и в группе V – на 31,6 %. Содержание ВСиНММ эритроцитов в группе III увеличивалось на 11,7 % по сравнению с группой I, как и в группе сравнения. В IV-й группе их концентрация соответствовала значению контрольной группы, а в V-й группе была даже несколько ниже – на 8,1 % по сравнению с группой I.

Таким образом, исследование содержания иммуноглобулинов основных классов, а также про- и противовоспалительных цитокинов периферической крови крыс в модели гиперчувствительности немедленного типа позволило выявить иммуномодулирующие эффекты ДХА и H<sub>2</sub>O 43 ppm D, которые отменяли дисбаланс ИЛ4/ИФН $\gamma$  с нормализацией продукции IgE. Это имеет большое значение с точки зрения возможности коррекции иммунологических нарушений при атопиях путем направленного смещения баланса Th1/Th2 с помощью иммуномодуляторов патогенетического действия.

## ВЫВОДЫ

1. При всех изученных фенотипах коморбидных заболеваний (бронхиальная астма с ХОБЛ; бронхиальная астма с СД 2 типа; ХОБЛ с СД 2 типа; бронхиальная астма с атопическим дерматитом; бронхиальная астма с ХОБЛ и СД 2 типа) выявлены статистически значимые различия в содержании иммуноглобулинов как на системном (в периферической крови) так и на локальном (в РЖ) уровнях по сравнению с контрольной группой и группами сравнения (с изолированным течением этих заболеваний). Уровень IgE в крови больных всех клинических групп превышал показатель контроля в 2,3–9,5 раз, а в РЖ в 1,2–2,0 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация всех исследованных иммуноглобулинов при сочетанном течении бронхиальной астмы, СД 2 типа и ХОБЛ превышала контрольные значения в 1,7(IgM) – 9,5(IgE) раз. Продукция IgG и IgA при сочетанном течении СД 2 типа и ХОБЛ, СД, бронхиальной астмы и ХОБЛ была выше показателей контроля на 120–230 % ( $p < 0,01$ ), но при коморбидности бронхиальной астмы и атопического дерматита, бронхиальной астмы и ХОБЛ, СД 2 типа и ХОБЛ содержание в крови этих иммуноглобулинов было в 2,1–4,8 раза меньше аналогичных показателей контрольной группы.

2. Установлено, что продукция исследованных цитокинов у больных всех исследованных групп существенно различается при различных фенотипах коморбидных заболеваний. Комплексная оценка цитокинового баланса по интегральному индексу выявила наличие существенного сдвига в сторону воспалительного компонента. Наибольший интегральный индекс зафиксирован при сочетанном течении СД 2 типа и бронхиальной астмы (выше контроля в 12 раз,  $p < 0,05$ ), что обусловлено, в основном, высоким содержанием ИЛ-6 (в 19 раз больше контрольного показателя). Минимальное значение интегрального индекса выявлено при сочетании бронхиальной астмы и ХОБЛ, что связано с низким содержанием ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2 и ИФН $\gamma$  на фоне близкого к

контрольным показателям содержания противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-4, ИЛ-10). У больных с ХОБЛ-ассоциированными коморбидными заболеваниями сдвиг баланса цитокинов в сторону провоспалительного звена менее выражен.

3. Установлено, что при всех исследованных вариантах коморбидности и в крови и в РЖ имеет место статистически значимый высокий, по сравнению с контролем, уровень ИЛ-8. Выявленные отдельные позиции сходства профилей сывороточных и локальных цитокинов обуславливают возможности избирательного исследования ряда лабораторных показателей в целях саливодиagnosticки сочетанных заболеваний (провоспалительных цитокинов: ИЛ-8, ИФН $\gamma$ , а также противовоспалительных интерлейкинов: ИЛ-4, ИЛ-10), хотя полного сходства профилей цитокинов периферической крови и РЖ не выявлено. Саливодиagnosticка содержания ИЛ-6 информативна при сочетании СД 2 типа с атопическим дерматитом. Исследование в РЖ содержания ИЛ-4 и ИЛ-10 целесообразно при трех фенотипах коморбидности: бронхиальная астма и СД 2 типа, бронхиальная астма и атопический дерматит, бронхиальная астма, ХОБЛ и СД 2 типа. Наибольшее значение ИЦ, характеризующего баланс про- и противовоспалительных цитокинов в РЖ имеет место при сочетании атопических заболеваний (бронхиальная астма с атопическим дерматитом) при котором данный показатель превышает аналогичное значение контрольной группы и групп сравнения в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ).

4. Выявлен дисбаланс в функционировании прооксидантно-антиоксидантной системы при всех изученных коморбидных фенотипах, характеризующийся снижением в крови активности факторов антиоксидантной защиты (на 21–37 %) и усилением процессов перекисного окисления (в 1,7–2,5 раза), что наблюдается достоверно чаще при сочетанном течении патологических состояний с сахарным диабетом 2 типа или ХОБЛ, чем при отдельных нозологиях; при этом в РЖ описанные изменения были

схожи, а в некоторых случаях характеризовались еще большей выраженностью: антиоксидантная активность была снижена на 35–57 %, интенсивность свободнорадикальных процессов была выше в 1,3–1,6 раз, чем в крови у этих же пациентов, особенно при сочетанном течении бронхиальной астмы, сахарного диабета 2 типа и ХОБЛ, что зависит в существенной мере от тяжести хронической обструкции дыхательных путей.

5. Доказано, что терапия с использованием дихлорацетата натрия и воды со сниженным содержанием дейтерия достоверно влияет на развитие и течение экспериментальной гиперчувствительности немедленного типа у лабораторных животных, в том числе нивелируют дисбаланс ИЛ-4/ИФН $\gamma$  с одновременной нормализацией продукции IgE у иммунизированных крыс, что объясняется неспецифическим механизмом влияния указанных метаболических факторов на целостный организм, тогда как использование биологически активной добавки с комплексным антиоксидантным составом не оказывает существенного эффекта, последнее может быть связано с узкой направленностью ее действия и меньшей ролью нарушений прооксидантно-антиоксидантной системы в реализации этого патологического процесса.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При наличии у больных сочетанных заболеваний рекомендуется проведение расширенных спектров биохимических и иммунологических исследований в дополнение к стандартным подходам лабораторной диагностики БА, СД 2 типа, ХОБЛ и АтД. Целесообразно проведение комплексного исследования показателей иммунного статуса, баланса прооксидантно-антиоксидантной системы и лабораторных критериев эндогенной интоксикации. При различных фенотипах коморбидности названных заболеваний предложены диагностические алгоритмы, имеющие как сходные, так и различающиеся позиции.

2. При сочетанном течении БА и СД 2 типа рекомендуется проведение исследования в крови содержания IgE, IgG, ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10, ИФН $\gamma$ , а также определение активности СОД, КАТ, ГР и концентрации ТБК-реагирующих веществ. В РЖ могут быть исследованы IgE, ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10, КАТ, СОД.

3. При коморбидном течении СД 2 типа и ХОБЛ целесообразно исследовать в крови показатели ИЛ-8, СОД, ИФН $\gamma$  и содержание IgE, ВСиНММ, ГПО, ГР, IgG. В РЖ рекомендуется определение ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10, КАТ, СОД, АОА.

4. Диагностический алгоритм при сочетанном течении БА и ХОБЛ может включать исследование в крови и в РЖ ИЛ-8, СОД, КАТ, IgE, ВСиНММ. Кроме того в крови рекомендуется определение содержания ИЛ-10, ИЛ-2, ИНФ $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , GSH, а в РЖ активность ГПО.

5. Алгоритм расширенного комплексного исследования у больных с сочетанным течением БА и АтД включает определение в крови ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИФН $\gamma$ , ВСиНММ, IgE, IgM, IgA, СОД, КАТ. В РЖ целесообразно исследовать содержание ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-1 $\beta$ , АОА, СОД, КАТ, IgE.

6. При коморбидном течении ХОБЛ, БА и СД 2 типа алгоритм дополнительных диагностических исследований крови и РЖ включает

определение содержания ИЛ-2, ИЛ-8, IgE и активности КАТ, АОА, ГР. В крови также следует исследовать концентрацию IgG, IgM, ТБК-реагирующих веществ, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-1 $\beta$ , а в РЖ АОА, КАТ, ГР, ИЛ-10, ИФН $\gamma$ .

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

|                        |  |
|------------------------|--|
| <b>АОА</b>             | – антиоксидантная активность   |
| <b>АОС</b>             | – антиоксидантная система  |
| <b>АтД</b>             | – атопический дерматит   |
| <b>АФК</b>             | – активные формы кислорода   |
| <b>БА</b>              | – бронхиальная астма   |
| <b>ВОЗ</b>             | – Всемирная организация здравоохранения  |
| <b>ВСиНММ</b>          | – вещества со средней и низкой молекулярной массой                             |
| <b>ГПО</b>             | – глутатионпероксидаза   |
| <b>ГР</b>              | – глутатионредуктаза   |
| <b>ДРС</b>             | – дермореспираторный синдром   |
| <b>ДХА</b>             | – дихлорацетат натрия  |
| <b>ИЛ</b>              | – интерлейкин  |
| <b>ИПФФАРЗ</b>         | – интегральный показатель функционирования ферментов<br>антирадикальной защиты |
| <b>ИЦ</b>              | – интегральный цитокиновый индекс  |
| <b>КАТ</b>             | – каталаза   |
| <b>МВХЛ</b>            | – максимум вспышки хемилюминесценции   |
| <b>МС</b>              | – метаболический синдром   |
| <b>НАДФН</b>           | – никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный                           |
| <b>ОС</b>              | – окислительный стресс   |
| <b>ОФВ<sub>1</sub></b> | – объем форсированного выдоха за первую секунду                                |
| <b>ПХЛ</b>             | – площадь хемилюминесценции  |
| <b>РЖ</b>              | – ротовая жидкость   |
| <b>СД</b>              | – сахарный диабет  |
| <b>СОД</b>             | – супероксиддисмутаза  |
| <b>ТБК</b>             | – тиобарбитуровая кислота  |
| <b>ТБЧ</b>             | – тиобарбитуровое число  |

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| <b>ТМЭДА</b>                  | – тетраметилэтилендиамин  |
| <b>ФНО<math>\alpha</math></b> | – фактор некроза опухолей альфа                                     |
| <b>ХОБЛ</b>                   | – хроническая обструктивная болезнь легких                          |
| <b>ЭДТА</b>                   | – этилендиаминтетрауксусная кислота                                 |
| <b>GOLD</b>                   | – глобальная инициатива по хронической обструктивной болезни легких |
| <b>GSH</b>                    | – восстановленный глутатион   |
| <b>Ig</b>                     | – иммуноглобулин  |
| <b>LADA</b>                   | – латентный аутоиммунный диабет взрослых                            |
| <b>NOS</b>                    | – синтаза оксида азота  |

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алтухова, Ю.В. Роль компьютерного регистра в оценке эффективности управления лечебно-диагностическим процессом у больных хронической обструктивной болезнью легких / Ю.В. Алтухова, В.Т. Бурлачук, Л.В. Трибунцева, А.В. Будневский // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2013. – Т. 12. – № 3. – С. 618–621.

2. Арьева, Г.Т. Коморбидные и мультиморбидные состояния в гериатрии (обзор) / Г.Т. Арьева, Н.В. Советкина, Н.А. Овсянникова и др. // Успехи геронтологии. – 2011. – Т. 24. – № 4. – С. 612–619.

3. Барышев, М.Г. ЯМР И ЭПР исследование влияния воды с пониженным содержанием дейтерия на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы у лабораторных животных / М.Г. Барышев, А.А. Басов, С.Н. Болотин, С.С. Джимаков, Д.В. Кашаев, С.Р. Федосов, В.Ю. Фролов, В.В. Малышко, Р.В. Власов // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества. – 2011. – № 3. – С. 16–20.

4. Басов, А.А. Мониторинг и коррекция свободнорадикальных процессов в экспериментальной и клинической практике / А.А. Басов, С.С. Джимаков, Н.И. Быкова : монография. – Краснодар : Изд-во Кубанского гос. ун-та, 2013. – 169 с.

5. Басов, А.А. Влияние льняного масла и питьевого рациона с пониженным содержанием дейтерия на изотопный D/H состав и функциональное состояние антиоксидантной защиты гепатобилиарной системы у кроликов при интоксикации четыреххлористым углеродом / А.А. Басов, И.М. Быков, С.С. Джимаков, Д.И. Шашков, В.В. Малышко, А.В. Моисеев, К.А. Попов, М.Г. Барышев // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85. – № 6. – С. 30–38.

6. Басов, А.А. Изменение антиоксидантного потенциала крови экспериментальных животных при нутриционной коррекции окислительного

стресса / А.А. Басов, И.М. Быков // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82. – № 6. – С. 75–81.

7. Басов, А.А. Использование аналогово-цифрового преобразователя в составе системы сбора и обработки информации с хемилюминитестером LT-01 / А.А. Басов, И.И. Павлюченко, А.М. Плаксин, С.Р. Федосов // Вестник новых медицинских технологий. – 2003. – Т. 10. – № 4. – С. 67–68.

8. Басов, А.А. Концентрация дейтерия в пищевых продуктах и влияние воды с модифицированным изотопным составом на показатели свободнорадикального окисления и содержание тяжелых изотопов водорода у экспериментальных животных / А.А. Басов, И.М. Быков, М.Г. Барышев, С.С. Джимаков, М.И. Быков // Вопросы питания. – 2014. – Т. 83. – № 5. – С. 43–50.

9. Басов, А.А. Способ диагностики нарушений метаболизма в организме в условиях окислительного стресса / А.А. Басов, И.И. Павлюченко, И.М. Быков, С.Р. Федосов, Е.А. Губарева // Патент на изобретение RUS 2436101. МПК G01N33/573 – Заявл. 25.06.2010; опубл. 10.12.2011. – Бюл. № 34. – 20 с.

10. Басов, А.А. Сравнительная характеристика антиоксидантного потенциала и энергетической ценности некоторых пищевых продуктов / А.А. Басов, И.М. Быков // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82. – № 3. – С. 77–80.

11. Белевский, А.С. Синдром перекрёста бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни лёгких (по материалам совместного документа рабочих групп экспертов GINA и GOLD) / А.С. Белевский // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2014. – № 2. – С. 1–8.

12. Беялов, Ф.И. Лечение внутренних болезней в условиях коморбидности / Ф.И. Беялов. Иркутск : РИО ИГМАПО, 2013. – 297 с.

13. Будневский, А.В. Биомаркеры как предикторы исходов хронической обструктивной болезни легких (обзор литературы) / А.В. Будневский, Е.С. Овсянников, А.В. Чернов, Е.С. Дробышев // Молодой ученый. – 2014. – Т. 5. – № 64. – С. 125–128.

14. Быков, И.М. Сравнительная антиоксидантная емкость некоторых отечественных и импортных чайных напитков / И.М. Быков, И.И. Павлюченко, И.А. Луговая, А.А. Басов, С.Р. Федосов // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 10. – С. 40.

15. Быков, И.М. Сравнительная оценка антиокислительной активности и содержания прооксидантных факторов у различных групп пищевых продуктов / И.М. Быков, А.А. Басов, М.И. Быков, Р.А. Ханферьян // Вопросы питания. – 2014. – Т. 83. – № 4. – С. 75–81.

16. Быков, И.М., Попов К.А., Мелконян К.И., Сторожук П.Г. Сравнительная биохимическая характеристика антиоксидантно-энергетического потенциала молока и молочных продуктов / И.М. Быков, К.А. Попов, К.И. Мелконян, П.Г. Сторожук // Астраханский медицинский журнал. – 2015. – Т. 10. – № 3. – С. 45–49.

17. Быков, М.И. Сравнительная характеристика изотопного D/H состава и антиоксидантной активности свежесжатых соков из овощей и фруктов, выращенных в различных географических регионах / М.И. Быков, С.С. Джимак, А.А. Басов, О.М. Арцыбашева, Д.И. Шашков, М.Г. Барышев // Вопросы питания. – 2015. – Т. 84. – № 4. – С. 89–96.

18. Верткин, А.Л. Коморбидность / А.Л. Верткин, А.С. Скотников // Леч. врач. – 2013. – № 6. – С. 66–69.

19. Гуцин, И.С. Клеточная организация аллергического воспаления / И.С. Гуцин // Сб. труд.1-й нац. конф. РААКИ «Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии». – 1997. – С. 19–25.

20. Джимак, С.С. Определение концентрации дейтерия в биологических жидкостях с помощью ЯМР-спектроскопии / С.С. Джимак, А.А. Басов, Л.В. Федулова, И.М. Быков, В.А. Ивлев, К.И. Мелконян, А.А. Тимаков // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2016. – Т. 50. – № 3. – С. 42–47.

21. Дзугкоев, С.Г. Системный окислительный стресс и биохимические маркеры повреждения внутренних органов / С.Г. Дзугкоев, И.В. Можаяева, Л.В. Гиголаева, А.И. Тедтоева, Е.А. Такоева, Ф.С. Дзугкоева, О.И. Маргиева // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 7–3. – С. 478–481.

22. Зарубина, Е.Г. Влияние метаболического синдрома на скорость формирования ИБС у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / Е.Г. Зарубина, Ю.Л. Карпечкина, И.О. Прохоренко // *Вестник медицинского института РЕАВИЗ*. – 2011. – № 1. – С. 27–33.

23. Иванов, В.А. Сочетание бронхиальной астмы и сахарного диабета: синергизм или антагонизм? / В.А. Иванов, Л.Н. Сорокина, В.Н. Минеев, Н.Э. Шестакова, А.А. Быстрова, В.И. Трофимов // *Пульмонология*. – 2014. – № 6. – С. 103–107.

24. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Справочник / В.С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.

25. Карпищенко, А.И. Медицинские лабораторные технологии. Справочник / А.И. Карпищенко. – СПб. : Интермедика, 2002. – 600 с.

26. Кейт Надаль-Гинард. Когда одно мешает другому – коморбидность на злобе дня / Кейт Надаль-Гинард // *Новая медицина тысячелетия*. – 2012. – № 6. – С. 22–24.

27. Клименко, В.А. Почему не удается достигнуть контроля бронхиальной астмы: коморбидные состояния / В.А. Клименко, А.С. Романова // *Клиническая иммунология. Аллергология. Ифектология*. – 2012. – № 2. – С. 8–10.

28. Кобылянский, В.И. К диагностике нарушения толерантности к глюкозе и сахарного диабета у больных хронической обструктивной болезнью легких / В.И. Кобылянский, Г.Ю. Бабаджанова // *Российский медицинский журнал*. – 2014. – № 1. – С. 26–29.

29. Козулина, И.Е. Структура аллергических заболеваний среди молодого населения / И.Е. Козулина, К.С. Павлова, О.М. Курбачева // Российский аллергологический журнал. – 2013. – № 1. – С. 85–86.

30. Кононенко, И.В. Функциональное состояние β-клеток, иммунологические и клиничко-биохимические характеристики у больных с медленно прогрессирующим аутоиммунным диабетом взрослых / И.В. Кононенко, С.А. Прокофьев, О.М. Смирнова // Проблемы эндокринологии. – 2004. – Т. 50. – № 1. – С. 18–22.

31. Костюк, В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.И. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.И. Ковалева // Вопросы медицинской химии. – 1990. – № 2. – С. 88–91.

32. Костюк, И.Ф. Клинико-иммунологические особенности хронической обструктивной болезни лёгких профессионального генеза у больных сахарным диабетом 2-го типа / И.Ф. Костюк, В.Т. Полищук, В.В. Бязрова, Н.П. Стеблина // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – № 4. – С. 153–156.

33. Левашева, С.В. Прогностическая модель формирования бронхиальной астмы у детей, страдающих атопическим дерматитом / С.В. Левашева, Э.И. Эткина, Л.Л. Гурьева, А.Р. Бикташева, С.Э. Якута, Л.Я. Данилова // Медицинский совет. – 2016. – № 7. – С. 132–135.

34. Малахова, М.Я. Эндогенная интоксикация и методы ее верификации / М.Я. Малахова, О.В. Зубаткина, В.В. Слепышева. – СПб. : Изд-во СПбМАПО, 2011. – 87 с.

35. Мануйлов, А.М. Биологическая активность дихлорацетата натрия: концепции и механизмы (обзор литературы) / А.М. Мануйлов, К.А. Попов, И.Ю. Цымбалюк, М.Г. Литвинова, Ф.У. Хубиева, А.В. Шестопалов // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 6. – С. 156–163.

36. Мелконян, К.И. Изменение антиокислительной активности плазмы крови и возможности антиоксидантной коррекции у больных с сочетанным

течением псориаза и сахарного диабета / К.И. Мелконян, К.А. Попов, М.Г. Литвинова, М.И. Карташевская // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – № 1–4. – С. 774–778.

37. Минеев, В.Н. Особенности влияния ингаляций глюкозы на реактивность бронхов при бронхиальной астме / В.Н. Минеев, Н.Ю. Булатова // *Клиническая медицина*. – 2001. – Т. 79. – № 8. – С. 37–39.

38. Мирзабекова, К.А. Новые возможности в коррекции метаболических нарушений сетчатки у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и возрастной макулярной дегенерацией / К.А. Мирзабекова // *Офтальмология*. – 2014. – Т. 11. – № 4. – С. 41–46.

39. Недомолкина, С.А. Взаимовлияние ХОБЛ и сахарного диабета 2 типа: факторы риска и механизмы развития / С.А. Недомолкина, О.В. Великая, В.И. Золоедов, Т.М. Черных // *Современные проблемы науки и образования*. – 2016. – № 2 URL : <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24165>.

40. Недомолкина, С.А. Цитокиновый статус у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких и сахарным диабетом 2-го типа / С.А. Недомолкина, О.В. Великая, В.И. Золоедов // *Казанский мед. ж.* – 2017. – Т. 98. – № 2. – С. 222–226.

41. Павлюченко, И.И. Изменение активности ферментов антирадикальной защиты как прогностический критерий развития и прогрессирования сахарного диабета / И.И. Павлюченко, А.А. Басов, С.В. Орлова, И.М. Быков // *International Journal on Immunorehabilitation*. – 2004. – Т. 6. – № 1. – С. 14–19.

42. Павлюченко, И.И. Комплексная оценка состояния системы про-антиоксиданты в различных биологических средах у хирургических больных с гнойно-септическими осложнениями / И.И. Павлюченко, М.И. Быков, С.Р. Федосов, А.А. Басов, И.М. Быков, А.Э. Моргоев, Т.В. Гайворонская // *Успехи современного естествознания*. – 2006. – № 6. – С. 82–83.

43. Пальмова, Л.Ю. Анализ случаев госпитализации по поводу обострений бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни лёгких / Л.Ю. Пальмова, А.А. Подольская, З.А. Шайхутдинова, Д.А. Заплатова, Е.Б. Дружкова // Казанский медицинский журнал. – 2016. – Т. 97. – № 6. – С. 958–962.

44. Пузырев, В.П. Генетический взгляд на феномен сочетанной патологии человека / В.П. Пузырев // Медицинская генетика. – 2008. – № 9. – С. 3–9.

45. Ромашов, Б.Б. Хроническая обструктивная болезнь лёгких на фоне состояния инсулинорезистентности / Б.Б. Ромашов, А.В. Чернов, Н.В. Полякова // Молодой ученый. – 2015. – № 14. – С. 80–84.

46. Рязанов, А.С. Особенности клинического течения ХОБЛ при метаболическом синдроме: роль системного воспаления / А.С. Рязанов, С.А. Киреев, Н.Н. Еременко // Ожирение и метаболизм. – 2010. – № 2. – С. 49–51.

47. Саприна, Т.В. Роль Th1/Th2 дисбаланса иммунного ответа в детерминации клинических особенностей аутоиммунного сахарного диабета взрослых / Т.В. Саприна, Ф.Э. Лазаренко, Т.С. Прохоренко и др. // Сахарный диабет. – 2011. – № 2. – С. 12–17.

48. Соодаева, С.К. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии / С.К. Соодаева, И.А. Климанов // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2009. – № 1. – С. 34–38.

49. Соодаева, С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания / С.К. Соодаева // Пульмонология. – 2012. – № 1. – С. 5–10.

50. Титова, Е.А. Сахарный диабет и болезни органов дыхания / Е.А. Титова // Пульмонология. – 2003. – № 3. – С. 101–104.

51. Федосеев, Г.Б. Многоликая бронхиальная астма, диагностика, лечение и профилактика / Г.Б. Федосеев, В.И. Трофимов, М.А. Петрова. – СПб. : НордмедИздат, 2011. – 344 с.

52. Цымбалюк, И.Ю. Динамика метаболических показателей при частичной сосудистой изоляции печени у крыс / И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов, Е.Е. Есауленко, К.И. Мелконян, В.В. Малышко, Л.В. Цыпленков // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 3. – С. 137–144.

53. Цымбалюк, И.Ю. Изменения в системе глутатиона при интраоперационной ишемии печени у крыс / И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов, К.И. Мелконян, А.П. Сторожук // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 81.

54. Чучалин, А.Г. Изменения системных воспалительных и гемостатических реакций у больных с обострением хронической обструктивной болезни легких с сопутствующими хронической сердечной недостаточностью и ожирением / А.Г. Чучалин // Пульмонология. – 2014. – № 6. – С. 25–32.

55. Чучалин, А.Г. Российское респираторное общество. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы / А.Г. Чучалин, З.Р. Айсанов, А.С. Белевский и соавт. // Пульмонология. – 2014. – № 2. – С. 11–32.

56. Ширинский, В.С. Коморбидные заболевания – актуальная проблема клинической медицины / В.С. Ширинский, И.В. Ширинский // Сибирский медицинский журнал (г. Томск). – 2014. – Т. 29. – № 1. – С. 7–12.

57. Ширинский, И.В. Использование статинов – новый подход к терапии аутоиммунных заболеваний / И.В. Ширинский, В.А. Козлов, В.С. Ширинский // Вестник РАМН. – 2009. – № 2. – С. 26–32.

58. Шмелёв, Е.И. Хроническая обструктивная болезнь лёгких / Е.И. Шмелёв. – М., 2003. – 112 с.

59. Шойхет, Я.Н. Особенности течения хронической обструктивной болезни легких у больных сахарным диабетом / Я.Н. Шойхет, Е.А. Титова,

А.И. Алгазин, Т.А. Корнилова, И.П. Сокол, Е.М. Реуцкая, Е.М. Петаева, В.М. Стребкова, В.Н. Чиркова, Л.Э. Шульгина // Пульмонология. – 2008. – № 5. – С. 60–65.

60. Шумная, Т.Е. Эпидемиология аллергических заболеваний у детей-жителей промышленного региона / Т.Е. Шумная // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2015. – Т. 94. – № 4. – С. 189–192.

61. Юдина, Т.В. Способ диагностики нарушения цитокинового баланса организма человека / Т.В. Юдина, Л.М. Сааркоппель, Е.Н. Крючкова, И.М. Коновалов, В.А. Мирзонов // Патент на изобретение RU 2463609. МПК G01N33/53. – Заявл. 01.06.2011; опубл. 10.10.2012.

62. Agrawal, A. Emerging interface between metabolic syndrome and asthma / A. Agrawal, U. Mabalirajan, T. Ahmad, B. Ghosh // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2011. – Vol. 44 (3). – P. 270–275.

63. Akdis, C. Highlighting research needs in allergy / C. Akdis, N. Papadopoulos // EAACI newsletter. – 2012. – Vol. 29. – P. 7.

64. Ammini, C.V.. Biotransformation, Toxicology and Pharmacogenomics of Dichloroacetate / C.V. Ammini, P.W. Stacpoole // The Handbook of Environmental Chemistry. – 2003. – Vol. 3. – Part P. – P. 215–234.

65. Arner, E.S. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase / E.S. Arner, A. Holmgren // Eur. J. Biochem. – 2000. – Vol. 267 (20). – P. 6102–6109.

66. Baker, E.H. Hyperglycaemia is associated with poor outcomes in patients admitted to hospital with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease / E.H. Baker, C.H. Janaway, B.J. Philips et al. // Thorax. – 2006. – Vol. 61 (4). – P. 284–289.

67. Barlow, J.L. Type-2 innate lymphoid cells in human allergic disease / J.L. Barlow, A.N. McKenzie // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. – 2014. – Vol. 14. – P. 397–403.

68. Barnes, P.J. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms / P.J. Barnes, S.D. Shapiro, R.A. Pauwels // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 22. – № 4. – P. 672–688.

69. Basov, A.A. Changing the parameters of prooxidant-antioxidant system in blood and oral fluid of patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus / A.A. Basov, V.A. Akopova, I.M. Bykov // *International Journal on Immunorehabilitation.* – 2013. – T. 15. – № 2. – C. 84–86.

70. Baty, F. Comorbidities and burden of COPD: a population based case-control study / F. Baty, P.M. Putora, B. Isenring, T. Blum, M. Brutsche // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8. (5) – e63285.

71. Bolton, C.E. Insulin resistance and inflammation – a further systemic complication of COPD / C.E. Bolton, M. Evans, A.A. Ionescu et al. // *COPD.* – 2007. – Vol. 4 (2). – P. 121–126.

72. Bouamama, S. Effects of exogenous vitamins A, C, and E and NADH supplementation on proliferation, cytokines release, and cell redox status of lymphocytes from healthy aged subjects / S. Bouamama, H. Merzouk, A. Medjdoub, A. Merzouk-Saidi, S.A. Merzouk // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* – 2017. – P. 1–9. doi: 10.1139/apnm-2016-0201

73. Bowler, R.P. Oxidative stress in allergic respiratory diseases / R.P. Bowler, J.D. Crapo // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2002. – Vol. 110 (3). – P. 349–356.

74. Boyd, C.M. Clinical practice guidelines and quality of care for older patients with multiple comorbid diseases: implications for performance / C.M. Boyd // *JAMA.* – 2005. – Vol. 294. – Iss. 6. – P. 716–724.

75. Brealey, D. Hyperglycemia in critical illness: a review / D. Brealey, Singer M. // *J. Diabet. Sci. Technol.* – 2009. – Vol. 3. – P. 1250–1260.

76. Brennan, A.L. Airway glucose concentrations and effect on growth of respiratory pathogens in cystic fibrosis / A.L. Brennan, K.M. Gyi, D.M. Wood, J. Johnson, R. Holliman, D.L. Baines et al. // *J. Cyst. Fibros.* – 2007. – Vol. 6 (2). – P. 101–109.

77. Buczko, P. Saliva and oxidative stress in oral cavity and in some systemic disorders / P. Buczko, A. Zalewska, I. Szarmach // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 66. – P. 3–9.

78. Bykov, M.I. Change of parameters in prooxidant-antioxidant bile system in patients with the obstruction of bile-excreting ducts / M.I. Bykov, A.A. Basov // *Medical news of North Caucasus.* – 2015. – Vol. 10. – Iss. 2. – P. 131–135.

79. Bykova, N. Non-invasive monitoring for local immune and antioxidant resistance in patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes / N. Bykova, A. Basov, K. Melkonyan, E. Alekseenko., K. Popov, I. Bykov // *Medical news of North Caucasus.* – 2016. – Vol. 11. – Iss. 2. – P. 147–149.

80. Caughey, G.E. Prevalence of comorbidity of chronic diseases in Australia / G.E. Caughey, A.I. Vitry, A.L. Cibert // *BMC Public Health.* – 2008. – Vol. 8. – P. 221.

81. Cazzola, M. Prevalence of comorbidities in patients with chronic obstructive pulmonary disease / M. Cazzola, G. Bettoncelli, E. Sessa, C. Cricelli, G. Biscione // *Respiration.* – 2010. – Vol. 80 (2). – P. 112–119.

82. Chatila, W.M. Comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease / W.M. Chatila, B.M. Thomashow, O.A. Minai // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2008. – Vol. 5. – P. 549–555.

83. Chung, K.F. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease / K.F. Chung // *Eur. Respir. J. Suppl.* – 2001. – Vol. 34. – P. S50–S59.

84. Chung, K.F. Molecular mechanisms of oxidative stress in airways and lungs with reference to asthma and chronic obstructive pulmonary disease / K.F. Chung, J.A. Marwick // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2010. – Vol. 1203. – P. 85–91.

85. Comhair, S.A.A. Correlation of systemic superoxide dismutase deficiency to airflow obstruction in asthma / S.A.A. Comhair, K.S. Ricci, M. Arroliga, A.R. Lara, R.A. Dweik et al. // *A. J. R. C. C. M.* – 2005. – Vol. 172 (3). – P. 306–313.

86. Corsonello, A. Comorbidities of chronic obstructive pulmonary disease / A. Corsonello, R.A. Incalzi, R. Pistelli, C. Pedone, S. Bustacchini, F. Lattanzio // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2011. – Vol. 17 (Suppl 1). – P. S21–S28.

87. Couillard, A. Comorbidities in COPD: a new challenge in clinical practice / A. Couillard, D. Veale, J.F. Muir // *Rev. Pneumol. Clin.* – 2011. – Vol. 67. – № 3. – P. 143–153.

88. Crook, M. Type 2 diabetes mellitus: a disease of the innate immune system? An update / M. Crook // *Diabet Med* . – 2004. – Vol. 21 (3). – P. 203–207.

89. Danaei, G. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants / G. Danaei, M.M. Finucane, Y. Lu, G.M. Singh, M.J. Cowan, C.J. Paciorek et al. // *Lancet*. – 2011. – Vol. 378. – P. 31–40.

90. Dzhimak, S.S. Content of deuterium in biological fluids and organs: influence of deuterium depleted water on d/h gradient and the process of adaptation / S.S. Dzhimak, M.G. Baryshev, A.A. Basov // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. – 2015. – T. 465. – № 1. – C. 370–373.

91. Dzhimak, S.S. Correction of metabolic processes in rats during chronic endotoxycosis using isotope (D/H) exchange reactions / S.S. Dzhimak, O.M. Arcybasheva, M.G. Baryshev, A.A. Basov, I.M. Bikov, L.V. Fedulova, A.S. Didikin, G.N. Naumov // *Biology Bulletin*. – 2015. – T. 42. – № 5. – P. 440–448.

92. Dzhimak, S.S. Influence of deuterium depleted water on freeze-dried tissue isotopic composition and morphofunctional body performance in rats of different generations / S.S. Dzhimak, M.G. Barishev, A.A. Basov, A.A. Timakov // *Biophysics*. – 2014. – T. 59. – № 4. – P. 614–619.

93. Ehrlich, S.F. Patients diagnosed with diabetes are at increased risk for asthma, chronic obstructive pulmonary disease, pulmonary fibrosis, and pneumonia but not lung cancer / S.F. Ehrlich, C.P. Quesenberry, S.K. Van Den Eeden, J. Shan, A. Ferrara // *Diabetes Care*. – 2010. – Vol. 33 (1). – P. 55–60.

94. Engstrom, G. Lung function, insulin resistance and incidence of cardiovascular disease: a longitudinal cohort study / G. Engstrom, B. Hedblad, P. Nilsson, P. Wollmer, G. Berglund, L. Janzon // *J. Intern. Med.* – 2003. – Vol. 253. – P. 574–581.

95. Engstrom, G. Risk of developing diabetes is inversely related to lung function: a population-based cohort study / G. Engstrom, L. Janzon // *Diabet. Med.* – 2002. – Vol. 19. – P. 167–170.

96. Fang, K. S-nitrosoglu-tathione breakdown prevents airway smooth muscle relaxation in the guinea pig / K. Fang, R. Johns, T. Macdonald, M. Kinter, B. Gaston // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2000. – Vol. 279. – P. 716–721.

97. Feary, J.R. Prevalence of major comorbidities in subjects with COPD and incidence of myocardial infarction and stroke: a comprehensive analysis using data from primary care / J.R. Feary, L.C. Rodrigues, C.J. Smith, R.B. Hubbard, J.E. Gibson // *Thorax.* – 2010. – Vol. 65. – P. 956–962.

98. Feinstein, A.R. Pretherapeutic classification of comorbidity in chronic diseases / A.R. Feinstein // *Journal Chronic Diseases.* – 1970. – Vol. 23 (7). – P. 455–468.

99. Ferraro, M. Formoterol and fluticasone propionate combination improves histone deacetylation and anti-inflammatory activities in bronchial epithelial cells exposed to cigarette smoke / M. Ferraro, M. Gjomarkaj, L. Siena, S. Di Vincenzo, E. Pace // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2017. – doi: 10.1016/j.bbadis.2017.05.003.

100. Festa, A. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) / A. Festa, R Jr. D'Agostino, G. Howard, L. Mykkanen, R.P. Tracy, S.M. Haffner // *Circulation.* – 2000. – Vol. 102 (1). – P. 42–47.

101. Forgiarini, LA. Experimental diabetes mellitus: oxidative stress and changes in lung structure / L.A. Forgiarini, N.A. Kretzmann, M. Porawski, A.S. Dias, N.A. Marroni // *J. Bras. Pneumol.* – 2009. – Vol. 35 (8). – P. 788–791.

102. Fu, J.J. Systemic inflammation in older adults with asthma-COPD overlap syndrome / J.J. Fu, V.M. McDonald, P.G. Gibson, J.L. Simpson // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2014. – Vol. 6 (4). – P. 316–324.

103. Gell, P.G.H. (1975) *Basic immunological methods. Clinical Aspects of Immunology* / P.G.H. Gell, R.R.A. Coombs. – Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975.

104. Gershon, A.S. Quantifying comorbidity in individuals with COPD: a population study / A.S. Gershon, G.C. Mcreedy, J. Guan, J.C. Victor, R. Goldstein, T. To // *Eur. Respir. J.* – 2015. – Vol. 45 (1). – P. 51–59.

105. Gershon, A.S. Quantifying health services use for chronic obstructive pulmonary disease / A.S. Gershon, J. Guan, J.C. Victor, R. Goldstein, T. To // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2013. – Vol. 187 (6). – P. 596–601.

106. Gibson, P.G. The overlap syndrome of asthma and COPD: what are its features and how important is it? / P.G. Gibson, J.L. Simpson // *Thorax.* – 2009. – Vol. 64 (8). – P. 728–775.

107. Giordano, R. Glucose metabolism in patients with subclinical Cushing's syndrome / R. Giordano, F. Guaraldi, R. Berardelli et al. // *Endocrine.* – 2012. – Vol. 41. – P. 415–423.

108. Global Initiative for Asthma. *Diagnosis of diseases of chronic airflow limitation: asthma COPD and asthma-COPD overlap syndrome (ACOS)*; 2014. URL : <http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/AsthmaCOPDOverlap.pdf>

109. Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GOLD). *Global Strategy for Diagnosis, Management and Prevention of COPD*; 2014.

110. Goleva, E. Differential control of TH1 versus TH2 cell responses by the combination of lowdose steroids with beta2adrenergic agonists / E. Goleva, A. Dunlap, D.Y. Leung // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 114. – P. 183–191.

111. Gudmundsson, G. Long-term survival in patients hospitalized for chronic obstructive pulmonary disease: a prospective observational study in the

Nordic countries / G. Gudmundsson, C.S. Ulrik, T. Gislason, E. Lindberg, E. Brondum, P. Bakke et al. // *Int. J. Chron. Obstruct Pulmon. Dis.* – 2012. – Vol. 7. – P. 571–576.

112. Halpin, D.M. Chronic obstructive pulmonary disease: the disease and its burden to society / D.M. Halpin, M. Miravitlles // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2006. – Vol. 3 (7). – P. 619–623.

113. Hardin, M. COPDGene Investigators. The clinical features of the overlap between COPD and asthma / M. Hardin, E.K. Silverman, R.G. Barr et al. // *Respir. Res.* – 2011. – Vol. 12. – P. 127.

114. Hashemzadeh, M. The occurrence of asthma in hospitalized patients with type 2 diabetes mellitus / M. Hashemzadeh, M.R. Movahed // *Intern. Med. J.* – 2009. – Vol. 39 (10). – P. 699–701.

115. Heck, S. High probability of comorbidities in bronchial asthma in Germany / S. Heck, S. Al-Shobash, D. Rapp, D.D. Le, A. Omlor, A. Bekhit, M. Flaig, B. Al-Kadah, W. Herian, R. Bals, S. Wagenpfeil, Q.T. Dinh. // *N. P. J. Prim. Care Respir. Med.* – 2017. – Vol. 27. – P. 28.

116. Hillas, G. Managing comorbidities in COPD / G. Hillas, F. Perlikos, I. Tsiligianni, N. Tzanakis // *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease.* – 2015. – Vol. 10 (1). – P. 95–109.

117. Hiremath, G. Comparing methods to collect saliva from children to analyze cytokines related to allergic inflammation / G. Hiremath, A. Olive, S. Shah, C.M. Davis, R.J. Shulman, S. Devaraj // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2015. – Vol. 114 (1). – P. 63–64.

118. Holguin, F. Comorbidity and mortality in COPD-related hospitalizations in the United States, 1979 to 2001 / F. Holguin, E. Folch, S.C. Redd, D.M. Mannino // *Chest.* – 2005. – Vol. 128. – P. 2005–2011.

119. Hu, F.B. Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women / F.B. Hu, J.B. Meigs, T.Y. Li, N. Rifai, J.E. Manson // *Diabetes.* – 2004. – Vol. 53. – P. 693–700.

120. Huddon, C. Multimorbidity in medical literature: is it commonly researched? / C. Huddon, M. Fortin, L. Lapointe et al. // *Can. Fam. Physician.* – 2005. – Vol. 51. – P. 244–245.

121. Illi, S. Natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 year and the association with asthma / S. Illi, E. Von Mutius // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 113. – P. 925–931.

122. Insuela, D.B.R. The Yin Yang of hormones that control glucose homeostasis in asthma / D.B.R. Insuela, P.M.R. Silva, M.A. Martins, V.F. Carvalho // *J. Allergy Ther.* – 2013. – Vol. 11. – P. 3–8.

123. Irifune, K. Adoptive transfer of T-helper cell type 1 clones attenuates an asthmatic phenotype in mice / K. Irifune, A. Yokoyama, K. Sakai, A. Watanabe, H. Katayama, H. Ohnishi, H. Hamada, M. Nakajima, N. Kohno, J. Higaki // *Eur. Respir. J.* – 2005. – Vol. 25. – P. 653–659.

124. Isenberg, D.A. ABC of rheumatology. Raynauds phenomenon scleroderma and overlap syndromes / D.A. Isenberg, C. Black // *British Medical Journal.* – 1995. – Vol. 310. – P. 795.

125. I-Ta Leea. Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases / I-Ta Leea, Chuen-Mao Yang. // *Biochemical Pharmacology.* – 2012. – Vol. 84. – Iss. 5. – P. 581–590.

126. Javaid, M.A. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases / M.A. Javaid, A.S. Ahmed, R. Durand, S.D. // *J. Oral. Biol. Craniofac. Res.* – 2016. – Vol. 6 (1). – P. 66–75.

127. Jee-Boong Lee. Regulation of IgE-mediated food allergy by IL-9 producing mucosal mast cells and type 2 innate lymphoid cells / Jee-Boong Lee // *Immune Netw.* – 2016. – Vol. 16 (4). – P. 211–218.

128. Jemal, A. Trends in the leading causes of death in the United States, 1970–2002 / A. Jemal, E. Ward, Y. Hao, M. Thun // *JAMA.* – 2005. – Vol. 294. – P. 1255–1259.

129. Kaczor-Urbanowicz, K.E. Saliva diagnostics – Current views and directions / K.E. Kaczor-Urbanowicz, C. Martin Carreras-Presas, K. Aro, M. Tu,

F. Garcia-Godoy, D.T. Wong // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). – 2017. – Vol. 242 (5). – P. 459–472.

130. Kinney, G.L. COPD Gene Investigators. Pulmonary function reduction in diabetes with and without chronic obstructive pulmonary disease / G.L. Kinney, J.L. Black-Shinn, E.S. Wan et al. // *Diabetes Care*. – 2014. – Vol. 37 (2). – P. 389–395.

131. Klein, O.L. Type II diabetes mellitus is associated with decreased measures of lung function in a clinical setting / O.L. Klein, D. Meltzer, M. Carnethon, J.A. Krishnan // *Respir. Med.* – 2011. – Vol. 105 (7). – P. 1095–1098.

132. Knoechel, T.R. Regulatory roles of the N-terminal domain based on crystal structures of human pyruvate dehydrogenase kinase 2 containing physiological and synthetic ligands / T.R. Knoechel, A.D. Tucker, C.M. Robinson, C. Phillips, W. Taylor, P.J. Bungay, S.A. Kasten, T.E. Roche, D.G. Brown // *Biochemistry*. – 2006. – Vol. 45. – P. 402–415.

133. Kochanek, K.D. Deaths: final data for 2009 / K.D. Kochanek, J. Xu, S.L. Murphy, A.M. Miniño, H.C. Kung // *Natl. Vital. Stat. Rep.* – 2011. – Vol. 60 (3). – P. 1–116.

134. Kucuksezer, U.C. Mechanisms of immune tolerance to allergens in children / U.C. Kucuksezer, C. Ozdemir, M. Akdis, C.A. Akdis // *Korean J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 56 (12). – P. 505–513.

135. Küpeli, E. Metabolic syndrome is associated with increased risk of acute exacerbation of COPD: a preliminary study / E. Küpeli, G. Ulubay, S.S. Ulasli, T. Sahin, Z. Erayman, A. Gürsoy // *Endocrine*. – 2010. – Vol. 38 (1). – P. 76–82.

136. Lawlor, D.A. Associations of measures of lung function with insulin resistance and Type 2 diabetes: findings from the British Women's Heart and Health Study / D.A. Lawlor, S. Ebrahim, G.D. Smith // *Diabetologia*. – 2004. – Vol. 47 (2). – P. 195–203.

137. Lee, J.B. IL-25 and CD4(+) TH2 cells enhance type 2 innate lymphoid cell-derived IL-13 production, which promotes IgE-mediated experimental food

allergy / J.B. Lee, C.Y. Chen, B. Liu, L. Mugge, P. Angkasekwinai, V. Facchinetti, C. Dong, Y.J. Liu, M.E. Rothenberg, S.P. Hogan, F.D. Finkelman, Y.H. Wang // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2016. – Vol. 137. – P. 1216–1225.

138. Li Zuoa. Molecular mechanisms of reactive oxygen species-related pulmonary inflammation and asthma / Li Zuoa, N.P. Otenbakera, B.A. Rosea, K.S. Salisbury. // *Molecular Immunology.* – 2013. – Vol. 56. – Iss. 1–2. – P. 57–63.

139. Lisicin, A.B. Influence of deuterium depleted water on the organism of laboratory animals in various functional conditions of nonspecific protective systems / A.B. Lisicin, A.S. Didikin, L.V. Fedulova, I.M.Chernuha, M.G. Barishev, E.E. Tekutskaya, S.S. Dzhimak, A.A. Basov, E.V. Barisheva, I.M. Bikov, A.A. Timakov // *Biophysics.* – 2014. – T. 59. – № 4. – C. 620–627.

140. Litonjua, A.A. Lung function in type 2 diabetes: the Normative Aging Study / A.A. Litonjua, R. Lazarus, D. Sparrow, D. Demolles, S.T. Weiss // *Respir. Med.* – 2005. – Vol. 99 (12). – P. 1583–1590.

141. Liu, B. Collaborative interactions between type 2 innate lymphoid cells and antigen-specific CD4+ Th2 cells exacerbate murine allergic airway diseases with prominent eosinophilia / B. Liu, J.B. Lee, C.Y. Chen, G.K. Hershey, Y.H. Wang // *J. Immunol.* – 2015. – 194 (8). – P. 3583–3593.

142. Liu, J. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring / J. Liu, Y. Duan // *Oral. Oncol.* – 2012. – Vol. 48. – P. 569–77.

143. Lugtenberg, M. Current guidelines have limited applicability to patients with comorbid conditions: a systematic analysis of evidence-based guidelines / M. Lugtenberg, J.S. Burgers, C. Clancy, G.P. Westert, E.C. Schneider // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6. – e25987.

144. Luijks, H. Prevalence and incidence density rates of chronic comorbidity in type 2 diabetes patients: an exploratory cohort study / H. Luijks, T. Schermer, H. Bor, C. Van Weel, T. Lagro-Janssen, M. Biermans et al. // *BMC Med.* – 2012. – Vol. 10. – P. 128.

145. Maneechotesuwan, K. Suppression of GATA3 nuclear import and phosphorylation: a novel mechanism of corticosteroid action in allergic disease /

K. Maneechotesuwan, X. Yao, K. Ito et al. // *PLoS Med.* – 2009. – Vol. 6. – e1000076.

146. Mannino, D.M. Prevalence and outcomes of diabetes, hypertension and cardiovascular disease in COPD / D.M. Mannino, D. Thorn, A. Swensen, F. Holguin // *Eur. Respir. J.* – 2008. – Vol. 32. – P. 962–969.

147. Manson, J.E. A prospective study of cigarette smoking and the incidence of diabetes mellitus among US male physicians / J.E. Manson, U.A. Ajani, S. Liu, D.M. Nathan, C.H. Hennekens // *Am. J. Med.* – 2000. – Vol. 109. – P. 538–542.

148. Mapel, D.W. Health care utilization in chronic obstructive pulmonary disease: a case-control study in a health maintenance organization / D.W. Mapel, J.S. Hurley, F.J. Frost, H.V. Petersen, M.A. Picchi, D.B. Coultas // *Arch. Intern. Med.* – 2000. – Vol. 160. – P. 2653–2658.

149. Marhoffer, W. Impairment of polymorphonuclear leukocyte function and metabolic control of diabetes / W. Marhoffer, M. Stein, E. Maeser, K. Federlin // *DiabetesCare.* – 1992. – Vol. 15 (2). – P. 256–260.

150. Marsh, S.E. Proportional classifications of COPD phenotypes / S.E. Marsh, J. Travers, M. Weatherall et al. // *Thorax.* – 2008. – Vol. 63 (9). – P. 761–767.

151. Marshall, H.E. NO waiting to exhale in asthma / H.E. Marshall, J.S. Stamler // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 161. – P. 685–687.

152. Marti, S. Body weight and comorbidity predict mortality in COPD patients treated with oxygen therapy / S. Marti // *Eur. Respir. J.* – 2006. – Vol. 27 (4). – P. 689–696.

153. Martinez-Ceron, E. Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Diabetes Mellitus, Chronic Obstructive Pulmonary Disease – Current Concepts and Practice / E. Martinez-Ceron, B. Barquiel, L.F. Pallardo, R. Alvarez-Sala // Dr. Kian-Chung Ong (Ed.), 2012. – ISBN: 978-953-51-0163-5.

154. McMahon, G.T. Inhaled insulin for diabetes mellitus / G.T. McMahon, R.A. Arky // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 356. – P. 497–502.

155. Miguel, A. Comorbidity and mortality in peritoneal dialysis / A. Miguel // *Nephron*. – 2002. – Vol. 90 (3). – P. 290–296.

156. Mikkonen, J.J. Salivary metabolomics in the diagnosis of oral cancer and periodontal diseases / J.J. Mikkonen, S.P. Singh, M. Herrala, R. Lappalainen, S. Myllymaa, A.M. Kullaa // *J. Periodontal. Res.* – 2016. – Vol. 51. – P. 431–437.

157. Miller, J. Comorbidity, systemic inflammation and outcomes in the ECLIPSE cohort / J. Miller, L.D. Edwards, A. Agusti, P. Bakke, P.M. Calverley, B. Celli et al. // *Respir. Med.* – 2013. – Vol. 107 (9). – P. 1376–1384.

158. Mio, T. Cigarette smoke induced interleukin-8 release from human bronchial epithelial cells / T. Mio // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1997. – Vol. 155 (5). – P. 1770–1776.

159. Muraro, A. Skin prick test at the European parliament and written declaration / A. Muraro // *EAACI Newsletter*. – 2014. – T. 34. – Vol. 1. – P. 9.

160. Nadeem, A. Airway and systemic oxidant-antioxidant dysregulation in asthma: a possible scenario of oxidants spill over from lung into blood / A. Nadeem, N. Siddiqui, N.O. Alharbi, M.M. Alharbi // *Pulm. Pharmacol. Ther.* – 2014. – Vol. 29 (1). – P. 31–40.

161. Nakamaru, Y. Oxidative stress regulates IL-4 gene expression in mast cells through the reduction of histone deacetylase / Y. Nakamaru, D. Takagi, A. Homma, S. Hatakeyama, S. Fukuda // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2015. – Vol. 152 (1). – P. 48–52.

162. Ni, H. COPD-related mortality by sex and race among adults aged 25 and over: United States, 2000-2014 / H. Ni, J. Xu // Hyattsville (MD): National Center for Health Statistics; 2016.

163. Niefeld, M.R. Preventable hospitalization among elderly Medicare beneficiaries with type 2 diabetes / M.R. Niefeld, J.B. Braunstein, A.W. Wu, C.D. Saudek, W.E. Weller, G.F. Anderson // *Diabetes Care*. – 2003. – Vol. 26. – P. 1344–1349.

164. Ohshima, Y. Early sensitization to house dust mite is a major risk factor for subsequent development of bronchial asthma in Japanese infants with atopic

dermatitis: results of a 4-year followup study / Y. Ohshima, A. Yamada, M. Hiraoka, K. Katamura, S. Ito, T. Hirao, H. Akutagawa, N. Kondo, A. Morikawa, M. Mayumi // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2002. – Vol. 89. – P. 265–270.

165. Papadopoulos, N.G. Research needs in allergy: an EAACI position paper, in collaboration with EFA / N.G. Papadopoulos, I. Agache, S. Bavbek et al. // *Clin. Transl. Allergy.* – 2012. – T. 21. – № 2. – doi: 10.1186/2045-7022-2-21.

166. Parappil, A. Effect of comorbid diabetes on length of stay and risk of death in patients admitted with acute exacerbations of COPD / A. Parappil, B. Depczynski, P. Collett, G.B. Marks // *Respirology.* – 2010. – Vol. 15 (6). – P. 918–922.

167. Park, S.K. Metabolic syndrome and associated factors in people with chronic obstructive pulmonary disease / S.K. Park, J.L. Larson // *West J. Nurs. Res.* – 2014. – Vol. 36 (5). – P. 620–642.

168. Perez, M.K. Metabolic asthma: is there a link between obesity, diabetes, and asthma? / M.K. Perez, G. Piedimonte // *Immunol. Allergy Clin. N. Am.* – 2014. – Vol. 34 (4). – P. 777–784.

169. Platts-Mills, T.A. The allergy epidemics: 1870-2010 / T.A. Platts-Mills // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 136. – P. 3–13.

170. Pradhan, A.D. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus / A.D. Pradhan, J.E. Manson, N. Rifai, J.E. Buring, P.M. Ridker // *JAMA.* – 2001. – Vol. 286. – P. 327–334.

171. Rabe, K.F. COPD and Comorbidity / K.F. Rabe, J.A. Wedzicha, E.F.M. Wouters // *Eur. Respir. Soc. Monograph.* – 2013.

172. Rahman, I. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases / I. Rahman, S.K. Biswas, A. Kode // *Eur. J. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 533. – P. 222–239.

173. Rahman, I. Oxidative stress in pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease: cellular and molecular mechanisms / I. Rahman // *Cell. Biochem. Biophys.* – 2005. – Vol. 43. – P. 167–188.

174. Rana, J.S. Chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and risk of type 2 diabetes in women / J.S. Rana, M.A. Mittleman, J. Sheikh, F.B. Hu, J.E. Manson, G.A. Colditz, F.E. Speizer, R.G. Barr, C.A.Jr. Camargo // *Diabetes Care*. – 2004. – Vol. 27. – P. 2478–2484.

175. Reinke, S.N. Metabolomics analysis identifies different metabotypes of asthma severity / S.N. Reinke, H. Gallart-Ayala, C. Gómez, A. Checa, A. Fauland, S. Naz, M.A. Kamleh, R. Djukanović, T.S. Hinks, C.E. Wheelock // *European Respiratory Journal*. – 2017. – Vol. 49. – doi: 10.1183/13993003.01740-2016.

176. Ritz, T. Exhaled nitric oxide decreases during academic examination stress in asthma / T. Ritz, A.F. Trueba, J. Liu, R.J. Auchus, D. Rosenfield // *Ann. Am. Thorac. Soc.* – 2015. – Vol. 12 (11). – P. 1638–1645.

177. Rogliani, P. Diabetes mellitus among outpatients with COPD attending a university hospital / P. Rogliani, L. Calzetta, A. Segreti, A. Barrile, M. Cazzola // *Acta Diabetol.* – 2014. – Vol. 51 (6). – P. 933–940.

178. Sackesen, C. A comprehensive evaluation of the enzymatic and nonenzymatic antioxidant systems in childhood asthma / C. Sackesen, H. Ercan, E. Dizdar, O. Soyer, P. Gumus, B.N. Tosun, Z. Büyüktuncer, E. Karabulut, T. Besler, O. Kalayci // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 122 (1). – P. 78–85.

179. Sandler, M. Cross-section study of pulmonary function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus / M. Sandler, A.E. Bunn, R.I. Stewart // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1987. – Vol. 135 (1). – P. 223–229.

180. Scola, A.M. The longacting betaadrenoceptor agonist, indacaterol, inhibits IgE dependent responses of human lung mast cells / A.M. Scola, M. Loxham, S.J. Charlton, P.T. Peachell // *Br. J. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 158. – P. 267–276.

181. Semianchuk, V. Indicators of phagocytic component and secretory IgA in children with bronchial asthma secondary to undifferentiated connective tissue dysplasia / V. Semianchuk, L. Haridzhuk, O. Bobrykovych // *Georgian Med. News*. – 2016. – Vol. 11. – P. 61–67.

182. Sharafkhaneh, A. Burden of COPD in a government health care system: a retrospective observational study using data from the US Veterans Affairs population / A. Sharafkhaneh, N. Petersen, H.J. Yu, A.A. Dalal, M.L. Johnson, N.A. Hanania // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2010. – Vol. 5. – P. 125–132.

183. Sheiner, E. Pregnancy outcome of asthmatic patients: a populationbased study / E. Sheiner, M. Mazor, A. Levy et al. // *J. Matern. Fetal Neonat. Med.* – 2005. – Vol. 18. – P. 237–240.

184. Sidney, S. COPD and incident cardiovascular disease hospitalizations and mortality: Kaiser Permanente Medical Care Program / S. Sidney, M. Sorel, C.P.Jr. Quesenberry, C. De Luise, S. Lanes, M.D. Eisner // *Chest.* – 2005. – Vol. 128. – P. 2068–2075.

185. Singh, J.A. Utilization due to chronic obstructive pulmonary disease and its predictors: a study using the U.S. / J.A. Singh, S. Yu. // *National Emergency Department Sample (NEDS) Respiratory Research.* – 2016. – Vol. 17. – P. 1.

186. Sode, B.F. Myocardial infarction and other co-morbidities in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a Danish nationwide study of 7.4 million individuals / B.F. Sode, M. Dahl, B.G. Nordestgaard // *Eur. Heart. J.* – 2011. – Vol. 32 (19). – P. 2365–2375.

187. Song, Y. Asthma, chronic obstructive pulmonary disease, and type 2 diabetes in the Women's Health Study / Y. Song, A. Klevak, J.E. Manson, J.E. Buring, S. Liu // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2010. – Vol. 90 (3). – P. 365–371.

188. Soriano, J.B. Patterns of comorbidities in newly diagnosed COPD and asthma in primary care / J.B. Soriano, G.T. Visick, H. Muellerova, N. Payvandi, A.L. Hansell // *Chest.* – 2005. – Vol. 128 (4). – P. 2099–2107.

189. Stacpoole, P.W. Efficacy of dichloroacetate as a lactate-lowering drug / P.W. Stacpoole, N.V. Nagaraja, A.D. Hutson // *Journal of clinical pharmacology.* – 2003. – Vol. 43 (7). – P. 683–691.

190. Stacpoole, P.W. Role of Dichloroacetate in the Treatment of Genetic Mitochondrial Diseases / P.W. Stacpoole, T.L. Kurtz, Z. Han, T. Langae // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2008. – Vol. 60 (0). – P. 1478–1487.

191. Su, W.Y. Extracellular superoxide dismutase mRNA expressions in the human lung by in situ hybridization / W.Y. Su, R. Folz, J.S. Chen, J.D. Crapo, L.Y. Chang // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 1997. – Vol. 16. – P. 162–170.

192. Sugiura, H. Oxidative and nitrative stress in bronchial asthma / H. Sugiura, M. Ichinose // *Antioxid. Redox Signal.* – 2008. – Vol. 10 (4). – P. 785–797.

193. Te-Wei, Ho. Diabetes mellitus in patients with chronic obstructive pulmonary disease – The impact on mortality / Te-Wei Ho, Chun-Ta Huang, Sheng-Yuan Ruan, Yi-Ju Tsai, Feipei Lai, Chong Jen Yu // *PLoSOne*. – 2017. – Vol. 12 (4). – e0175794.

194. Tkacova, R. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: may adipose tissue play a role? Review of the literature and future perspectives / R. Tkacova // *Mediators Inflamm.* – 2010. – doi: 10.1155/2010/585989.

195. Torres, R.C. Mecanismos celulares e moleculares da acao antiinflamatoria dos glicocorticoides / R.C. Torres, D.B.R. Insuela, V.F. Carvalho // *Corpus et Scientia*. – 2012. – Vol. 8. – P. 36–51.

196. Uzunlulu, M. Is prevalence of metabolic syndrome high in patients with asthma? / M. Uzunlulu, A. Oguz, C. Gedik et al. // *Acta Clinica Belgica*. – 2011. – №1. – P. 49–52.

197. Vachier, I. Enhancement of reactive oxygen species formation in stable and unstable asthmatic patients / I. Vachier, P. Chanez, C. Le Doucen, M. Damon, B. Descomps, P. Godard // *Eur. Respir. J.* – 1994. – Vol. 7. – P. 1585–1592.

198. Van der Vliet, A. Determination of low-molecular-mass antioxidant concentrations in human respiratory tract lining fluids / A. Van der Vliet, C.A. O'Neill, C.E. Cross et al. // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276. – P. 289–296.

199. Van der Vliet, A. Reactive nitrogen species and tyrosine nitration in the respiratory tract: epiphenomena or a pathobiologic mechanism of disease? / A. van der Vliet, J.P. Eiserich, M.K. Shigenaga, C.E. Cross // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 160. – P. 1–9.

200. Van Manen, J.G. Prevalence of comorbidity in patients with a chronic airway obstruction and controls over the age of 40 / J.G. Van Manen, P.J. Bindels, C.J. IJzermans, J.S. van der Zee, B.J. Bottema, E. Schade // *J. Clin. Epidemiol.* – 2001. – Vol. 54. – P. 287–293.

201. Viardot, A. Potential antiinflammatory role of insulin via the preferential polarization of effector T cells toward a T helper 2 phenotype / A. Viardot, S.T. Grey, F. Mackay, D. Chisholm // *Endocrinology.* – 2007. – Vol. 148. – P. 346–353.

202. Wang, P.S. Effects of noncardiovascular comorbidities on antihypertensive use in elderly hypertensives / P.S. Wang, J. Avorn, M.A. Brookhart // *Hypertension.* – 2005. – Vol. 46 (2). – P. 273–279.

203. Wang, Y. Factors associated with a prolonged length of stay after acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) / Y. Wang, K. Stavem, F.A. Dahl, S. Humerfelt, T. Haugen // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2014. – Vol. 9. – P. 99–105.

204. Westney, G. Impact of comorbidities among medicaid enrollees with chronic obstructive pulmonary disease, United States, 2009 / G. Westney, M.G. Foreman, J. Xu, M. Henriques King, E. Flenaugh, G. Rust // *Prev. Chronic. Dis.* – 2017. – Vol. 14. – doi: <http://dx.doi.org/10.5888/pcd14.160333>.

205. Wild, S. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030 / S. Wild, G. Roglic, A. Green, R. Sicree, H. King // *Diabetes Care.* – 2004. – Vol. 27 (5). – P. 1047–1053.

206. Will, J.C. Cigarette smoking and diabetes mellitus: evidence of a positive association from a large prospective cohort study / J.C. Will, D.A. Galuska, E.S. Ford, A. Mokdad, E.E. Calle // *Int. J. Epidemiol.* – 2001. – Vol. 30. – P. 540–546.

207. Williams, H.C. Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood / H.C. Williams et al. // J. Allergy. Clin.Immunol. –1999. – Vol. 103. – P. 125–138.

208. Yadav, A.S. Evaluation of systemic antioxidant level and oxidative stress in relation to lifestyle and disease progression in asthmatic patients / A.S. Yadav, M. Saini // J. Med. Biochem. – 2016. – Vol. 35 (1). – P. 55–62.

209. You Sook Cho. The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Asthma / You Sook Cho, Hee-Bom Moon // Allergy Asthma Immunol. Res. – 2010. – Vol. 2 (3). – P. 183–187.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

УТВЕРЖДАЮ  
Проректор по УиВР  
ФГБОУ ВО КубГМУ  
Минздрава России

д.м.н., профессор Т.В. Гайворонская  
2017 20/14

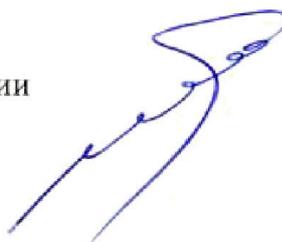


АКТ

об использовании предложения в учебном процессе

1. Наименование предложения: "Основы патобиохимии заболеваний дыхательной системы".
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимические и иммунологические особенности фенотипов коморбидности бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких, атопического дерматита и сахарного диабета 2 типа".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России Алексеенко Елена Александровна.
4. Научный руководитель: заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, доктор медицинских наук, профессор И.М. Быков.
5. Дата использования предложения: с мая 2017 года.
6. Эффективность внедрения: материалы диссертационного исследования используются для чтения лекций и проведения практических занятий со студентами 2-го курса в рамках дисциплины «Биологическая химия» и 6-го курса в рамках дисциплины «Клиническая биохимия».

Заведующий кафедрой  
фундаментальной и клинической биохимии  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
д.м.н., профессор



И.М. Быков

Автор предложения



Е.А. Алексеенко

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-исследовательской  
работе ФГБОУ ВО КубГМУ  
Минздрава России, д.м.н., профессор

А.Н. Редько  
« 30 » \_\_\_\_\_ 20 17 г.

АКТ

об использовании предложения

1. Наименование предложения: алгоритмы расширенного спектра биохимических и иммунологических исследований при сочетанном течении сахарного диабета 2 типа, бронхиальной астмы, атопическом дерматите и ХОБЛ.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимические и иммунологические особенности фенотипов коморбидности бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких, атопического дерматита и сахарного диабета 2 типа".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России Алексеенко Елена Александровна.
4. Научный руководитель: заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, доктор медицинских наук, профессор И.М. Быков.
5. Дата использования предложения: с мая 2017 года
6. Эффективность внедрения:  
Предложенные алгоритмы, в дополнение к стандартным диагностическим подходам, позволяют осуществлять дифференциальную диагностику состояния больных с различными вариантами сочетанного течения сахарного диабета 2 типа, бронхиальной астмы, атопическом дерматите и ХОБЛ.

Заведующая Центральной  
научно-исследовательской лабораторией  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
д.б.н., профессор



Н.В. Колесникова

Автор предложения



Е.А. Алексеенко

УТВЕРЖДАЮ  
 Главный врач  
 ГБУЗ "Клинический  
 кожно-венерологический диспансер"  
 министерства здравоохранения  
 Краснодарского края  
 М.И. Глузмин  
 "04" \_\_\_\_\_ 2017 г.



## АКТ

об использовании предложения в лечебно-диагностическом процессе

1. Наименование предложения: диагностический алгоритм оценки метаболических нарушений у больных с сочетанным течением атопического дерматита и бронхиальной астмы.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимические и иммунологические особенности фенотипов коморбидности бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких, атопического дерматита и сахарного диабета 2 типа".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России Алексеенко Елена Александровна.
4. Научный руководитель: заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, доктор медицинских наук, профессор И.М. Быков.
5. Дата использования предложения: с мая 2017 года
6. Эффективность внедрения:  
Предложенный алгоритм расширенных спектров биохимических и иммунологических исследований в дополнение к стандартным подходам лабораторной диагностики позволяет более объективно оценивать текущее состояние больного и обосновать персонифицированную тактику терапии.

Зав. женским стационарным отделением

А.А. Хотко

Автор предложения

Е.А. Алексеенко



УТВЕРЖДАЮ

Главный врач

ГБУЗ "Краевая клиническая  
больница № 2"министерства здравоохранения  
Краснодарского края

Г.А. Пенжоян

09 2017 г.



## АКТ

об использовании предложения в лечебно-диагностическом процессе

1. Наименование предложения: алгоритм неинвазивной диагностики нарушений иммунологической реактивности и оксидативного статуса у больных с заболеваниями дыхательной системы и при их сочетанном течении с сахарным диабетом 2 типа.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация "Биохимические и иммунологические особенности фенотипов коморбидности бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких, атопического дерматита и сахарного диабета 2 типа".
3. Исполнитель: соискатель кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России Алексеенко Елена Александровна.
4. Научный руководитель: заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, доктор медицинских наук, профессор И.М. Быков.
5. Дата использования предложения: с июня 2017 года
6. Эффективность внедрения: Предложенный диагностический алгоритм позволяет оптимизировать мониторинг состояния больных с заболеваниями дахательной системы и сахарным диабетом 2 типа, минимизировав инвазивные вмешательства, что имеет особенное значения у геронтологических больных.

И.о. зав. пульмонологическим отделением

Д.В. Дремов

Автор предложения

Е.А. Алексеенко