

## Изменения метаболизма оксида азота при поллинозе и бронхиальной астме

ФГУ НИИ пульмонологии Росздрава, Лаборатория клинической и экспериментальной биофизики, г. Москва

I.A.Klimanov, S.K.Soodaeva, A.V.Lisitsa, A.G.Chuchalin

## Dynamics of nitric oxide (NO) metabolism in pollinosis and bronchial asthma

### Summary

The aim of this study was to investigate total concentrations of stable NO metabolites nitrites and nitrates ( $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ ) in exhaled breathe condensate (EBC) for monitoring allergic inflammation in patients with pollinosis (P) and bronchial asthma (BA) before and after seasonal allergen exposure and under the preliminary therapy with N-acetylcysteine (NAC).

We used spirometry, bronchodilating or challenge tests, allergic skin tests,  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  measurement in EBC. The study involved 113 non-smoking patients, of them 27 patients with P, 30 BA+P patients not receiving antioxidative treatment, and 25 BA+P patients who took NAC (100 mg daily for 30 days) before the allergic season begins (January to February). The control group included 31 healthy persons. BA patients used  $\beta_2$ -agonists as needed. EBC was investigated before (January to February) and after (April to May) allergen exposure.

The baseline  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  did not differ between P patients and controls and it was significantly higher in BA+P group compared to the control. After the allergen exposure, this parameter did not change in the control group but significantly increased in both P and BA + P patient groups ( $p = 0.02$  and  $p = 0.004$ , respectively).  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  did not change after the allergen exposure in BA + P patients receiving NAC.

Thus, the  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  in EBC reflects the intensity of oxidative injury and severity of airway inflammation. This method can be applied for monitoring inflammation and efficacy of treatment of atopic patients.

### Резюме

Целью настоящего исследования явилось исследование суммарной концентрации стабильных метаболитов оксида азота нитратов и нитритов ( $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ ) в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) для оценки атопического воспаления у пациентов с поллинозом (П) и бронхиальной астмой (БА) до и после экспозиции сезонных аллергенов при отсутствии антиоксидантной терапии и на фоне предсезонной терапии N-ацетилцистеином.

Обследование включало спирометрию, бронходилатационный или бронхопровокационный тесты, кожные скарификационные аллергопробы, измерение  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  в КВВ. Обследованы 113 некурящих пациентов: 27 человек с П, 30 больных БА в сочетании с П (БА + П) без антиоксидантной терапии, 25 больных БА+П на фоне предсезонной (январь-февраль) терапии N-ацетилцистеином (100 мг / сутки в течение 30 дней). В контрольную группу вошел 31 практически здоровый человек. Пациенты с БА использовали  $\beta_2$ -агонисты по необходимости. КВВ исследовался до (январь / февраль) и после (апрель / май) экспозиции аллергенов.

Исходно  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  не различалась у контрольных пациентов и больных с П и была достоверно выше в группе БА+П, чем в контрольной. В контрольной группе  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  после контакта с аллергенами достоверно не изменилась. В группе больных с П и с БА+П без антиоксидантной терапии  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  после экспозиции аллергенов увеличилась ( $p = 0,02$  и  $p = 0,004$ , соответственно). В группе БА + П на фоне предсезонной терапии N-ацетилцистеином  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  в сезон поллинииации существенно не изменилась.

Таким образом, концентрация нитратов и нитритов в КВВ отражает степень свободнорадикального повреждения и тяжесть воспаления в дыхательных путях и может с успехом применяться у пациентов с атопией для мониторинга течения воспаления и эффективности проводимой терапии.

### Введение

Распространенность поллиноза в разных странах по данным различных исследований колеблется от 4 до 35 % населения, в некоторых регионах она достигает 80 %. Проявления поллиноза оказывают нежелательное действие на психологическое состояние и социальную жизнь людей, вызывая нарушение когнитивной функции, памяти, способности к обучению, ограничению профессиональной деятельности. Несмотря на кажущуюся безобидность симптомов поллиноза, у большинства больных отмечается склонность к утяжелению симптомов, расширению спектра аллергенов, снижению эффективности проводимой терапии. Поллиноз зачастую является предшественником других заболеваний

дыхательных путей. Симптомы поллиноза отмечаются у 88 % больных бронхиальной астмой (БА). Несвоевременная и неадекватная терапия может ухудшать качество жизни больного, приводить к увеличению прямых затрат на лечение данного заболевания и развитию более тяжелых патологий, приводящих к инвалидизации пациентов [1].

Поллиноз является классическим проявлением IgE-опосредствованной аллергической реакции. Клинические симптомы поллиноза связывают с активацией в ответ на аллерген тучных клеток и с последующей инфильтрацией слизистой полости носа эозинофилами, лимфоцитами, базофилами, а также с вовлечением в процесс аллергического воспаления

эндотелиальных клеток [1]. Литературные данные указывают на увеличение числа активированных эозинофилов в соскобах со слизистой оболочки носа, коррелирующих с выраженностью симптомов заболевания [2]. Активация этих клеток приводит к их дегрануляции и высвобождению медиаторов воспаления, а также к развитию окислительного стресса и усилению генерации активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота (АФА) [3, 4].

Дисбаланс в системе окисданты-антиоксиданты может быть оценен по изменению концентрации маркеров окислительного стресса, таких как пероксид водорода, нитраты, нитриты, нитрозотиолы, нитротирозины и др., в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) при различных заболеваниях респираторного тракта [5]. Наиболее стабильными из указанных метаболитов являются нитрат и нитрит анионы, в определенной мере отражающие уровень синтеза оксида азота [6]. КВВ представляет собой жидкость, полученную в результате конденсации паров выдыхаемого воздуха, и состоит из конденсированных паров воды и диспергационных частиц с поверхности респираторного тракта. Наиболее вероятным местом образования диспергационных частиц являются верхние дыхательные пути, где имеется высокая турбулентность воздушного потока. Сбор конденсата является неинвазивной и необременительной процедурой для пациента.

Целью настоящего исследования явилось выявление возможности применения метода определения суммарной концентрации нитратов и нитритов ( $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ ) в КВВ для оценки динамики атопического воспаления у пациентов с поллинозом и БА до и после экспозиции сезонными аллергенами.

Исследование проводилось на базе ФГУ НИИ пульмонологии Росздрав МЗ и СР.

## Материалы и методы

Обследование включало общеклинические методы (анализы крови, мочи, ЭКГ, рентгенография грудной клетки), функциональные методы (кривая поток–объем, бронходилатационный или провокационный тест), кожные аллергопробы (скарификационные пробы), оценку качества жизни, исследование стабильных метаболитов оксида азота (нитратов / нитритов) в КВВ.

Были обследованы 88 некурящих человек. Пациенты с поллинозом составили группу из 27 человек, больные БА в сочетании с поллинозом — 30 человек, в контрольную группу вошел 31 практически здоровый человек. Пациентам с БА разрешалось использование  $\beta_2$ -агонистов по необходимости.

Во всех группах КВВ исследовался до (январь / февраль) и после (апрель / май) экспозиции аллергенами.  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса, с предварительным восстановлением нитратов до нитритов по методике, описанной в работе Е.А.За-

прудновой [6]. У больных с поллинозом и сочетанием поллиноза и БА проводилась оценка качества жизни по опроснику качества жизни больных с аллергическим риноконъюнктивитом (*Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire — RQLQ*), разработанного E.Juniper et al. в 1992 г. [7].

## Результаты

В ходе исследования не было выявлено достоверного изменения  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  до и после контакта с аллергенами в контрольной группе. Среднее значение измеряемого параметра составило здесь  $3,6 \pm 0,9$  мкМ до и  $4,0 \pm 1,1$  мкМ после экспозиции аллергенов в опытных группах. В группе больных с поллинозом отмечено достоверное увеличение  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  после экспозиции аллергенами с  $4,4 \pm 1,9$  мкМ до  $10,1 \pm 5,4$  мкМ ( $p = 0,02$ ) (рис. 1).

В группе больных БА с поллинозом также было выявлено достоверное увеличение  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  с  $7,5 \pm 2,8$  мкМ до  $19,7 \pm 5,4$  мкМ ( $p = 0,004$ ) (рис. 2). Причем, следует отметить статистически значимое превышение  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  до контакта с аллергеном у больных БА с поллинозом ( $p = 0,01$ ) и более выраженное возрастание  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  во время экспозиции аллергенами у этих же больных ( $p = 0,02$ ) по сравнению с пациентами с поллинозом.

Не обнаружено отличий между измеряемыми показателями в контрольной группе и группе больных поллинозом до контакта с аллергеном. Но выявлено

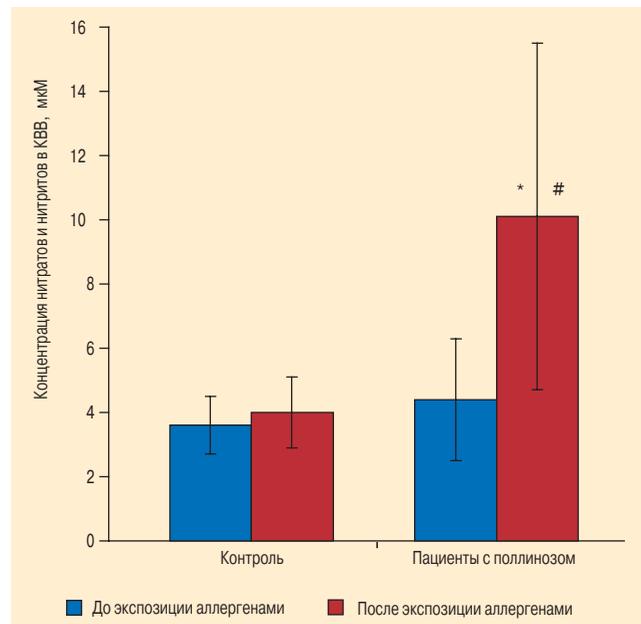


Рис. 1. Динамика изменения суммарной концентрации нитратов и нитритов в КВВ у больных с поллинозом до и после сезонной экспозиции аллергенами

В ходе исследования в группе больных с поллинозом отмечено достоверное увеличение  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  после экспозиции аллергенами ( $p = 0,02$ ), и не обнаружено отличий между измеряемыми показателями в этой группе до контакта с аллергеном в сравнении с контрольной группой, что может говорить об отсутствии воспалительных изменений респираторного тракта в фазу ремиссии у больных с поллинозом.

# — достоверно по сравнению с исходным значением,  $p < 0,05$

\* — достоверно по сравнению с контрольным значением,  $p < 0,05$

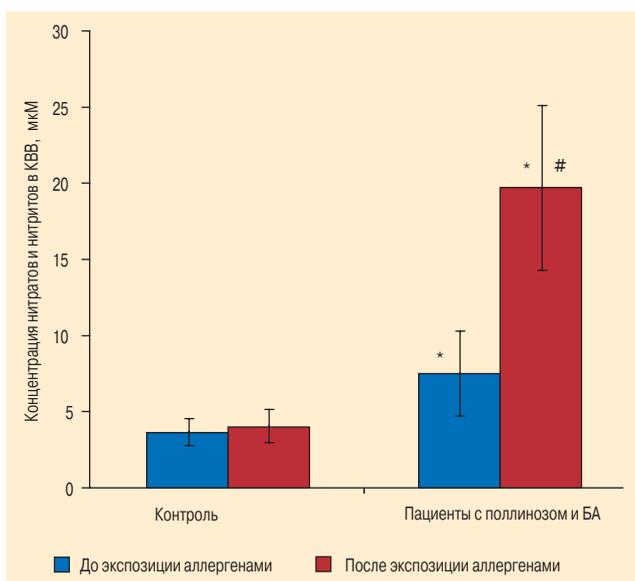


Рис. 2. Динамика изменения суммарной концентрации нитратов и нитритов в КВВ у больных БА в сочетании с поллинозом до и после сезонной экспозиции аллергенами

В ходе исследования в группе пациентов с сочетанием БА и поллиноза достоверное увеличение суммарной концентрации нитратов и нитритов в КВВ после экспозиции аллергенами по сравнению с исходными значениями ( $p = 0,004$ ).

\* — достоверно по сравнению с исходным значением,  $p < 0,05$ .

# — достоверно по сравнению с контрольным значением,  $p < 0,05$ .

достоверное превышение  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  в группе пациентов с БА и поллинозом по сравнению с контрольной.

По результатам анкетирования индекс качества жизни больных поллинозом и больных с сочетанием поллинозом и БА в сезон полликации составил  $1,35 \pm 0,16$  и  $1,6 \pm 0,21$  соответственно и достоверно не отличался.

## Обсуждение

В фазе ремиссии не обнаружено изменений  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  в КВВ в группе больных с поллинозом по сравнению с контрольной группой, что указывает на отсутствие воспалительных процессов в респираторном тракте у этих пациентов. В отличие от них у пациентов с сочетанием БА и поллиноза отмечался увеличенный синтез NO в фазу ремиссии аллергического ринита, что связано с текущим воспалением в респираторном тракте или / и с адаптивным изменением уровня синтеза оксида азота у больных БА. Эти результаты согласуются с данными ряда работ по изучению продукции оксида азота в респираторном тракте при БА [5, 6, 8]. Повышенные значения  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  в КВВ в группах пациентов с поллинозом и сочетанием БА и поллиноза в ходе сезонной экспозиции аллергенами в весенне-летний период свидетельствуют о развившемся аллергическом воспалении и усилении генерации АФА. Активация воспалительных клеток при этих заболеваниях сопровождается помимо усиленной продукции АФК и

АФА, так же выбросом целого спектра медиаторов воспаления, которые вызывают патологические изменения на клеточном и тканевом уровнях [1, 9, 10]. Наблюдаемое у пациентов с сочетанием БА и поллиноза более выраженное увеличение  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  связано с увеличением площади респираторного тракта вовлеченного в воспалительный процесс (носоротоглотки, трахеи, бронхиального дерева) и увеличением концентрации в выдыхаемом воздухе дисперсионных частиц с увеличенной концентрацией  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ .

Таким образом, методика определения стабильных метаболитов оксида азота (нитратов и нитритов) в КВВ отражает степень свободнорадикального повреждения в респираторных путях и может с успехом применяться у пациентов с атопией для мониторинга течения воспаления.

В ходе исследования в группе больных с поллинозом отмечено достоверное увеличение  $\Sigma \text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$  после экспозиции аллергенами ( $p = 0,02$ ) и не обнаружено отличий между измеряемыми показателями в этой группе до контакта с аллергеном в сравнении с контрольной группой, что может говорить об отсутствии воспалительных изменений респираторного тракта в фазу ремиссии у больных с поллинозом.

В ходе исследования в группе пациентов с сочетанием БА и поллиноза обнаружено достоверное увеличение суммарной концентрации нитратов и нитритов в КВВ после экспозиции аллергенами по сравнению с исходными значениями ( $p = 0,004$ ).

## Литература

1. Павлова К.С., Курбачева О.М. Клинико-экономический анализ терапии больных поллинозом. Пробл. стандартиз. в здравоохран. 2005; 4: 47–55.
2. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина; 1999.
3. Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. т. 29. М.; 1991.
4. Thomasi A., Ozden T., Sculachev P. Free radicals, nitric oxide, and inflammation: molecular, biochemical, and clinical aspects. (Series I: Life and Behavioural Sciences. Vol. 344). Amsterdam; 2003.
5. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. Biomarkers 2002; 7 (1): 1–32.
6. Запруднова Е.А. Изучение динамики метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха у детей при атопии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 2002.
7. Thompson A.K., Juniper E., Maltzer E.O. Quality of life in patients with allergic rhinitis. Ann. Allergy Asthma Immunol. 2000; 85 (5): 338–347.
8. Вознесенский Н.А. Выдыхаемый оксид азота — биомаркер бронхиальной астмы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2000.
9. Гриппи М.А. Патофизиология легких. 3-е изд. М.: Изд-во "БИНОМ"; СПб.: Невский Диалект; 2001.
10. Чучалин А.Г. (ред.) Бронхиальная астма. М.: Агар; 1997; т. 1–2.

Поступила 07.07.06

© Коллектив авторов, 2006

УДК [616.248+616.211-002.193]-07:616-008.921.7-074