­­­­ *На правах рукописи*

**МАКАРЬЯНЦ НАТАЛЬЯ НИКОЛАЕВНА**

**ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЭКЗОГЕННОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО АЛЬВЕОЛИТА**

**14.01.25 - ПУЛЬМОНОЛОГИЯ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени**

**доктора медицинских наук**

**МОСКВА- 2013**

Работа выполнена в Федеральном Государственном Бюджетном Учреждении «Центральном научно-исследовательском институте туберкулеза» РАМН (директор – член-корреспондент РАМН, профессор, доктор медицинских наук Ерохин В.В.).

**Научные консультанты:**

Доктор медицинских наук, профессор **Шмелев Евгений Иванович**

Доктор биологических наук, профессор **Лепеха Лариса Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

**Дворецкий Леонид Иванович,** доктор медицинских наук, профессор, МГМУ им. И.М. Сеченова, кафедра госпитальной терапии 2 лечебного факультета ,зав. кафедрой

**Дидковский Николай Антонович**, доктор медицинских наук, профессор, Институт физико-химической медицины Минздрава РФ, зав. лабораторией клинической иммунологии

**Васильева Ольга Сергеевна,** доктор медицинских наук, профессор, Научно-исследовательский институт пульмонологии, зав. лабораторией диагностики и лечения эколого-зависимых и профессиональных заболеваний легких

**Ведущая организация:**

ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова».

Защита состоится **«9»** июля 2013 в 13.00 ч. на заседании диссертационного совета Д 001.052.01 в ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» РАМН по адресу: 107564, г. Москва, Яузская аллея, д.2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «ЦНИИТ» РАМН (107564, г. Москва, Яузская аллея, д.2.)

Автореферат разослан «\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2013г.

Ученый секретарь диссертационного совета

При ФГБУ «ЦНИИТ РАМН»

Доктор медицинских наук Юхименко Н.В.

**ВВЕДЕНИЕ**

**Актуальность исследования**

За последние годы распространенность ЭАА значительно возросла, что связано с развитием частного предпринимательства в промышленности, сельском хозяйстве и сфере услуг, а так же ухудшением экологической обстановки в больших городах (Мухин Н.А., 2007; Васильева О.С., 2007; D.B. Flieder, 2004; F.W. Fraunfelder, 2004). Клинико-рентгенологическая картина и функциональные изменения при ЭАА чрезвычайно разнообразны и представлены широким спектром различных по тяжести изменений, что зависит от характера и длительности антигенного воздействия, во многом определяющих развитие того или иного варианта заболевания (Чучалин А.Г., 2007). Поэтому в повседневной практике ЭАА в большинстве случаев своевременно не диагностируется, что приводит к неадекватному лечению и дальнейшему прогрессированию аллергического альвеолита. Диагностические ошибки по данным ряда авторов достигают 60-75% (Илькович М.М, , Кокосов А.Н., 2005; Шмелев Е.И., 2004; Филиппов В.П., 2006), что требует специального изучения и выбора наиболее информативных методов верификации различных вариантов этого заболевания.

Рентгенологическое обследование больных ЭАА не всегда включает компьютерную томографию легких высокого разрешения (КТВР) и часто ограничивается анализом обзорных рентгенограмм. Расширенная характеристика КТВР с учетом патогенеза и сопоставления с данными морфологического исследования, проводится единичными специалистами (Тюрин И.С.,2007; Антипова А.В., 2008). При этом ряд вопросов по-прежнему требует дальнейшей детализации и осмысления. Оценка состояния функции легких при экзогенных альвеолитах зачастую ограничивается показателями спирометрии и газового состава крови, что не позволяет в полной мере установить вариант заболевания в каждом конкретном случае. Определение газообменной функции с оценкой диффузионной способности легких и коэффициента диффузии выполняются достаточно редко, т.к. требуют современного оборудования и специальной подготовки персонала. Еще реже проводится комплексное бронхологическое обследование больных с получением бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и чрезбронхиальной биопсии легкого (ЧБЛ). В оценке тканевых и клеточных реакций необходимо использовать возможности новых технологий и современных методов исследования клинического материала: конфокальной лазерной микроскопии, проточной цитофлюирометрии и др. При анализе крови наряду с традиционным определением уровня иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) и преципитирующих антител, важное значение приобретает изучение субпопуляционного состава лимфоцитов и характеристика Т и В-клеточного иммунитета. Отсутствие диагностического алгоритма для разных вариантов ЭАА во многом осложняет разработку программ адекватного лечения таких больных. Применение системных глюкокортикостероидных (ГКС) препаратов остается на сегодняшний день практически единственным методом лечения вне зависимости от характера и варианта течения заболевания. Однако, побочные эффекты при длительном использовании ГКС (увеличение массы тела, депрессия, снижение толерантности к глюкозе, язвенное поражение желудочно-кишечного тракта, оппортунистические инфекции) зачастую требую отмены препарата. Наличие тяжелых сопутствующих заболеваний у больных ЭАА так же ограничивает назначение ГКС в общепринятых дозах. Их снижение возможно при использовании других средств патогенетической терапии, однако, это направление до сих пор не получило должного развития. В отдельных случаях у больных с высоким уровнем IgG в крови применяют методы гемафереза. При этом назначение гемафереза носит скорее эмпирический характер и применяется в сочетании с системными ГКС. Вместе с тем в пульмонологической практике успешно применяют ингаляционные ГКС препараты (флютиказон, будесонид и др.) в лечении другого аллергического заболевания – бронхиальной астмы. Однако, возможности ингаляционной ГКС терапии при ЭАА практически не изучены. Известно, что препараты амброксола и его производные усиливают функцию не только бокаловидных клеток, но и альвеолоцитов 2 типа и являются стимулятором выработки эндогенного сурфактанта – природного активатора альвеолярных макрофагов (Лепеха Л.Н., 1995; Ерохин В.В., Лепеха Л.Н., 2004; Карпина Н.Л., 2007). Учитывая ключевую роль альвеолярных макрофагов в патогенезе иммунноклеточного воспаления, представляется обоснованным включение амброксола - опосредованного активатора этих клеток, в схему лечения больных с подострым вариантом ЭАА. Другой муколитик - N-ацетилцистеин (NAC), получил в последнее время широкую известность как антиоксидант, оказывающий ингибирующее влияние на генерацию активных форм кислорода и антиперекисную активность плазмы (Чучалин А.Г. 2007; Мухин Н.А., 2007). Публикации отдельных авторов (Colbi, 2004; Болевич С.Б., Коган Е.А. и соавт., 2007) указывают на эффективное применение NAC в лечении больных фиброзирующими альвеолитами. Использование этого препарата в терапии больных с хроническим течением ЭАА представляет определенный практический интерес, хотя до сих пор у этой категории больных он не применялся. Все это раскрывает потенциальные возможности комплексной терапии у больных с различными вариантами ЭАА, своевременная верификация которых приобретает важное практическое значение.

**Цель исследования.**

Повысить эффективность лечения больных с экзогенным аллергическим альвеолитом за счет изучения патогенеза, оптимизации диагностики различных вариантов заболевания и разработки адекватной комплексной терапии для каждого из них.

**Задачи исследования.**

1. Сопоставить данные клинической и компьютерно-томографической картины ЭАА в зависимости от длительности, характера и природы воздействия этиологических факторов (аллергенов).
2. Определить показатели газообменной функции легких, бронхиальной проходимости, легочных объемов и емкостей с помощью спирографии, бодиплетизмографии, исследовании диффузионной способности легких при разных вариантах ЭАА.
3. Изучить гистологические особенности респираторного отдела при различных вариантах ЭАА по материалам трансбронхиальной и видеоторакотомической биопсии легкого.
4. Изучить клеточный состав, определить уровень лимфоцитарного апоптоза, провести субпопуляционный анализ лимфоцитов и макрофагов в материале БАЛ и крови больных с разным течением ЭАА.
5. Оценить эффективность применения глюкокортикортикостероидных препаратов при разных режимах дозирования и способах введения в зависимости от варианта ЭАА.
6. Разработать режимы применения экстракорпоральных методов лечения при остром варианте ЭАА.
7. Разработать схемы и оценить эффективность комплексной терапии при подостром и хроническом вариантах ЭАА: ингаляционного применения амброксола и высоких доз N-ацетилцистеина.

**Научная новизна исследования.**

1. На основании комплексной клинической, функциональной, компьютерно-томографической и цитоморфологической оценки состояния органов дыхания с привлечением новых технологий и современных методов исследования клинического материала, изучен патогенез и характерные проявления различных вариантов ЭАА, из которых предлагается выделить четыре: острый, подострый, хронический, рецидивирующий. Последний обоснован и выделен впервые.
2. Установлено, что острый и рецидивирующий варианты ЭАА наиболее часто вызваны массивной экспозицией плесневых и дрожжеподобных грибов, подострый – белками животного происхождения, хронический – длительным «мелкодозированным» контактом с бумажной и строительной пылью.
3. Впервые дана сравнительная характеристика тканевых и клеточных реакций при различных вариантах ЭАА, показана их тесная взаимосвязь с особенностями развития иммуннокомплексного воспаления в дистальных отделах легкого. Продемонстрировано определяющее значение современного цитологического и гистологического исследования БАЛ и биоптатов легочной ткани для окончательной верификации диагноза и определения характера воспалительного процесса при экзогенном воздействии на органы дыхания.
4. Обобщены и выделены характерные КТ особенности для каждого варианта ЭАА, показана их взаимосвязь с клинической, морфологической картиной заболевания и функциональными отклонениями.
5. Впервые определены показатели макрофагальной формулы БАЛ, уровень некроза и апоптоза лимфоцитов, индекс соотношения CD4/CD8, в том числе в периферической крови, доказана их диагностическая значимость для каждого из 4 вариантов ЭАА.
6. Впервые разработаны и научно обоснованы новые схемы комплексного лечения ЭАА с учетом особенностей патогенеза и характера течения заболевания: использование ингаляционной терапии флютиказоном в сочетании с плазмаферезами при остром варианте, применение амброксола в качестве опосредованного активатора альвеолярных макрофагов – при подостром. Доказано, что использование высоких доз N-ацетилцистеина в сочетании с системными ГКС в лечении больных с хроническим вариантом ЭАА менее эффективно, чем комбинация ГКС и цитостатических препаратов.

**Практическая значимость.**

1. Показана необходимость выделения 4 вариантов ЭАА: острого, подосторого, хронического, рецидивирующего. Для каждого из них предложен диагностический алгоритм, включающий кумулятивный индекс (КИ), компьютерную томографию легких высокого разрешения (КТВР), функцию дыхания и морфологические данные.
2. Показана высокая диагностическая и прогностическая значимость бронхологических методов исследования с получением материалов биопсии легкого и особенно БАЛ для последующей оценки макрофагальной формулы, субпопуляционного состава лимфоцитов и уровня лимфоцитарного апоптоза, что определяет необходимость их включения их в обязательную диагностическую программу обследования больного ЭАА.
3. Установлена эффективность цитофлюориметрического исследования периферической крови с изучением относительного процентного содержания Т и В лимфоцитов, НК- клеток, соотношения CD4/CD8 для характера течения ЭАА. Показано, что традиционное определение уровня преципитирующих антител и иммуноглобулинов класса M и G имеет значение только при остром варианте заболевания.
4. Разработан комплекс лечебных мероприятий с учетом особенностей патогенеза и течения заболевания, что позволило добиться такой же эффективности как при традиционной терапии системными ГКС, но снизить число и выраженность нежелательных побочных эффектов «стероидной» терапии. При остром варианте комплекс терапевтических мероприятий, включающих комбинацию флютиказона (2500 мг/сут.) и плазмафереза, позволил полностью отказаться от применения системных ГКС, при подостром - снизить дозу применяемых системных ГКС вдвое.

**Положения выносимые на защиту.**

1. На основании изучения патогенеза и особенностей клинических, компьютерно-томографических и функциональных проявлений ЭАА выделены четыре варианта его течения: острый, подострый, хронический, рецидивирующий.
2. Дана характеристика клинических, рентгенологических, функциональных и морфологических проявлений каждого из вариантов ЭАА с учетом характера, длительности и природы воздействия этиологических факторов (аллергенов).
3. Определены показатели тканевых и клеточных реакций в легочной ткани, материале БАЛ и периферической крови для лабораторной диагностики различных вариантов ЭАА.
4. Установлено, что использование в лечении острого варианта ЭАА высоких доз флютиказона (до 2500 мкг) в комплексе с плазмаферезами является не менее эффективным методом терапии, чем применение системных ГКС в дозе 15 мг/сутки.
5. Разработана и апробирована схема комплексного лечения подострого варианта ЭАА с применением амброксола как опосредованного активатора макрофагальной реакции. Установлено, что длительная ингаляционная терапия амброксолом (в дозе 15 мг/сутки) позволяет снизить дозу системных ГКС до 10 мг/сутки и добиться эффективного лечения больных этой группы.
6. Показано, что использование высоких доз N-ацетилцистеина (1800мг/сутки) в сочетании с системными ГКС малоэффективно при наличии фиброзных изменений, характерных для хронического ЭАА.
7. Предложенные схемы комплексной терапии при остром и подостром вариантах ЭАА, позволяют снизить число побочных эффектов от применения системных ГКС препаратов и минимизировать развитие декомпенсации сопутствующей патологии у больных этих групп.

**Внедрение результатов исследования.**

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность ФГБУ «ЦНИИТ» РАМН, а так же используются в учебном процессе последипломной подготовки интернов, ординаторов и аспирантов.

**Апробация диссертации.**

Материалы исследования представлены в 13 докладах на 20, 21, 22 Национальных конгрессах по болезням органов дыхания (Москва, 2010, 2012г., Уфа 2011), Национальных конгрессах «Человек и лекарство» (Москва, 2010, 2011), Европейском Респираторном Обществе (ERS, Вена, 2012), Заседании ученого совета ФГБУ «ЦНИИТ РАМН» (Москва, 2012), Расширенных клинических конференциях ФГБУ «ЦНИИТ РАМН» (Москва, 2010, 2011). Апробация диссертации проведена на совместном заседании отдела гранулематозных болезней легких, отдела фтизиатрии, клинико-диагностического отдела, отдела патоморфологии, биохимии и электронной микроскопии, отдела лучевой диагностики ФГБУ «Центрального научно-исследовательского института туберкулеза» РАМН.

**Публикации.**

По теме диссертации опубликовано 23 печатных работы (в том числе 10 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 3 – в зарубежных изданиях), 3 работы приняты к печати (в том числе 2 – в изданиях рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ).

**Структура и объем диссертации.**

Диссертация изложена на 235 страницах по традиционному плану, включает введение, обзор литературы, три главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы из 230 источников отечественных и зарубежных авторов. Результаты исследования представлены на 63 рисунках в виде фотографий цитологических, морфологических препаратов и компьютерно-томографических снимков, а так же на 34 таблицах. Иллюстрированы 4 клиническими примерами.

**Материалы и методы.**

Для решения поставленных задач всего обследовано 298 больных с легочными диссеминациями, находившимися на обследовании и лечении в ФГБУ «ЦНИИТ РАМН» с 2009-2012 годы. У всех пациентов изучался анамнез, проводилось физикальное обследование, обязательный диагностический минимум (ОДМ) принятый в ФГБУ «ЦНИИТ» РАМН, включающий в себя: клинический и биохимический анализы крови, ЭКГ, анализ мочи, газовый состав крови, функцию внешнего дыхания (ФВД), рентгенографию, компьютерную томографию органов грудной клетки высокого разрешения (КТВР). В обязательном порядке проводилась бронхоскопия со взятием БАЛ и чрезбронхиальной биопсии легочной ткани (ЧБЛ), которые подвергались цитологическому и гистологическому исследованию. В 46 случаях выполнялась диагностическая видеоторакотомия легкого. В результате проведенных диагностических мероприятий из 298 больных ЭАА диагностирован у 105 человек, саркоидоз – у 134, туберкулез - у 32, у 12 пациентов верифицированы полисегментарные пневмонии, у 13 – метастатическое поражение легких, в одном случае диагностирован гранулематоз Вегенера, в одном – инвазивный легочный аспергиллез.

Среди обследованных 105 пациентов с ЭАА женщин - 68 человек (65,4%), мужчин – 37 человек (34,6%) в возрасте от 22 до 76 лет (средний возраст 51,2 1,3 лет). Большая часть пациентов находилась в активном периоде профессиональной деятельности. У всех этих больных объем диагностических методов исследования был расширен. Иммунологическое исследование включало определение в крови больных ЭАА уровня иммуноглобулинов класса А, M, G, а так же уровни преципитирующих антител к различным бытовым, животным и растительным аллергенам с помощью реакции преципитации по Оухтерлони (в модификации А.И.Гусева, В.С. Цветкова, 1968).

Методом проточной цитофлуориметрии проведено исследование образцов венозной крови, где определяли содержание Т-, В-лимфоцитов, НК-клеток, Т-хелперов (CD4), Т-супрессоров (CD8), индекс Тх/Tс (CD4/CD8). Анализ проводили с использованием иммунологического набора Simultest IMK-Lymphocyte («Becton Dickinson», США), на проточном цитометре FACSCalibur с программным обеспечением SimulSET.

Общая клиническая картина выражалась кумулятивным индексом, отражающим интегральную цифровую индексацию выраженности клинических симптомов: одышки, кашля, интоксикации, хрипов или крепитации при аускультации, оцененную в баллах. Для оценки толерантности к физической нагрузке использовался тест 6 минутной ходьбы с регистрацией пройденной дистанции в метрах.

Функцию легких оценивали с помощью спирографии, пневмотахографии, бодиплетизмографии, исследования диффузионной способности легких, газов артериализованной капиллярной крови. В качестве показателей использовали жизненную емкость легких (ЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ1), максимальные скорости форсированного выдоха при выдохе 25, 50 и 75% (МСВ 25, МСВ50 и МСВ75), газов крови – напряжение кислорода в артериализованной капиллярной крови (РаО2), диффузионную способность легких для окиси углерода методом единичного вдоха (DLCO-SB), коэффициент диффузии (DLCO/VA). Границей нормальных значений считали 80% должной величины.

Компьютерную томографию (КТВР) выполняли в условиях высокого разрешения на 16 рядном мультисрезовом компьютерном томографе Siemens Somatom Emotion в положении больного лежа на спине, на высоте глубокого задержанного вдоха. При анализе полученных данных и количественной их оценки использовали шкалу в модификации Kazerooni et al. (1998). Учитывался альвеолярный компонент по занимаемой площади симптома «матового стекла»и диссеминации, а так же распространенность интерстициального компонента по признаку «сотового легкого» и утолщению межлобулярных септ. Оба из указанных компонента определялись по 5 бальной шкале.

После визуальной оценки состояния слизистой оболочки бронхов получали ЧБЛ, которую использовали для традиционного гистологического изучения легочной ткани. Во время бронхоскопии проводили диагностический БАЛ, который затем подвергался цитологическому, цитофлюориметрическому, электронномикроскопическому исследованию. Эндопульмональную цитограмму определяли на основании подсчета не менее 500 клеток с использованием иммерсионного объектива. При этом учитывали: АМ (альвеолярные макрофаги), Л (лейкоциты), Э (эозинофилы), Т (тучные клетки), Н (нейтрофилы). В этом же материале определяли макрофагальную формулу (МФ) БАЛ, для чего подсчитывали 200 макрофагов и определяли относительное процентное содержание молодых и зрелых клеток с разным фенотипом (Лепеха Л.Н., 1995; 2000; Николаева Г.М., 2004). Для определения значений нормальных показателей использовали материал от 8 здоровых добровольцев. Ультраструктурные особенности АМ и других клеточных элементов БАЛ изучены с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ), для чего клеточный осадок лаважа подготавливали известными методами (Лепеха Л.Н., 1995). Ультратонкие срезы просматривали в электронном микроскопе (увел.100В). Количественный анализ лимфоидных элементов БАЛ проводили на проточном цитометре FACSCaliber с программным обеспечением Cell Qwest с использованием прижизненной иммунологической окраски клеток антителами и флуоресцентными красителями по следующим параметрам: количество жизнеспособных и гибнущих клеток, уровень некроза и апоптоза, а так же индекс CD4/CD8.

Для выявления Candida albicans и Aspergillus fumigatus в материале БАЛ в рамках исследования был использован современный молекулярно-генетический подход. Для исследований выбраны видоспецифичные ПЦР тест-системы разрешенные МЗСР РФ для диагностики.

Амплификацию образцов ДНК проводили в термоциклере Real-time IQ5 (BioRad) для тест-системы с праймерами и зондами для ПЦР в режиме реального времени для Candida albicans, и в амплификаторе Терцик (ДНК-технология) для ПЦР тест-системы с детекцией методом электрофореза для Aspergillus fumigatus.

Полученные данные статистически обработаны при помощи программы Statistica с использованием непараметрических методов. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Вилкоксона. Группы пациентов менее 10 человек не подвергались процентному исчислению согласно правилам медицинской статистики.

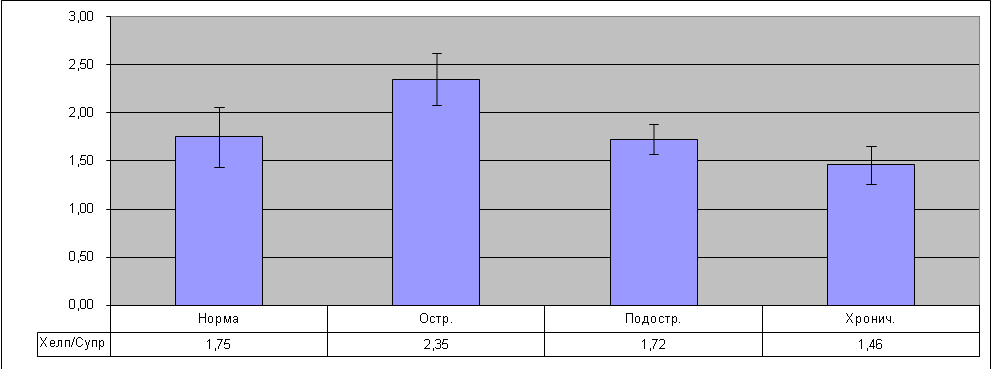
**Результаты исследования.**

**Диагностика различных вариантов ЭАА.**

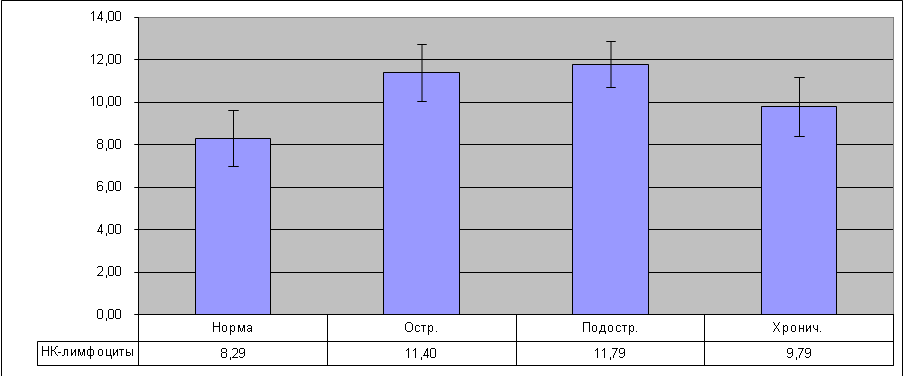
**Острый вариант** выявлен у 30 (28,6 %) больных ЭАА, 15 мужчин и 15 женщин, в возрасте от 23 до 73 лет (средний 45,5 ± 2,4). Большая часть пациентов – 39,6% - имела контакт с плесневыми грибами, примечательно, что почти у всех этих пациентов была выявлена ДНК указанных грибов методом ПЦР в БАЛ. По клиническому течению данный вариант ЭАА напоминал ОРВИ или пневмонию с преобладанием симптомов интоксикации, развивался быстро от нескольких суток до 1 месяца, имел бурное начало с высокой температурой тела и сухим приступообразным кашлем (у 60% больных). Одышка выражена слабо (не выше 1 степени), и отмечена в 46,6% случаев. У преобладающего большинства больных определяли нарушения газообменной функции легких (в виде снижения РaО2 и DLCO) и нарушения бронхиальной проходимости. Однако, их выраженность оставалась небольшой (не ниже 60% д.в.).

У 56% пациентов отмечено увеличение в крови IgG, а IgM у всех больных с острым вариантом ЭАА. Высокий (1:8 и выше) или средний (1:4) уровень сенсибилизации при определении преципитирующих антител зарегистрирован у 80% больных, что отмечалось только при этом варианте ЭАА, особенно к грибам рода Candida и/или Aspergillus. В периферической крови у 40% больных выявлена умеренная эозинофилия. У всех больных достоверно было повышено соотношение CD4/CD8 (рис.1) и содержание НК-клеток (рис.2)

**Рисунок 1.** Сравнительная оценка величины индекса CD4/CD8 в крови больных с разными вариантами ЭАА.



**Рисунок 2.** Среднее содержание НК-клеток в крови больных с разными вариантами ЭАА (% от общего числа лимфоцитов).



При анализе КТВР картины больных с острым ЭАА, изменения в легких определены в 100% случаев и представляли собой хорошо известный в литературе симптом «матового стекла» (Прокоп М., 2009; Тюрин И.С., 2008 и др.). Согласно нашим данным, кроме того, у 30% больных наблюдались локальные утолщения междольковых перегородок в пределах одной доли. Изменения, выявленные на КТ, коррелировали с данными гистологического исследования легочной ткани. Утолщение межальвеолярных перегородок большей части легочной паренхимы происходит за счет полнокровия капиллярной сети, интерстициального отека и обильной инфильтрации мононуклеарами, преимущественно лимфоцитами и плазматическими клетками. Из-за высокой проницаемости микроциркуляторного русла происходит выход во внутриальвеолярное пространство клеточных элементов воспаления и крови. По ходу терминальных воздухоносных путей и сопровождающих их артерий лежат обильные лимфоидно-макрофагальные инфильтраты, характерные для бронхиолита – важного диагностического признака ЭАА (Черняев А.Л., Самсонова М.В., 2011; Чучалин А.Г., 2007).

Приток в респираторный отдел лимфоцитов хорошо отражает цитограмма БАЛ, где они составляют 63,86±3,23% . Среди лимфоцитов много зрелых плазматических клеток. Кроме того, определяются все типы гранулоцитов, в том числе нейтрофилы, что имеет важную диагностическую ценность для данного варианта ЭАА (табл.1)**.**

**Таблица.1.** Особенности эндопульмональной цитограммы БАЛ при разном течении ЭАА.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| группы наблюдения | клеток в 1мл, х106 | клеточные элементы (%) | | | | |
| макрофаги | лимфо-циты | нейтро-филы | эозино-филы | тучные клетки |
| Гр. сравнения (контроль) n=8 | 0,12±0,09 | 81,02±6,09 | 10,86±3,91 | 3,93±1,02 | 0,38±0,24 | 0,21±0,29 |
| острый n=30 | **0,59±0,10\*\*** | **23,79±7,59\*\*** | **63,86±3,23\*\*** | **8,79±2,44\*** | 1,76±1,58 | 1,08±1,10 |
| подострый n=43 | 0,38±0,05\* | 57,68±8,89\* | 33,49±5,08\* | 5,42±3,29 | 2,99±1,97 | 1,92±1,23 |
| хронический n=24 | 0,08±0,02 | 81,39±6,49 | 12,90±5,20 | 3,96±1,92 | 0,97±0,95 | 0,53±0,76 |
| Рецидивирующий n=8 | 0,22±0,12 | 77,05±9,51 | 24,72±6,08 | 6,51±3,21 | 1,05±1,02 | 1,06±1,09 |

**Разница достоверна по сравнению с контролем: \* - p < 0,05 , \*\*  - p < 0,01.**

Характерно, что при остром варианте ЭАА величина индекса СД4/СД8 больше 1 (табл.2), что так же составляет характерную особенность этой группы больных.

**Таблица 2**. Сравнительная характеристика величины индекса CD4/CD8 при различных вариантах ЭАА.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Вариант ЭАА | CD4 | CD8 | **CD4/CD8** |
| Острый | 14,2±3,3 | 27,5±9,5 | **1,15±0,45** |
| Подострый | 5,9±2,8**\*** | 17,3±10,5 | **0,61±0,13\*** |
| Хронический | 8,3±0,4**\*** | 21±1,1 | **0,4±0,02\*\*** |

**Разница достоверна по сравнению с острым вариантом заболевания: \* - p < 0,05 , \*\*  - p < 0,01.**

Еще одним диагностическим признаком острого ЭАА является повышенное число в составе МФ молодых неактивированных мононуклеаров и зрелых АМ (табл.3), в фагосомах которых, методом световой и электронной микроскопии определены фрагменты ПЯЛ и лимфоцитов. Последние подвергаются некрозу (15-17%), тогда как апоптозные лимфоциты у этой группы составляют только 2-8%.

**Таблица 3.** Особенности макрофагальной формулы БАЛ при разном течении ЭАА.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| группы наблюдения | Различные фенотипы макрофагов, % (М±m) | | | | |
| молодые макрофаги | | зрелые макрофаги | | |
| неактиви-рованные | активиро-ванные | фагоцити-рующие | секрети-рующие | со смешанной функцией |
| Гр. сравнения (контроль) n=8 | 21,90±1,04 | 15,00±0,97 | 38,80±1,16 | 3,30±0,15 | 21,00±1,12 |
| острый n=19 | **31,81±3,08\*\*** | 12,03±1,05 | 47,71±2,17\* | 5,01±0,91 | 3,01±1,13 |
| подострый n=28 | 12,71±2,11\* | 19,18±2,17\* | **66,05±3,82\*\*** | 4,29±1,25 | 7,81±2,12 |
| хронический n=22 | 19,81±4,05 | 12,97±4,05 | **53,43±2,08\*\*** | 6,37±2,97 | 9,70±2,31 |
| рецидивирующий n=8 | 25,81±5,09 | 13,03±7,79 | 49,81±5,09*\** | 4,51±1,91 | 7,81±5,91 |

***Разница достоверна по сравнению с контролем: \* - p < 0,05 , \*\*  - p < 0,01.***

**Подострый вариант** диагностирован у 43 (41%) больных ЭАА, 14 мужчин и 29 женщин в возрасте от 22 до 73 лет (средний возраст 49,0±2,0). Длительность заболевания колеблется от 1 месяца до 1 года. В большинстве случаев (72,1%) больные с данным вариантом заболевания имели контакт с аллергенами животного происхождения. В клинической картине доминировали сухой кашель и одышка, которая регистрировалась у 81,4% больных и документировалась 2 степенью более чем у половины пациентов. Жалоб на наличие признаков интоксикации у пациентов с подострым течением заболевания, в отличие от острого, зафиксировано не было.

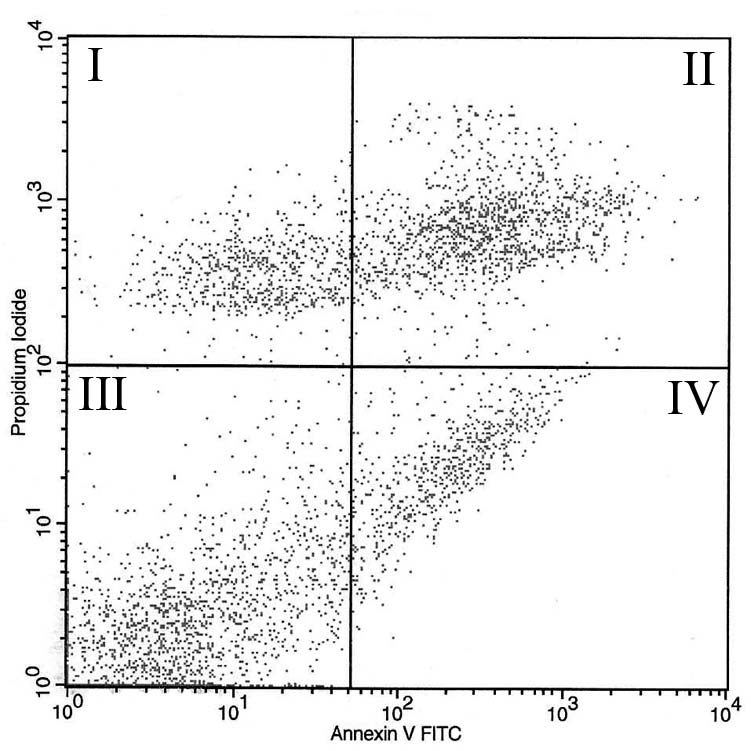
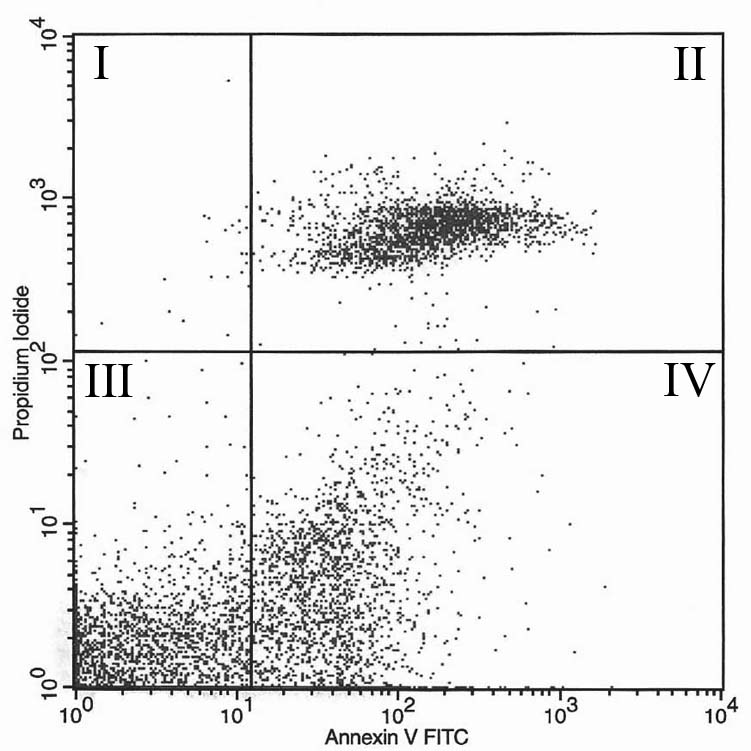
У 29,4% больных в крови отмечено повышение уровня IgG, а у 64,7% значения IgA. Преципитирующие антитела к шерсти различных животных, перьям и экскрементам птиц определены менее, чем у трети больных (27,9%), при этом уровень сенсебилизации, как правило, имел средние значения (1:4). Примечательно, что эти данные зачастую не совпадали с анамнестическими. В гемограмме наблюдалась ускоренная СОЭ почти у половины больных (48,8%), реже - увеличение общего количества лейкоцитов (в 25,6% случаев) и эозинофилов (в 34,8% случаев). При цитофлюориметрическом исследовании крови у лиц с подострым вариантом ЭАА зарегистрировано повышение уровня НК- клеток, Т и особенно В-лимфоцитов (до 17,2%) (рис.3), сочетающееся с нормальными значениями индекса CD4/CD8 (см. рис.2).

**Рисунок 3**. Среднее содержание В-лимфоцитов в крови больных с разными вариантами ЭАА (% от общего числа лимфоцитов)

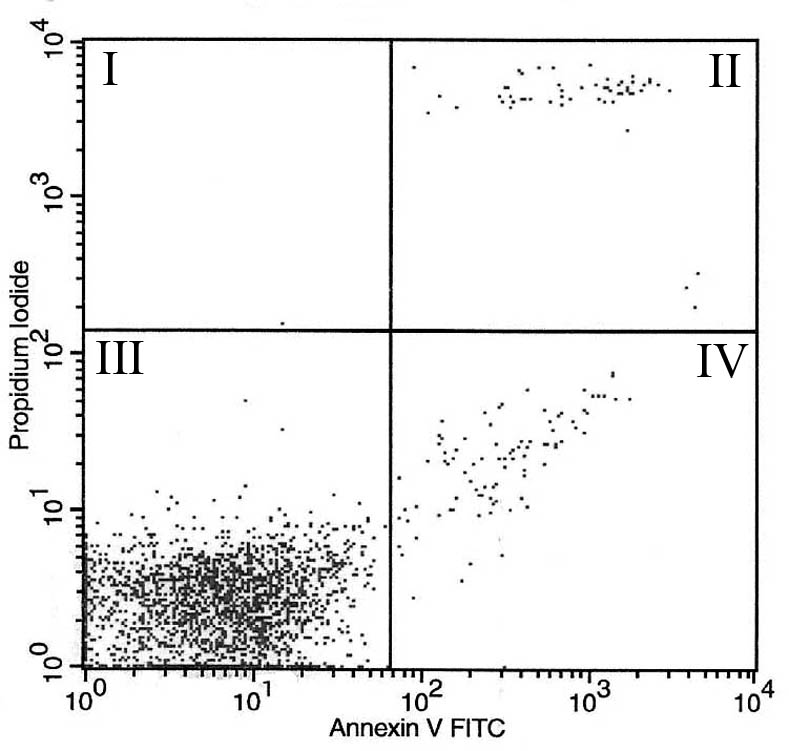


Нарушения функции легких отмечены практически у всех больных с подострым вариантом ЭАА. Чаще всего страдала газообменная функция (у 95,5% больных). Наиболее частым показателем ее нарушения явилось снижение DLCO и РаО2, несколько реже - снижение коэффициента диффузии, но на 12,8% больше, чем при остром варианте ЭАА. Нарушения бронхиальной проходимости зарегистрированы более чем в 80% случаев. Характерно, что снижение всех показателей функции легких, было незначительным (не ниже 60% д.в.). Но величины DLCO и МСВ 50,25, были ниже, чем у больных с острым вариантом ЭАА.

При подостром варианте ЭАА при КТВР у 79,1% больных определялась мелкоочаговая диссеминация в различных отделах легких, более чем у половины пациентов - утолщения междольковых перегородок. КТ картина коррелировала с данными гистологического исследования, отмечающего в дистальных отделах легкого формирование многочисленных макрофагальных гранулем, содержащих многоядерные гигантские макрофаги, гистиоциты и лимфоциты. Примечательно, что характерные для туберкулеза или саркоидоза эпителиоидные клетки, на наличие которых при ЭАА указывают многие авторы (Коган Е.А., 2007; Hammar D., 2007), при электоронно-микроскопическом исследовании были идентифицированы нами как гистиоциты. Это более согласуется с патогенетическими аспектами иммунокомплексного воспаления и имеет определяющее значение в диагностике ЭАА. Количество лимфоидных элементов в составе гранулем заметно варьирует, может быть незначительным, тогда как содержание гистиоцитов и многоядерных макрофагов с признаками лимфоцитарного фагоцитоза по мере развития макрофагальной реакции наоборот возрастает. Это находит свое отражение в эндопульмональной цитограмме, где процентное содержание лимфоцитов почти в 2 раза меньше, чем при остром течении ЭАА, хотя, по прежнему, выше нормы (см. табл.1), индекс СД4/СД8 ниже 1 (см. табл.2). В лаважной жидкости преобладают макрофагальные элементы, среди которых повышено число биосинтезирующих и особенно зрелых одноядерных и многоядерных фагоцитов (см. табл.3), что составляет характерную особенность МФ этого варианта заболевания. Биосинтезирующие макрофаги имеют характерную ультраструктуру, в ядре этих клеток можно определить фигуры митоза, в цитоплазме зрелых фагоцитов – фрагменты апоптозных лимфоцитов. Гибель лимфоцитов путем апоптоза у большинства больных с подострым течением заболевания достигает 49% (рис.4). Среди альвеолярных макрофагов в материале БАЛ выявлены гистиоциты с ультраструктурными признаками умеренно выраженной секреторной и фагоцитарной активности, что отражает активацию фибриллогенеза в интерстиции респираторного отдела.



**Рис.4.** Диаграммы распределения лимфоцитов БАЛ на живые и гибнущие путем некроза или апоптоза у больных с разными вариантами ЭАА: **а** – острый; **б** – подострый; **в** – хронический. Окраска Annexin-V и йодид пропидия. Квадрант **I** – некроз, **II** – поздний апоптоз, **III** – живые клетки, **IV** – ранний апоптоз.



**Хронический вариант** выделен у 24 (22,9%) больных ЭАА: 18 женщин и 6 мужчин, в возрасте от 41 до 76 лет (средний возраст 56,4±1,9), с длительностью заболевания от 1 года до 12 лет (в среднем 3,75 лет). Большая часть из них (72,1%) имели длительный и постоянный контакт с библиотечной и строительной пылью.

Клиническая картина пациентов с хроническим вариантом ЭАА значительно отличалась от таковой при подостром и, особенно, при остром варианте заболевания, и характеризовалась медленным, но постоянным прогрессированием респираторных симптомов, в первую очередь одышки, которая отмечена в 100% случаев. Интенсивность ее значительно выше, чем при других вариантах ЭАА, и оценивалась 2 или 3 степенью тяжести. У 62,5% больных была зарегистрирована крепитация, которая не наблюдалась ни при остром, ни при подостром вариантах. Вместе с тем, почти у половины больных с хроническим течением ЭАА констатировано повышение уровня IgG, но из-за значительного разброса индивидуальных показателей у различных пациентов, его средняя величина оставалась в пределах нормы.

Показатели гемограммы больных с хроническим вариантом в основном находились в пределах референтных значений. При этом индекс CD4/CD8 в крови имел тенденцию к снижению, среднее значение НК-клеток приближено к нормальным величинам, в отличие от острого и подострого вариантов, где уровень их существенно выше (см. рис.1,2). Интересной находкой оказалось обнаружение повышенного уровня IgA у 70% этих больных, что, скорее всего, связано с наличием постоянного «мелкодозированного» контакта с агрессивным агентом, что, в конечном счете, приводит к поддержанию аллергической реакции. При этом повышение уровня преципитирующих антител в крови до средних значений (1:4) отмечено лишь у трети больных с этим вариантом альвеолита, и оно, как правило, не коррелировало с анамнестическими данными. Антитела к различного рода грибам при исследовании крови выявлены не были, при том, что в лаважной жидкости обнаружены ДНК Candida и/или Aspergillus в 10% случаев.

Для всех больных с хроническим вариантом течения ЭАА характерны нарушения газообменной функции легких. Более, чем у половины пациентов (54,2%), то есть значительно чаще чем у лиц с острым и подострым вариантами, происходило снижение ЖЕЛ и ОФВ1. В 2-3 раза чаще, чем при других вариантах альвеолита отмечено снижение показателей РаО2, DLCO, DLCO/VA, а так же проходимости бронхов (МСВ 75,50,25). Общая степень выраженности выявляемых функциональных изменений значительно выше, чем при двух других вариантах заболевания (от 59 до 40% д.в.), что может быть проявлением вторичной рестрикции за счет фиброзной трансформации легочной ткани. Об этом так же свидетельствуют данные КТ картины, где наблюдалось выраженное нарушение архитектоники легочной ткани, развитие признаков «сотового легкого», картину которого можно было видеть у 70,8% больных. У большей части пациентов участки пониженной плотности легочной паренхимы и явления фиброза сочетались с цилиндрическими и тракционными бронхо- и бронхиолоэктазами.

Активация процессов фиброзирования, разные стадии формирования внутриальвеолярных кист и «сотового легкого» наблюдались и в гистологическом материале легочных биопсий. Диффузный интерстициальный и очаговый пневмосклероз сочетался со слабо выраженной клеточной реакцией, главным образом макрофагальной, внутри – и внеклеточными отложениями кальция и/или железа в виде характерных телец Шаумана, что так же отмечает ряд авторов (Черняев А.Л., Самсонова М.В., 2011; D. Hammar, 2007).

При хроническом течении заболевания все показатели эндопульмональной цитограммы не отличались от контрольных значений (см.табл. 1). Для диагностики этого варианта ЭАА лучше использовать показатель индекса соотношения СД4/СД8, который значительно ниже 1 (см. табл.2). Уровень лимфоцитарного апоптоза так же самый низкий, варьирует от 2 до 13 %; некрозы – не зафиксированы (см. рис.4). В МФ БАЛ сохраняется повышенное число зрелых фагоцитирующих макрофагов (см. табл.3), среди которых, по прежнему, встречаются гистиоциты с характерной ультраструктурной организацией, с более выраженной секреторной активностью, что указывает на значительную активацию процессов фибриллогенеза при этом варианте заболевания.

**Рецидивирующий вариант ЭАА**  выделен впервые. Его развитие отмечено у 8 ранее излеченных пациентов :6 женщин и 2 мужчин в возрасте от 40 до 54 лет, которые прекратили контакт с причинным агентом и сохраняли стабильное состояние от полугода до 2 лет. Рецидив заболевания возникал при повторном контакте с аллергеном, в 50% случаев – с плесневыми и дрожжеподобными грибами. В клинической картине заболевания респираторные симптомы незначительной степени интенсивности сочетались с признаками интоксикации в равных пропорциях.

Рецидивирующий вариант течения ЭАА можно определить как - возникновение признаков болезни не менее чем через 6 месяцев после полного их исчезновения, которое расценивалось как выздоровление. Определение уровня преципитирующих антител в крови этих пациентов оказалось неинформативным.

Нарушение легочной функции отмечено практически у всех пациентов, и выражалось в снижении РаО2 и всех показателей бронхиальной проходимости, особенно МСВ 25 (до 45,2±5,4% д.в.). На КТВР характерно значительное распространение симптома «матового стекла» (от 25% до 90% от доли легкого) сочетающееся с интерстициальными изменениями в виде фиброзных плевропульмональных тяжей и утолщений междолькового интерстиция, понижения легочной плотности, что, скорее всего, связано с возникновением острого процесса на фоне «скомпрометированной» легочной ткани в результате предыдущего эпизода заболевания. Данные КТВР находили свое подтверждение в морфологической картине дистальных отделов легкого, где на фоне фиброзных изменений появляются свежие мононуклеарные инфильтраты с преобладанием лимфоцитов и плазматических клеток, с небольшой примесью лейкоцитов, тучных клеток и многоядерных макрофагов. Это свидетельствует об обострении процесса и согласуется с данными цитологического исследования БАЛ, где вновь возрастает содержание лимфоцитов (см.табл.1) и неактивированных молодых макрофагов (см.таб.3). Среди зрелых фагоцитов определяются липофаги, а также плазматические и тучные клетки; последние - в стадии дегрануляции.

**Особенности лечения больных с различными вариантами ЭАА.**

С учетом характера течения ЭАА были разработаны схемы комплексной терапии, дана оценка эффективности лечения для каждого из выделенных вариантов.

**Острый вариант ЭАА.**

Все пациенты с острым вариантом ЭАА методом рандомизации разделены на две группы: основную (1) и контрольную (2). В 1 группу вошли 14 человек , 9 мужчин и 5 женщин, в возрасте от 23 до 73 лет (средний возраст 42,4±4,2 лет). Больным 1 группы назначены высокие дозы ИГКС препарата – флютиказона, 2500 мкг в сутки. Его применение сочеталось с регулярным использованием операций плазмафереза с целью удаления из крови больных ЭАА циркулирующих иммунных комплексов, количество которых особенно высоко при остром варианте заболевания. Плазмаферез выполняли 3 раза с интервалом в 7-8 дней по общепринятой методике. За одну операцию удаляли 700-900 мл. плазмы. Больным 2 группы (контрольной) назначена стандартная терапия системными ГКС препаратами. Доза препарата в пересчете на преднизолон составляла 15 мг в сутки, в среднем 0,25 мг/кг. Терапия в обеих группах продолжалась 1 месяц.

После проведенной терапии получены сходные результаты обеих группах. Достигнута выраженная положительная динамика показателей КИ и КТВР (табл. 4).

**Таблица 4.** Динамика показателей КИ и данных КТВР у больных острым ЭАА до и после лечения.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| показатели | **Острый вариант ЭАА,**  **1-я группа (n=14)** | | **Острый вариант ЭАА,**  **2-я группа (n=16)** | |
| до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) |
| кум. индекс (баллы) | 2.2±0.3 | 0.9±0.2 | 2.3±0.2 | 0.9±0.2 |
| "матовое стекло" КТВР (баллы) | 3.0±0.3 | 1.64±0.3 | 3.1±0.2 | 1.6±0.2 |

Получено достоверное увеличение большинства показателей функции легких, как в основной, так и в контрольной группе; в последней повышение МСВ 50 было выражено в большей степени (табл.5).

**Таблица 5.** Показатели функции лёгких у больных острым ЭАА до и после лечения.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| функциональные показатели | **Острый вариант ЭАА, 1-я группа (n=14)** | | | **Острый вариант ЭАА, 2-я группа (n=16)** | | |
| до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | Р | до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | Р |
| ЖЕЛ % д.в. | 64.7±5.1 | 93.4±4.6 | **Р<0.01\*\*** | 69.1±4.8 | 102.0±5.0 | **Р<0.01\*\*** |
| ОФВ1 % д.в. | 64.3±3.6 | 103.4±4.8 | **Р<0.01\*\*** | 67.0±4.5 | 98.6±4.3 | **Р<0.05\*** |
| МСВ75 % д.в. | 46.6±6.3 | 63.1±8.9 | **Р<0.05\*** | 64.7±8.3 | 69.9±7.7 | Р>0.05 |
| МСВ50 % д.в | 52.4±3.0 | 67.3±6.9 | **Р<0.05\*** | 52.4±3.0 | 100.8±6.8 | **Р<0.01\*\*** |
| МСВ25 % д.в | 62.6±3.8 | 104.1±8.3 | **Р<0.01\*\*** | 70.5±5.0 | 111.8±5.8 | **Р<0.05\*** |
| DLCO % д.в. | 72.1±3.2 | 97.9±2.5 | **Р<0.05\*** | 69.4±1.9 | 88.8±1.9 | **Р<0.05\*** |
| DLCO/VA % д.в. | 74.2±3.0 | 78.6±4.0 | Р>0.05 | 72.7±1.5 | 82.0±3.7 | Р>0.05 |
| PO2 мм.рт.ст. | 71.5±1.3 | 85.4±1.3 | **Р<0.05\*** | 66.5±1.3 | 83.7±1.6 | **Р<0.05\*** |

В обеих группах без существенных изменений осталась величина показателя DLCO/VA. В группе пациентов получающих монотерапию системными ГКС, в 18,2% случаев отмечены нежелательные побочные реакции: декомпенсация сахарного диабета, развитие артериальной гипертензии, язвенное поражении ЖКТ, тромбоз вен нижних конечностей, что не наблюдалось в основной группе. Поэтому предложенная схема лечения с использованием флютиказона в комбинации с плазмаферезами может служить альтернативой системной ГКС терапии при остром варианте ЭАА, особенно у пациентов с наличием сопутствующих заболеваний.

**Подострый вариант ЭАА.**

Все 43 пациента с подострым вариантом ЭАА так же разделены на 2 группы: основную (3) и контрольную (4). В основную группу вошли 24 человека: 6 мужчин и 18 женщин, в возрасте от 23 до 73 лет (средний возраст 51,4±2,6 лет). Им предложена новая схема терапии, которая заключалась в применении длительных небулайзерных ингаляций амброксолом (15 мг/сутки) 2 раза в день в сочетании со сниженной дозой системных ГКС 10 мг/сутки (в пересчете на преднизолон). Пациентам 4 группы (контрольной) проводилась стандартная терапия системными кортикостероидными препаратами в дозе 20 мг в сутки. В эту группу вошли 19 человек: 8 мужчин и 11 женщин, в возрасте от 22 до 66 лет (средний возраст 45,9 ±3,1 лет). Терапия в обеих группах продолжалась 2 месяца.

В результате проведенного наблюдения установлено, что клиническая картина заболевания, включая толерантность к физической нагрузке, динамика КИ и данных КТВР (в виде уменьшения площади распространения диссеминации и симптома «матового стекла») улучшились в обеих группах (табл.6).

Показатели газообменной функции легких (DLCO, РаО2) достоверно возросли только у лиц 3 группы (табл.7).

**Таблица 6.** Динамика КИ и данных КТВР у больных подочтрым ЭАА до и после лечения.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| показатели | **Подострый вариант ЭАА,**  **3-я группа (n=24)** | | **Подострый вариант ЭАА,**  **4-я группа (n=19)** | |
| до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) |
| кум. индекс (баллы) | 2.8±0.2 | 1.3±0.2 | 2.5±0.2 | 1.3±0.1 |
| диссеминация КТВР (баллы) | 3.1±0.2 | 1.7±0.2 | 3.1±0.2 | 1.7±0.2 |

Кроме того, в группе контроля (4), при использовании более высокой дозы системных ГКС, у 42% больных зарегистрировано развитие декомпенсации сахарного диабета, артериальной гипертензии, язвенного поражения ЖКТ.

**Таблица 7.** Изменение функциональных показателей у больных подострым ЭАА до и после лечения.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| функциональные показатели | **Подострый вариант ЭАА,**  **3-я группа (n=24)** | | | **Подострый вариант ЭАА,**  **4-я группа (n=19)** | | |
| до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | Р | до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | Р |
| ЖЕЛ % д.в. | 71.8±5.2 | 100.1±3.4 | **Р<0.01\*\*** | 67.9±6.9 | 93.7±8.8 | **Р<0.01\*\*** |
| ОФВ1 % д.в. | 65.0±4.1 | 91.9±3.8 | **Р<0.01\*\*** | 68.3±4.0 | 83.5±4.9 | **Р<0.01\*\*** |
| МСВ50 % д.в | 52.3±5.1 | 68.2±6.0 | **Р<0.05\*** | 50.2±3.3 | 66.3±6.3 | **Р<0.05\*** |
| МСВ25 % д.в | 48.5±6.3 | 88.0±7.4 | **Р<0.05\*** | 47.2±3.6 | 65.2±6.0 | **Р<0.05\*** |
| DLCO % д.в. | 61.4±3.1 | 68.9±3.4 | **Р<0.05\*** | 63.1±3.8 | 63.2±4.0 | Р>0.05 |
| DLCO/VA % д.в. | 71.2±3.4 | 82.1±2.4 | Р>0.05 | 72.0±3.9 | 73.0±4.0 | Р>0.05 |
| PO2 мм.рт.ст. | 68.6±1.7 | 73.5±1.9 | **Р<0.01\*\*** | 71.3±1.9 | 72.7±1.6 | Р>0.05 |

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности включения в схему терапии подострого варианта ЭАА такого патогенетического средства как амброксол. В данном случае имеет значение не только длительность назначения, но и способ доставки аброксола – небулайзерные ингаляции. Это позволяет не только использовать мукорегуляторные свойства лекарственного препарата, но применять его в качестве стимулятора выработки легочного сурфактанта – природного активатора АМ, играющих ключевую роль в разрешении иммуннокомплексного воспаления.

**Хронический вариант ЭАА.**

Больные (24 человека) с хроническим вариантом ЭАА методом рандомизации разделены на 2 группы. Основную группу (5) составили 14 человек, в лечении которых системные ГКС 15 мг/сутки сочетались с приемом высоких доз NАС (флуимуцил) 1800 мг/сутки. В группе (6) контроля (10 человек) аналогичная доза системных ГКС сочеталась с в\в инфузиями циклофосфамида (циклофосфан) 0,2 гр. 2 раза в неделю. Лечение в обеих группах продолжалось 2 месяца.

При сравнении результатов наблюдения установлено преимущество комбинации системных ГКС с циклофосфамидом над комбинацией ГКС с NAC. Не смотря на то, что положительная динамика со стороны клинической и КТ картины получена в обеих группах (табл. 8), значимое улучшение со стороны функциональных параметров отмечено только в группе больных, получающих циклофосфамид.

**Таблица 8.** Динамика КИ и данных КТВР у больных хроническим ЭАА до и после лечения.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| показатели | **Хронический вариант ЭАА,**  **5-я группа (n=14)** | | **Хронический вариант ЭАА,**  **6-я группа (n=10)** | |
| до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) |
| кум. индекс (баллы) | 3.4±0.3 | 2.4±0.2 | 3.8±0.2 | 2.7±0.3 |
| "Матовое стекло" КТВР (баллы) | 2.5±0.3 | 1.9±0.3 | 2.5±0.3 | 1.7±0.3 |

Это выражалось в увеличении показателей ЖЕЛ, ОФВ1, МСВ 75, МСВ 50 (табл.9). В группе больных, получающих NАС, отмечено улучшение только одного показателя - МСВ 75.

**Таблица 9.** Изменение функциональных показателей у больных хроническим ЭАА до и после лечения.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| функциональные показатели | **Хронический вариант ЭАА,**  **5-я группа (n=14)** | | | **Хронический вариант ЭАА,**  **6-я группа (n=10)** | | |
| до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | Р | до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | Р |
| ЖЕЛ % д.в. | 72.5±3.2 | 75.7±2.5 | Р>0.05 | 54.7±5.0 | 64.0±5.5 | **Р<0.05\*** |
| ОФВ1 % д.в. | 63.4±4.8 | 68.3±9.3 | Р>0.05 | 53.3±5.7 | 62.1±4.9 | **Р<0.05\*** |
| МСВ75 % д.в. | 42.2±6.5 | 55.8±7.9 | **Р<0.05\*** | 46.9±9.4 | 57.0±9.1 | **Р<0.05\*** |
| МСВ50 % д.в | 44.2±7.7 | 63.4±11.5 | Р>0.05 | 47.3±4.4 | 68.4±5.9 | **Р<0.05\*** |
| МСВ25 % д.в | 52.6±6.2 | 58.7±5.3 | Р>0.05 | 44.2±7.5 | 42.7±8.9 | Р>0.05 |
| DLCO % д.в. | 48.1±5.3 | 49.5±6.3 | Р>0.05 | 42.1±5.5 | 42.8±4.5 | Р>0.05 |
| DLCO/VA % д.в. | 60.2±5.3 | 58.3±4.7 | Р>0.05 | 55.0±5.0 | 58.1±4.6 | Р>0.05 |
| PO2 мм.рт.ст. | 67.5±2.5 | 70.2±2.4 | Р>0.05 | 62.3±3.8 | 64.1±4.5 | Р>0.05 |

Таким образом, ожидаемый положительный эффект зарегистрирован не был. Поэтому мы не рекомендуем использовать схему ГКС+ NАС в лечении больных хроническим вариантом ЭАА, где более эффективна комбинация с использованием системных ГКС и циклофосфамида.

**Рецидивирующий вариант ЭАА.**

У 8 пациентов впервые выделен особый вариант течения заболевания – рецидивирующий. Они составили 7 группу наблюдения.

Учитывая обострение заболевания, всем пациентам сначала была применена схема терапии острого варианта, то есть использование высоких доз ИГКС и плазмафереза. Однако, к концу 3 недели данная терапия была прекращена , т.к. положительной динамики со стороны клинических симптомов болезни зарегистрировано не было. После чего всем больным назначено лечение системными ГКС в стандартной дозе 20 мг/сутки (в пересчете на преднизолон) продолжительностью 2 месяца. После проведенного лечения отмечено достоверное снижение выраженности клинических симптомов, уменьшение площади распространения симптома «матового стекла» при КТВР (табл. 10**),** улучшение показателей легочных объемов (ЖЕЛ, ОФВ1) и газообменной функции легких (РаО2, DLCO, DLCO/VA) (табл. 11**)**.

**Таблица 10.** Динамика КИ и данных КТВР у больных рецидивирующим ЭАА до и после лечения.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| показатели | **Рецидивирующий вариант ЭАА, 7-я группа (n=8)** | |
| до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) |
| кум. индекс (баллы) | 2.8±0.3 | 0.9±0.1 |
| "Матовое стекло" КТВР (баллы) | 3.3±0.4 | 1.9±0.3 |

**Таблица 11.** Изменение функциональных показателей у больных рецидивирующим ЭАА до и после лечения.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| функциональные показатели | **Рецидивирующий вариант ЭАА, 7-я группа (n=8)** | | |
| до лечения (М±σ) | после лечения (М±σ) | Р |
| ЖЕЛ % д.в. | 104.2±6.4 | 111.5±5.7 | **Р<0.01\*\*** |
| ОФВ1 % д.в. | 94.1±5.7 | 103.3±5.2 | **Р<0.01\*\*** |
| МСВ75 % д.в. | 70.5±10.8 | 76.8±8.9 | Р>0.05 |
| МСВ50 % д.в | 80.6±14.5 | 90.0±11.9 | Р>0.05 |
| МСВ25 % д.в | 86.2±12.2 | 98.0±14.3 | Р>0.05 |
| DLCO % д.в. | 71.6±5.2 | 74.3±4.9 | **Р<0.05\*** |
| DLCO/VA % д.в. | 76.6±2.6 | 82.9±2.4 | **Р<0.05\*** |
| PO2 мм.рт.ст. | 72.5±2.9 | 77.5±1.8 | **Р<0.05\*** |

**Выводы.**

1. Клинико-рентгенологическое обследование больных ЭАА с комплексным изучением легочной ткани, материалов БАЛ, крови и применением современных методов исследования позволяет выделить четыре варианта течения заболевания: острый, подострый, хронический, рецидивирующий, отражающие проявления иммуннокомплексного воспаления в дистальных отделах легкого в зависимости от длительности и природы воздействия этиологически значимых аллергенов.
2. Наиболее частой причиной заболевания при остром и рецидивирующем вариантах ЭАА (в 36,6% и 50% случаев соответственно) являются плесневые и дрожжеподобные грибы рода Aspergillus и Candida, при подостром – белки животного происхождения (в 72,1 % ), при хроническом – библиотечная и строительная пыль ( 58,2%).
3. Установлено, что острый и рецидивирующий варианты ЭАА на КТВР в 100% случаев проявляются симптомом «матового стекла», но при рецидивирующем варианте эти изменения сочетаются с утолщением внутридолькового и междолькового интерстиция в 62,5% случаев. Для подострого варианта характерна мелкоочаговая диссеминация (в 79,1% случаев), для хронического – картина «сотового легкого» в сочетании с тракционными бронхоэктазами (в 70,8% случаев).
4. Гистологическое исследование легочной ткани отражает особенности патогенеза ЭАА, значительно варьирует при различных вариантах заболевания и коррелирует с данными КТВР. При остром варианте наблюдается развитие бронхиолита и мононуклеарного альвеолита, при подостром – формирование макрофагально-лимфоцитарных гранулемоподобных скоплений без наличия эпителиоидных клеток, при хроническом варианте - диффузного интерстициального фиброза с зонами фиброателектаза, эмфиземы и кистозных полостей, при рецидивирующем варианте - мононуклеарных инфильтратов на фоне умеренно выраженного легочного фиброза.
5. При всех вариантах ЭАА происходит нарушение функции легких. Снижение показателей газообменной функции (PаО2, DLCO, DLCO/VA) и бронхиальной проходимости (МСВ 75,50,25) выявляются при остром (у 56,7% больных), подостром (у 66,2 % больных) и рецидивирующем вариантах (у 75% больных). При хроническом варианте эти изменения определяются чаще всего (у 83% больных), в 58% случаев сочетаются со снижением показателей легочных объемов (ЖЕЛ и ОФВ1). Степень выраженности нарушений функции дыхания значительно выше, чем при остальных вариантах заболевания (от 59 до 40% д.в.).
6. Показано ограниченное применение эндопульмональной цитограммы в определении варианта ЭАА, где характерные изменения клеточного состава БАЛ наблюдаются только при остром варианте (63,86±3,23% лимфоцитов, 8,79±2,44% нейтрофилов) заболевания. Более чувствительным показателем является индекс CD4/CD8, величина которого определена для острого (1,15±0,45), подострого (0,61±0,13) и хронического (0,4±0,02) вариантов. Дополнительным методом диагностики является определение процентного содержания в БАЛ апоптозных лимфоцитов, максимально выраженное при подостром варианте заболевания (до 49%).
7. Установлены характерные показатели макрофагальной формулы БАЛ, в полной мере отражающие особенности патогенеза ЭАА и имеющие самостоятельное значение для верификации варианта заболевания. При остром варианте наблюдается приток в легкие молодых неактивированных мононуклеаров (31,81±3,08%), при подостром преобладают молодые активированные макрофаги (19,18±2,1%) и зрелые фагоциты (66,05±3,82%). При хроническом варианте относительное процентное содержание неактивированных молодых макрофагов не отличается от нормы, но вновь повышается при рецидиве заболевания (25,81±5,09%).
8. Исследование крови методом проточной цитофлюорометрии позволяет выявить достоверное повышение процентного содержания В-клеток при подостром варианте ЭАА. Характерно увеличение индекса CD4/CD8 при остром (до 2,35) и его уменьшение при хроническом (до 1,46) вариантах, повышение НК-клеток в остром (до 11,4%) и подостром (до 11,79%) течении ЭАА. Данное исследование высокоинформативно и может использоваться в качестве самостоятельного метода для определения варианта ЭАА.
9. Установлено, что использование в лечении острого варианта ЭАА ингаляционного флютиказона в дозе 2500 мкг/ сутки в течение 1 месяца в сочетании с курсом плазмаферезов (3 операции с интервалом 7 дней) является не менее эффективным методом, чем применение системных ГКС в дозе 15 мг/сутки. Оно приводит к снижению тяжести клинических симптомов, увеличению толерантности к физической нагрузке., повышению РаО2 до 71,5±1,3 мм.рт.ст., DLCO до 87,9±2,5 % д.в., уменьшению площади распространения симптома «матового стекла» с 3,1±0,2 до 1,6±0,2 баллов. При этом не происходит декомпенсации сопутствующих заболеваний, как это наблюдается у 18,8% больных, получающих монотерапию системными ГКС.
10. У больных с рецидивирующим вариантом ЭАА установлена необходимость применения системных ГКС в дозе 20 мг/сутки, что приводит к снижению КИ с 2,8±0,3 до 0,9±0,1 баллов, увеличению показателей РаО2 - до 72.5±2.9 мм.рт. ст. и DLCO до 74.3±4.9 % д.в., уменьшению площади распространения симптома «матового стекла» с 3,3±0,4 до 1,9±0,3 баллов.
11. Показано, что длительная ингаляционная терапия больных с подострым вариантом ЭАА амброксолом (15 мг/сутки) позволяет снизить дозу системных ГКС вдвое (до 10 мг/сутки), обеспечивает снижение КИ 2,8±0,2 до 1,3±0,2 баллов, повышение показателей МСВ50 до 88,0±7,4 %д.в., МСВ25 до 68,2±6,0 %д.в., РаО2 до 73,5±1,9 мм.рт.ст., DLCO до 68,9±3,4 % д.в., уменьшение площади распространения диссеминации с 3,1 до 1,7 баллов При этом побочные эффекты отмечены у 12% больных, тогда как в группе сравнения (ГКС 20 мг/сутки) - у 42%больных.
12. Установлено, что использование высоких доз N-ацетилцистеина (1800 мг/сутки) в комбинации с системными ГКС (15 мг/сутки) в терапии больных хроническим вариантом ЭАА является малоэффективным и не может быть рекомендовано для практического применения. Использование циклофосфамида в сочетании с аналогичной дозой ГКС более эффективно, что выражается в регрессии КИ с 3,8±0,2 до 2,7±0,3 баллов, улучшении картины КТВР с 2,5 до 1,7 баллов, увеличении ЖЕЛ и ОФВ1 (до 64,0±5,5 %д.в. и до 62,1±4,9 %д.в. соответственно), показателей бронхиальной проходимости МСВ 75 и МСВ 50 (до 57±9,1 % д.в. и до 68,4±5,9 %д.в.).

**Практические рекомендации.**

1. В обязательное обследование больных с диффузными двухсторонними изменениями в легких наряду с общепринятыми лабораторными тестами, следует включать исследование спирометрии, диффузионной способности легких, КТВР грудной клетки, бронхоскопию с выполнением БАЛ, ЧБЛ и последующим цитологическим и морфологическим изучением полученных материалов.
2. Для определения варианта течения ЭАА рекомендуется выполнять исследование крови с определением количества Т и В – клеток методом проточной цитофлюорометрии, более подробное изучение БАЛ с подсчетом макрофагальной формулы, определением процентного содержания апоаптозных лимфоцитов, индекса соотношения CD4/CD8.
3. В комплексном лечении больных с верифицированным острым вариантом ЭАА в качестве альтернативной терапии системными ГКС целесообразно использование высоких доз ингаляционного ГКС препарата – флютиказона в дозе 2500 мкг/сутки в сочетании с плазмаферезами, состоящими из 3 операций с интервалом 7 дней.
4. У пациентов с подострым вариантом ЭАА может быть рекомендована комбинация небулайзерных ингаляций амброксола 15 мг/сутки с системными ГКС препаратами 10 мг/сутки (в пересчете на преднизолон) в течение 2 месяцев.
5. В лечении больных с хроническим вариантом ЭАА более эффективно использование системных ГКС в дозе 15 мг/сутки с циклофофамидом (0,2 дважды в неделю), чем применение ацетилцистеина 1800 мг/сутки с аналогичной дозой ГКС.
6. При рецидивирующем варианте ЭАА в лечении больных следует использовать системные ГКС препараты в дозе 20 мг/сутки в течение 2 месяцев.
7. Эффективность терапии следует оценивать через 1 месяц для лиц с острым вариантом ЭАА, через 2 месяца для пациентов с подострым, хроническим и рецидивирующим вариантами течения заболевания.

**Список публикаций**

1. Лепеха Л.Н., Макарьянц Н.Н., Антипова А.В. Морфологические особенности лёгких при экзогенных аллергических альвеолитах различной природы. Тезисы 20 национального конгресса по болезням органов дыхания.- ХХ сб.тр.- 2010.- С.213-214.
2. Шмелев Е.И., Макарьянц Н.Н. Опыт применения высоких доз ингаляционных кортикостероидов в сочетании с плазмaферезом в лечении больных ЭАА. Тезисы ХХ национального конгресса по болезням органов дыхания.-ХХ сборник трудов.- 2010.- С.154.
3. Макарьянц Н.Н., Лепеха Л.Н., Шмелев Е.И. Опыт применения лозалвана в терапии больных ЭАА. Тезисы 20 национального конгресса по болезням органов дыхания.- М.- ХХ сб.тр.- 2010.- С. 155.
4. Макарьянц Н.Н., Лепеха Л.Н., Шмелев Е.И. Эффективность применения лазолвана в комплексной терапии больных ЭАА. Тезисы конгресса «Человек и лекарство»,М.- 2011.- С.89-90.
5. Александрова Е.А., Макарьянц Н.Н., Лепеха Л.Н., Характеристика субпопуляций лимфоцитов периферической крови при различных вариантах ЭАА. // Сборник Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». -М. -2011.- С.206.
6. Макарьянц Н.Н**.**, Шмелев Е.И., Лепеха Л.Н. Особенности лечения различных вариантов экзогенного аллергического альвеолита.// В кн. : ЦНИИТ РАМН Актуальные вопросы борьбы с туберкулезом.- Материалы сессии.- М.- 2011.- С.122-123.
7. Александрова Е.А., Лепеха Л.Н., Макарьянц Н.Н. Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов в крови больных экзоегнным аллергическим альвеолитом.// В кн. ЦНИИТ РАМН Актуальные вопросы борьбы с туберкулезом.- Материалы сессии. М.- 2011.- С.27-38.
8. Макарьянц Н.Н., Лепеха Л.Н., Сивокозов И.В., Шмелев Е.И. Опыт применения лазолвана в лечении больных экзогенным аллергическим альвеолитом подострого течения. \\ Доктор. Ру.- 2011.- №6 (65).- С.54-57.
9. Лепеха Л.Н., Макарьянц Н.Н., Карпина Н.Л., Антипова А.В., Ловачева О.В., Садовникова С.С. Дифференциальная диагностика диссеминированного туберкулеза легких и экзогенного аллергического альвеолита (по данным морфологического исследования). \\Туберкулез и болезни легких.- 2011.- №4.- С.37.
10. Антипова А.В., Филиппов В.П., Макарьянц Н.Н., Лепеха Л.Н. Эндопульмональная цитограмма в диагностике экзогенного аллергического альвеолита различной природы. \\ Туберкулез и болезни легких.- 2011.- №4.- С.38.
11. Макарьянц Н.Н**.**, Шмелев Е.И. Использование новых схем в терапии больных острым, подострым и хроническими вариантами ЭАА.\\ Вестник Российской академии медицинских наук.- 2012.- №11.- С.39-44.
12. Лепеха Л.Н., Александрова Е.А., Евгущенко Г.В., Макарьянц Н.Н., Ловачева О.В. Цитологические показатели бронхоальвеолярного лаважа в оценке характера течения ЭАА. \\ Вестник Российской академии медицинских наук.- 2012.- №11.- С.34-39.
13. Макарьянц Н.Н., Лепеха Л.Н., Шмелев Е.И. Применение ингаляционных кортикостероиднов в сочетании с плазмаферезами в лечении больных с острым вариантом течения ЭАА. \\ Доктор. Ру.- 2012.- №8 (76).- С.41-44.
14. Макарьянц Н.Н., Шмелев Е.И., Лепеха Л.Н. Применение лазолвана в лечении больных ЭАА подострого течения.\\ Consilium medicum.- 2012.- №3.- том 14.- С.60-63.
15. Лепеха Л.Н., Бурцева С.А., Макарьянц Н.Н. Морфологическая диагностика диссеминированного туберкулеза и ЭАА. \\ Актуальные вопросы военной фтизиатрии. Сборник научных трудов. Пушкино.- 2012. -Том 1.- С.118-120.
16. Лепеха Л.Н., Макарьянц Н.Н. Использование активаторов суфактанта в комплексном лечении больных ЭАА подострого течения. \\ Актуальные вопросы военной фтизиатрии..- Пушкино.- 2012.- Том 3.- С.45-50.
17. Makaryants N., Lepekha L., Shmelev E. Inhalation of high doses of ICS in patients with acute extrinsic allergic alveolitis. //Eur. Respir. J.- 2012.- 40: Supp 16.- Р.- 51.
18. Sivokozov I., Lovacheva O., Shmelev E., Makaryants N.  - Impact of diagnostic pitfalls on the management of pulmonary sarcoidosis // Eur Respir J.- 2012.- 40: Suppl. 16.- P.- 115.
19. Makaryants N., Lepekha L., Shmelev E., Sivokozov I. Administration of lasolvan in the treatment for exogenic allergic alveolitis. // Eur. Respir. J.- 2012.- 40: Supp 16.- Р.- 49
20. Макарьянц Н.Н., Шмелев Е.И., Лепеха Л.Н. Опыт применения новых схем лечения больных с различными вариантами ЭАА. \\ Очерки клинической пульмонологии. Избранные труды под ред. Шмелева Е.И. Изд. «Атмосфера».- М.-2012.- С.94-103.
21. Макарьянц Н.Н., ЛепехаЛ.Н., Шмелев Е.И., Евгущенко Г.В., Амансахетов Р.Б. Дифференциальная диагностика и лечение различных вариантов экзогенного аллергического альвеолита..// Врач.- 2013- №2.- C.7-12.
22. Макарьянц Н.Н.**,** Шмелев Е.И., Лепеха Л.Н. Применение новых схем в лечении больных ЭАА. // Медицинский совет.- 2013.-№1.-С.8-14.
23. Макарьянц Н.Н., Демьяненко Н.Г., Лепеха Л.Н Клинический случай рецидивирующего варианта экзогенного аллергического альвеолита.//Эффективная фармакотерапия.-10/2013.- Пульмонология и отолярингология.-№1.- С.43-46.
24. Нефедов В.Б., Попова Л.А., Шергина Е.А., Макарьянц Н.Н**.** Нарушение функции легких при различных вариантах течения экзогенного аллергического альвеолита. // Туберкулез и болезни легких.- 2012. - №5.
25. Нефедов В.Б., Попова Л.А., Шергина Е.А., Макарьянц Н.Н**.** Нарушение функции легких при трех вариантах экзогенного аллергического альвеолита.// Функциональная диагностика. – 2012. - Принято к печати.
26. Макарьянц Н.Н., Лепеха Л.Н., Никитин С.С. Анализ гетерогенности лимфоцитов периферической крови больных экзогенным аллергическим альвеолитом с помощью проточной цитофлюориметрии.// Юбилейный сборник к 50-летию отдела иммунологии ЦНИИТ РАМН.-2013.- Принято к печати.

**Список сокращений.**

АК – альвеолярный компонент

АМ- альвеолярные макрофаги

Ац - альвеолоциты

БАЛ- бронхоальвеолярный лаваж

ГКС – гюкокортикостероиды

Гц – гистиоциты

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖЕЛ – жизненная емкость легких

ЖКТ – желудочнокишечный тракт

ИК – интерстициальный компонент

ИГКС – ингаляционные глюкокортикостероиды

КИ – кумулятивный индекс

КТВР – компьютерная томография высокого разрешения

МСВ (75,50,25)– максимальные скорости форсированного выдоха при выдохе 25, 50 и 75%

НК-клетки – натуральные киллеры

МФ – макрофагальная формула (БАЛ)

ОФВ1 – объем форсированного выдоха за 1 секунду

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ЧБЛ- чрезбронхиальная биопсия легких

РаО2 – парциальной давление кислорода

ЭАА – экзогенный аллергический альвеолит

ЦИК- циркулирующие иммунные комплексы

Тх (CD4) – Т-хелперы

Тс (CD8) – Т-супрессоры

ТЭМ – трансмиссионно-электронная микроскопия

DLCO – диффузионная способность легких

DLCO/VA – коэффициент диффузии

Ig – иммуноглобулины

NAC – ацетилцистеин

MRS - Medical Reserarch Council Grading System