У.Р.Фархутдинов^{1, 2}, Л.М.Абдрахманова², Ш.У.Фархутдинов²

Влияние галотерапии на свободнорадикальное окисление у пациентов с заболеваниями легких

1 – Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа;

2 – Больница № 21, г. Уфа

U.R.Farkhutdinov, L.M.Abrakhmanova, Sh.U.Farkhutdinov

Effects of halotherapy on free radical oxidation in patients with lung diseases

Summary

Generation of active oxygen forms (AOF) in whole blood was studied in 32 patients with bronchial asthma (BA) and 39 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by luminol-dependent chemiluminescence (ChL). ChL intensity of blood was decreased in all patients. Halotherapy (HT) was used in 15 patients with BA and 19 patients with COPD. Standard treatment was administered to 17 patients with BA and 20 patients with COPD. Abnormal AOF production and symptoms of disease persisted in patients after standard treatment. HT increased AOF production and improved treatment efficiency in patients with BA and COPD.

Резюме

Методом регистрации люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) у 32 больных бронхиальной астмой (БА) и 39 больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) исследовали генерацию активных форм кислорода (АФК) в цельной крови. Интенсивность ХЛ цельной крови у больных была снижена. В комплексном лечении у 15 пациентов с БА и 19 – с ХОБЛ применяли галотерапию (ГТ). Общепринятую терапию получали 17 больных БА и 20 пациентов с ХОБЛ. После общепринятой терапии у большинства обследованных сохранялись симптомы заболевания, оставалась низкой продукция АФК в крови. Использование ГТ повышало генерацию АФК и улучшало результаты лечения.

Важное значение в патогенезе хронических заболеваний легких придается активным формам кислорода (АФК), продуцируемым фагоцитирующими клетками [1, 2]. Метаболиты кислорода определяют микробицидный потенциал фагоцитов, и пониженное образование АФК может привести к развитию персистирующего воспаления [3, 4]. В связи с этим у больных с хроническими воспалительными заболеваниями легких целесообразно использовать методы лечения, повышающие кислородозависимый метаболизм фагоцитов. Способностью увеличивать количество фагоцитирующих клеток и повышать их функциональную активность обладает аэрозоль хлорида натрия [5, 6]. Использование высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия является основным лечебным фактором галотерапии (ГТ) [7]. Механизмы действия ГТ на состояние кислородзависимого метаболизма клеток у пациентов с хроническими заболеваниями легких изучены недостаточно и требуют дополнительного анализа.

Целью данной работы явилось исследование продукции активных форм кислорода в крови у больных бронхиальной астмой (БА) и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), изучение характера влияния ГТ на этот процесс.

Материал и методы

В исследовании участвовали 32 больных БА и 39 больных ХОБЛ среднетяжелого и тяжелого течения. Среди больных БА было 20 женщин (62,5 %) и

12 мужчин (37,5 %), среди больных ХОБЛ – 32 мужчины (82,1 %) и 7 женщин (17,9 %). Средний возраст больных БА составил $40,3 \pm 2,4$ года, а ХОБЛ – $52,7 \pm 4,2$ года. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц. Ко всем пациентам в процессе лечения применялись клиничко-лабораторные, рентгенологические, инструментальные методы исследования, оценивалась функция внешнего дыхания (ФВД). В сыворотке крови больных определяли содержание молекул средней массы (МСМ) [8], циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) [9]. Люминолзависимую хемилюминесценцию (ХЛ) цельной крови, отражающую интенсивность генерации АФК [10], выявляли посредством аппарата "Хемилюминомер-003" (УТАТУ, Россия). Кровь из локтевой вены пациентов забирали утром натощак в количестве 3 мл и помещали в пластиковую пробирку с гепарином из расчета 50 ед. на 1 мл. Вначале в течение 10 мин регистрировали спонтанную ХЛ (СПХЛ) цельной крови. Для этого к 2 мл физиологического раствора с растворенным в нем 10^{-5} М люминола добавляли 0,1 мл крови и помещали в термостатируемую камеру прибора, где поддерживалась постоянная температура 37 °С. Для изучения индуцированной ХЛ (ИНХЛ), отражающей микробицидный потенциал клеток, использовали 18-часовую культуру стафилококка штамма –209 в концентрации 10^9 микробных клеток в 1 мл. В иммунологической планшете смешивали 0,1 мл крови с 0,01 мл культуры стафилококка и инкубировали в течение 2 мин. После этого содержимое планшеты

вносили в 2 мл физиологического раствора с люминолом и помещали в прибор. Запись свечения проводили также в течение 10 мин. Анализировали спонтанное свечение (СПС), максимальную светимость (МС), светосумму свечения (СС) СПХЛ и ИНХЛ. Полученные результаты выражали в относительных единицах по отношению к эталону свечения, суммарный световой поток которого составил $5,1 \times 10^5$ квант/с.

Для количественной оценки состояния больных ХНЗЛ проводили расчет клинического индекса тяжести заболевания (ПК) [11].

В группу сравнения вошли 17 больных БА и 20 больных ХОБЛ, получавших общепринятую терапию (ОТ), в которой использовались базисные, антибактериальные и муколитические препараты. Основную группу составили 15 пациентов с БА и 19 – с ХОБЛ, прошедшие в комплексе лечебных мероприятий курс ГТ. Лечебный микроклимат ГТ обеспечивался галокомплексом (АО "Аэромед", г. Санкт-Петербург). ГТ проводилась в основном режиме при стабильной температуре среды 18–23 °С и влажности 45–55 %. Курс лечения ГТ состоял из 10 процедур длительностью 60 мин.

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы *Statistica for Windows 2000* с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

У пациентов с БА показатели СПХЛ цельной крови были снижены по сравнению с группой контроля (табл. 1): СПС – до $0,23 \pm 0,02$ отн. ед. ($p < 0,05$), МС – до $1,02 \pm 0,03$ отн. ед. ($p < 0,05$), а СС – до $4,91 \pm 0,3$ отн. ед. ($p < 0,05$). СПС ИНХЛ у них также было ниже, чем у здоровых, и составило $1,07 \pm 0,06$ отн. ед. ($p < 0,05$). У больных ХОБЛ показатели СПХЛ цельной крови были снижены в 1,6–2,3 раза по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Интенсивность СПС индуцированной культурой стафилококка ХЛ крови у этих пациентов была также ниже, чем у здоровых и составила $1,32 \pm 0,05$ отн. ед. ($p < 0,05$). Таким образом, в данном исследовании

у больных ХОБЛ и БА отмечалось снижение продукции АФК в цельной крови.

При госпитализации все пациенты с БА предъявляли жалобы на кашель и приступы удушья, у 9,4 % из них отмечался субфебрилитет. При анализе крови умеренный лейкоцитоз выявлялся у 25,0 %, эозинофилия – у 12,5 %, повышенное СОЭ – у 21,9 % больных БА. Значительные нарушения показателей легочной вентиляции регистрировались у 56,2 % обследованных. ПК у больных БА составил $1,24 \pm 0,04$.

При анализе клинической картины заболевания у пациентов с ХОБЛ были установлены следующие особенности. При госпитализации у всех из них отмечались кашель и одышка, у 97,4 % выслушивались сухие хрипы в легких, у 23,1 % отмечалась субфебрильная температура тела, у 33,3 % – лейкоцитоз и повышенное СОЭ в периферической крови. Показатели ФВД были значительно снижены у 87,2 % пациентов. ПК у этих больных составил $1,89 \pm 0,08$.

Результаты лечения больных БА и ХОБЛ представлены в табл. 2. Применение ГТ у больных БА привело к повышению исходно пониженных показателей СПХЛ цельной крови в 1,5–1,9 раза ($p < 0,05$). СПС и СС ИНХЛ у этих пациентов возросли соответственно с $1,08 \pm 0,06$ отн. ед. до $1,50 \pm 0,12$ отн. ед. ($p < 0,05$) и с $30,7 \pm 2,6$ отн. ед. до $42,63 \pm 3,3$ отн. ед. ($p < 0,05$). После проведенного лечения кашель и катаральные явления в легких сохранялись у 20,0 % больных БА, приступы удушья отмечались у 6,6 %, нарушения вентиляционных показателей регистрировались у 13,3 % таких пациентов.

При ОТ у больных БА интенсивность СПХЛ клеток крови оставалась низкой, что свидетельствовало о сохраняющейся депрессии микробицидной активности клеток. После лечения приступы удушья отмечались у 23,5 % больных, кашель и хрипы в легких сохранялись у 41,2 %, показатели ФВД были снижены у 29,1 % обследованных. ПК у этих больных оказался выше, чем у получавших ГТ ($0,65 \pm 0,02$ против $0,50 \pm 0,03$; $p < 0,05$).

Следовательно, применение ГТ у больных БА усиливало экспрессию АФК клетками крови, повышало их микробицидную активность, что положительным образом отразилось на клинической картине заболевания. При использовании ГТ у больных ХОБЛ отмечалось повышение сниженных показателей СПХЛ цельной крови в 1,5–2,6 раза ($p < 0,05$). Аналогичные показатели ИНХЛ клеток крови у этих больных повысились в 1,2–1,9 раза ($p < 0,05$). По окончании курса ГТ у 47,3 % больных ХОБЛ отмечались кашель, одышка и хрипы в легких, у 42,1 % – нарушения показателей легочной вентиляции.

Напротив, на фоне ОТ большинство показателей ХЛ крови у больных были ниже контрольных значений. Жалобы на кашель и одышку сохранялись у 70,0 % больных, хрипы в легких выслушивались у 65,0 %, значительные нарушения легочной вентиляции регистрировались у 75,0 % обследованных. После лечения ПК у этих больных оказался выше, чем у получавших ГТ, и составил $1,08 \pm 0,04$ против $0,93 \pm 0,03$ соответственно ($p < 0,05$). Таким образом,

Таблица 1
Показатели хемилюминесценции крови у больных ХНЗЛ (отн. ед.)

Показатели ХЛ	Группа контроля (n = 30)	Больные БА (n = 32)	Больные ХОБЛ (n = 39)
СПХЛ:			
СПС	$0,43 \pm 0,06$	$0,23 \pm 0,02^*$	$0,19 \pm 0,02^*$
МС	$1,49 \pm 0,09$	$1,02 \pm 0,03^*$	$0,91 \pm 0,04^*$
СС	$8,8 \pm 0,62$	$4,91 \pm 0,3^*$	$4,1 \pm 0,28^*$
ИНХЛ:			
СПС	$1,54 \pm 0,13$	$1,07 \pm 0,06^*$	$1,32 \pm 0,05^*$
МС	$2,73 \pm 0,18$	$4,6 \pm 0,23^*$	$4,27 \pm 0,36^*$
СС	$22,17 \pm 1,08$	$30,2 \pm 2,63$	$28,1 \pm 2,65$

Примечание: здесь и далее СПХЛ – спонтанная хемилюминесценция; ИНХЛ – индуцированная хемилюминесценция; СПС – спонтанное свечение; МС – максимальная светимость; СС – светосумма свечения; * – $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля.

Таблица 2

Влияние галотерапии на показатели хемилюминесценции крови у больных ХНЗЛ (отн. ед.)

Показатели ХЛ	Группа контроля (n = 30)	Больные БА (n = 32)				Больные ХОБЛ (n = 39)			
		ГТ (n = 15)		ОТ (n = 17)		ГТ (n = 19)		ОТ (n = 20)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
СПХЛ:									
СпС	0,43 ± 0,06	0,24 ± 0,02*	0,38 ± 0,02**	0,23 ± 0,01*	0,24 ± 0,03*	0,19 ± 0,01*	0,5 ± 0,13**	0,2 ± 0,02*	0,23 ± 0,05*
МС	1,49 ± 0,09	1,01 ± 0,03*	1,5 ± 0,2**	1,03 ± 0,03*	1,03 ± 0,04*	0,90 ± 0,04*	1,34 ± 0,17**	0,92 ± 0,03*	0,84 ± 0,01*
СС	8,8 ± 0,62	4,92 ± 0,02*	9,4 ± 0,8**	4,9 ± 0,3*	5,28 ± 0,4*	4,0 ± 0,25*	9,2 ± 1,33**	4,2 ± 0,28*	4,2 ± 1,023*
ИНХЛ:									
СпС	1,54 ± 0,13	1,08 ± 0,06*	1,5 ± 0,12**	1,06 ± 0,052*	1,23 ± 0,11*	1,32 ± 0,04*	2,03 ± 0,03*, **	1,33 ± 0,05*	1,1 ± 0,04*, *
МС	2,73 ± 0,18	4,6 ± 0,2*	5,0 ± 0,5*, **	4,61 ± 0,21*	3,6 ± 0,4*	4,26 ± 0,32*	5,28 ± 0,6*, **	4,28 ± 0,38*	2,8 ± 0,21**
СС	22,17 ± 1,1	30,7 ± 2,6	42,6 ± 3,3*, **	29,8 ± 2,58	33,3 ± 3,21	28,01 ± 2,6	53,6 ± 6,4*, **	29,2 ± 2,6	19,8 ± 1,2**

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля; ** – $p < 0,05$ по сравнению с периодом до лечения.

использование ГТ у больных ХОБЛ способствовало повышению интенсивности генерации АФК клетками цельной крови, улучшению течения заболевания.

Анализируя полученные результаты, следует принимать во внимание, что характер свечения цельной крови зависит от многих факторов. ХЛ гранулоцитов в присутствии люминола преимущественно определяется активностью фермента миелопероксидазы (МПО) [4, 12]. Недостаточное образование МПО в фагоцитах является одним из ведущих факторов формирования вялотекущего воспалительного процесса [4]. Повышение же ХЛ цельной крови, наблюдаемое у больных ХНЗЛ, при ГТ может быть обусловлено стимуляцией реакций, протекающих в клетках с участием данного фермента. Имеются данные относительно повышения содержания МПО в нейтрофилах крови и уменьшения бактериальной сенсibilизации у больных БА на фоне спелеотерапии [13], лечебным фактором которой является соль хлорида натрия. Напротив, эндотоксины и ЦИК способны подавлять бактерицидную и поглотительную активность фагоцитов, блокировать рецепторный аппарат клеток [14, 15], что создает условия для развития персистирующего воспаления.

Как показали наши исследования, для больных ХНЗЛ было характерным повышенное содержание в сыворотке крови МСМ, являющихся маркерами эндотоксикоза, и ЦИК (табл. 3).

В процессе ГТ у больных БА и ХОБЛ происходило снижение содержания МСМ и ЦИК в сыворотке крови. У пациентов с БА содержание МСМ снизи-

лось с $0,24 \pm 0,003$ усл. опт. ед. до $0,21 \pm 0,004$ усл. опт. ед. ($p < 0,05$), а ЦИК – с $149,5 \pm 4,3$ усл. опт. ед. до $130,3 \pm 4,0$ усл. опт. ед. ($p < 0,05$). У больных ХОБЛ уровень МСМ снизился с $0,24 \pm 0,003$ усл. опт. ед. до $0,21 \pm 0,003$ усл. опт. ед. ($p < 0,05$), а ЦИК – с $153,5 \pm 7,6$ усл. опт. ед. до $132,7 \pm 5,2$ усл. опт. ед. ($p < 0,05$). При ОТ у больных ХНЗЛ уровень ЦИК и МСМ в сыворотке крови оставался повышенным. Представляется вероятным, что высокий уровень МСМ в сыворотке крови у таких пациентов является следствием снижения элиминации эндотоксинов в результате дисфункции фагоцитоза. И напротив, снижение содержания МСМ в процессе ГТ может быть обусловлено повышением активности фагоцитирующих клеток.

Таким образом, проведенные исследования вызвали у больных БА и ХОБЛ пониженную генерацию АФК в цельной крови. Благодаря использованию ГТ у пациентов с БА и ХОБЛ повысилась микробицидная активность клеток крови, уменьшились проявления эндотоксикоза, улучшились результаты проводимого лечения.

Заключение

1. У больных БА и ХОБЛ методом регистрации люминолзависимой ХЛ выявлена пониженная продукция АФК в цельной крови.
2. Применение ГТ у пациентов с заболеваниями легких повышало генерацию АФК в цельной крови, уменьшало проявления эндотоксикоза и улучшало клиническое течение заболевания.

Таблица 3

Влияние галотерапии на содержание МСК и ЦИК в сыворотке крови у больных ХНЗЛ (усл. опт. ед.)

Показатели ХЛ	Группа контроля (n = 30)	Больные БА (n = 32)				Больные ХОБЛ (n = 39)			
		ГТ (n = 15)		ОТ (n = 17)		ГТ (n = 19)		ОТ (n = 20)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
МСМ	0,207 ± 0,002	0,24 ± 0,003*	0,21 ± 0,004**	0,24 ± 0,004*	0,23 ± 0,005*	0,24 ± 0,003*	0,21 ± 0,003**	0,24 ± 0,005*	0,25 ± 0,007*
ЦИК	130,75 ± 4,11	149,5 ± 4,3*	130,3 ± 4,0**	150,6 ± 5,2*	145,1 ± 4,8*	153,5 ± 7,6*	132,7 ± 5,2**	155,4 ± 7,2*	185,5 ± 9,4**

Примечание: МСМ – молекулы средней массы; ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы; * – $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля; ** – $p < 0,05$ по сравнению с периодом до лечения.

Литература

1. Коган А.Х. Фагоцитзависимые кислородные — свободнорадикальные механизмы аутоагрессии в патогенезе внутренних болезней. Вестн. РАМН 1999; 2: 3–10.
2. Соодаева С.К. Роль свободнорадикального окисления в генезе ХОБЛ. Атмосфера 2002; 4: 24–25.
3. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б. АКМ — главное оружие фагоцитов в борьбе с микроорганизмами. В кн.: Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и болезни человека. Смоленск; 2005. 32–35.
4. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза. Казань: Магариф; 1993.
5. Гончарук С.Ф., Бахолдина Е.И., Федорчук Т.И. Роль макрофагально-лейкоцитарного звена иммунной системы в механизме десенсибилизирующего действия спелеотерапии. Вopr. курортол. 1992; 3: 59–61.
6. Коновалов С.И., Дубовинская А.В., Пчелинцев С.Ю. и др. Экспериментальная оценка влияния сухого солевого аэрозоля на альвеолярные макрофаги. В кн.: Клинико-эпидемиологические аспекты проблемы неспецифических заболеваний легких и актуальные вопросы их вторичной профилактики. СПб.; 1993. 109–113.
7. Червинская А.В., Коновалов С.И., Страшнова О.В., Степанова Н.Г. Применение медтехнологии галотерапии в комплексном лечении и реабилитации заболеваний органов дыхания. М.; 1995.
8. Габриэлян Н.И., Дмитриев А.А., Кулаков Г.П. и др. Диагностическая ценность определения средних молекул в плазме крови при нефрологических заболеваниях. Клини. мед. 1981; 10: 38–42.
9. Меньшиков В.В. (ред.). Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина; 1987.
10. Фархутдинов Р.Р. Методы исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминесценции биологического материала на хемилюминесценции ХЛ — 003. В кн. Методы оценки антиоксидантной активности веществ лечебного и профилактического назначения. М.: РУДН; 2005. 147–155.
11. Марчук Г.И., Бербенцова Э.П. Результаты применения количественного метода для оценки тяжести и динамики острой пневмонии, хронического бронхита и бронхиальной астмы. Тер. арх. 1986; 3: 63–71.
12. Говорова Н.Ю., Лызлова С.И., Шаронов Б.П., Янковский О.Ю. Особенности хемилюминесценции люминола, возбуждаемой при каталитическом действии миелопероксидазы. Биохимия 1987; 10: 1670–1676.
13. Ефимова Л.К., Женеваляк Л.П., Дворщина Л.И. и др. Влияние спелеотерапии на иммунологическую реактивность детей, больных бронхолегочными заболеваниями. В кн. Современные методы иммунокоррекции при бронхолегочной патологии. Л.; 1990. 86–91.
14. Пермяков И.К., Яковлев М.Ю., Галанкин В.Н. Эндотоксин и система полиморфноядерного лейкоцита. Арх. пат. 1989; 5: 3–11.
15. Яхонтова О.И., Дудинова О.П. Роль иммунных комплексов при хронических заболеваниях печени и их динамика в процессе лечения. Тер. арх. 1992; 2: 10–15.

Поступила 12.11.07
© Коллектив авторов, 2008
УДК 616.24-085.31-092