О.В.Козина [1], В.В.Андрушкевич [2], А.Э.Сазонов [2], И.В.Петрова [2], В.А.Егоров [3], Е.В.Комякова [1], Н.Н.Чусова [4], М.С.Юсубов [2], Л.М.Огородова [2]

Клинико-биохимические аспекты развития обструкции бронхов при бронхиальной астме

1 – Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, г. Петропавловск-Камчатский;
2 – Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск;
3 – Камчатский областной онкологический диспансер, г. Петропавловск-Камчатский;
4 – Городская больница №1, г. Петропавловск-Камчатский

O.V.Kozina, V.V.Andrushkevich, A.E.Sazonov, I.V.Petrova, V.A.Egorov, E.V.Komyakova, N.N.Chusova, M.S.Yusubov, L.M.Ogorodova

Clinical and biochemical aspects of development of bronchial obstruction in asthma

Summary

The aim of this study was to investigate NO- and lipid peroxidation (LPO)-related airway reactivity and its correlation to ventilation disorders in different clinical variants of asthma. NO, malone dialdehyde, IL-4, TNF-α, and IgE were measured in BAL fluid and blood serum of 39 asthma patients and 15 healthy volunteers matched for age and gender.

In patients with stable asthma, airflow parameters in small and medium airways were significantly decreased compared to those of healthy persons. Concentrations of key cytokines of atopic inflammation in BAL fluid and serum were increased in asthma patients. Serum IgE tended to decrease and IL-4 and TNF-α in BAL fluid increased in asthma patients while the disease worsened. Inverse correlations were found between NO and TNF-α, malone dialdehyde concentration and parameters of bronchial obstruction.

In conclusion, NO production in airways is caused by strong accumulation of inflammatory cells with high metabolic activity resulting in release of inflammatory and pro-inflammatory cytokines which regulate immunopathological reagine-induced inflammation.

Резюме

Цель исследования состояла в оценке активности оксида азота (NO) и процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в дыхательных путях при различных клинических формах БА и взаимосвязи этих процессов с нарушениями функции внешнего дыхания (ФВД). Проведена оценка содержания NO, малонового диальдегида (МДА), интерлейкина-4 (IL-4), фактора некроза опухоли α (TNF-α) и иммуноглобулина Е (IgE) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖЖБАЛ) и сыворотке крови 39 пациентов с БА и у 15 добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу. У всех обследованных больных БА в период клинической ремиссии, в отличие от здоровых лиц, достоверно снижены показатели, характеризующие проходимость мелких и средних бронхов. Подтверждено повышение содержания ключевых цитокинов атопического воспаления в ЖБАЛ и в сыворотке крови больных БА. Выявлены тенденции к снижению содержания IgE в сыворотке крови и повышению IL-4 и TNF-α в жидкости бронхоальвеолярного лаважа у больных БА по мере нарастания тяжести заболевания. Обнаружены отрицательные корреляции между между NO и TNF-α, уровнем МДА и показателями, характеризующими ФВД и степень бронхиальной обструкции. NO-продуцирующая функция дыхательных путей обусловлена мощной аккумуляций воспалительных клеток в респираторной системе и их высокой метаболической активностью, проявляющейся выработкой воспалительных и провоспалительных цитокинов, регулирующих иммунопатологическое реагиновое воспаление.

По современным представлениям, воспаление дыхательных путей является основным морфологическим признаком бронхиальной астмы (БА), определяющим ее клинические симптомы и нарушение функции внешнего дыхания (ФВД) [1–3]. Поскольку биохимические нарушения предшествуют морфологическим изменениям в легких, особое внимание многих исследователей сосредоточено на изучении роли оксида азота (NO) [4–9] и процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4, 10–13].

Огромный интерес клиницистов к NO как ключевой молекуле воспаления обусловлен особенностями его экспирации и возможностью использования в качестве маркера для оценки тяжести заболевания [1, 2, 14, 15]. Согласно исследованиям ряда авторов концентрация NO в крови, конденсате выдыхаемого воздуха, бронхоальвеолярном лаваже (ЖБАЛ) значительно увеличивается при воспалительных заболеваниях [4, 5, 14, 16–18]. Доказано, что резкое увеличение секреции NO может усугублять аллергическое воспаление в дыхательных путях через подавление продукции интерферона-α и стимуляцию образования интерлейкинов 4 и 5 (IL-4 и IL-5), в свою очередь играющих ключевую роль в формировании эозинофилии и повышении экспрессии иммуноглобулина Е (IgE) [17, 19, 20]. Известно, что высокие концентрации сывороточных IL-4 и фактора некроза опухоли α (TNF-α) являются маркерами БА и в целом отвечают за атопическое воспаление [16, 21, 22]. Эти цитокины способны через активацию транскрипционного ядерного фактора NF-kappa-β приводить к экспрессии индуцибельной NO-синтазы (iNOS), отвечающей за синтез больших количеств NO при БА [1, 20, 23–25].

К настоящему времени установлено, что у больных БА по сравнению со здоровыми людьми отмечается активизация ПОЛ на фоне недостаточности систем антиоксидантной защиты, кроме того, процессы ПОЛ значительно усиливаются при обострении заболевания [4, 10–13].

Существующая обширная литература представляет данные, поддерживающие как антивоспалительный, так и провоспалительный вклад NO в инициацию и развитие заболевания [3, 7–9]. Однако, на сегодняшний день связь между уровнем NO, интенсивностью ПОЛ, степенью гиперреактивности бронхов и симптомами БА не до конца выяснена.

Цель исследования состояла в оценке параметров NO- и ПОЛ-зависимых процессов в дыхательных путях для выявления вклада нитрозилирующего и оксидативного стресса при различных клинических формах БА и его взаимосвязи с нарушениями функции внешнего дыхания (ФВД).

Материалы и методы

За период 2005–2006 гг. проведено обследование и тестирование 39 жителей г. Петропавловска-Камчатского, страдающих БА, и находящихся на амбулаторном лечении в поликлиническом отделении Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. Для диагностики БА и оценки ее тяжести использовали критерии GINA [26]. Группу контроля составили 15 добровольцев без БА и других атопических заболеваний. Исследования во всех группах проводили на основании информированного согласия участников. Атопический статус оценивали с помощью аллергологического анамнеза, проведения кожных аллергопроб, исследования уровня общего IgE сыворотки крови.

Бронхоскопию проводили в утренние часы натощак под местной анестезией 10%-ным лидокаином. Введение 150 мл стерильного предварительно подогретого до 37 °С физиологического раствора через сегментарный или субсегментарный бронх осуществлялось дробно по 20–60 мл. Полученные бронхоальвеолярные смывы были разделены на аликвоты для последующего определения стабильных метаболитов NO – NO_2^- и NO_3^- (спектрофотометрически с помощью реактива Грисса) [15], малонового диальдегида (МАД) – по реакции с тиабарбитуровой кислотой [27], свободных цитокинов – IL-4 и TNF-α (иммуноферментным методом с использованием наборов "Вектор-Бест", каталожные №№ А8754 и А8756 соответственно, чувствительность анализа – до 2 пг/мл), реагиновых антител – IgE (иммуноферментным методом с использованием наборов "Хема-Медика", каталожный № К200, чувствительность анализа – 0–10 МЕ/мл).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ *Statistica 5.5a*. При анализе данных были использованы общепринятые методы параметрической и непараметрической статистики. Для определения взаимосвязи между изучаемыми показателями рассчитывали коэффициент корреляции (тест Спирмена). Изменения считались значимыми при достоверности $p < 0,05$. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка среднего.

Результаты и обсуждение

Тяжесть БА была классифицирована с учетом текущей ступени лечения на основе признаков, сохранявшихся в течение последних 2 недель до включения в исследование. У 8 человек была выявлена легкая, у 19 – среднетяжелая и у 12 больных – тяжелая форма течения БА. Средний возраст пациентов БА составил 52,51 ± 22,35 года, длительность заболевания – от 1,5 до 47 лет. Контрольная группа была сопоставима по возрасту и полу (табл. 1).

Для оценки характера нарушений ФВД и доказательства обратимости бронхообструкции были определены форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1-ю с ($ОФВ_1$), максимальные объемные скоростные потоки выдоха на уровне 25, 50, 75 % от ФЖЕЛ ($МОС_{25–75}$) (спирометрия) и пиковая скорость выдоха – ПСВ (пикфлоуметрия) (рисунок).

У всех обследованных больных, в отличие от здоровых лиц, наряду с клиническими проявлениями заболевания регистрировалось значительное снижение всех изучаемых показателей ФВД. При определении уровня бронхиальной обструкции установлено достоверное снижение показателей, характеризующих проходимость мелких ($МОС_{25}$) и средних ($МОС_{50}$) бронхов больных БА, тогда как крупные бронхи были вовлечены в процесс гораздо в меньшей степени, о чем свидетельствовали статистически не значимые изменения $МОС_{75}$.

Учитывая значение мембранодеструктивных процессов в формировании воспаления и хронизации заболевания, изучали состояние ПОЛ, исследуя содержание его конечного продукта – МДА в ЖБАЛ (табл. 2).

Таблица 1
Характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатель	Группы пациентов			
	контроль	легкая БА	среднетяжелая БА	тяжелая БА
Число мужчин	3	5	1	1
Число женщин	12	3	18	11
Возраст, лет ($M \pm m$)	45,32 ± 7,3	41,75 ± 21,11	43,26 ± 12,53	54,58 ± 6,88
Длительность заболевания, лет ($M \pm m$)		14,63 ± 10,07	13,58 ± 7,23	15,42 ± 11,90

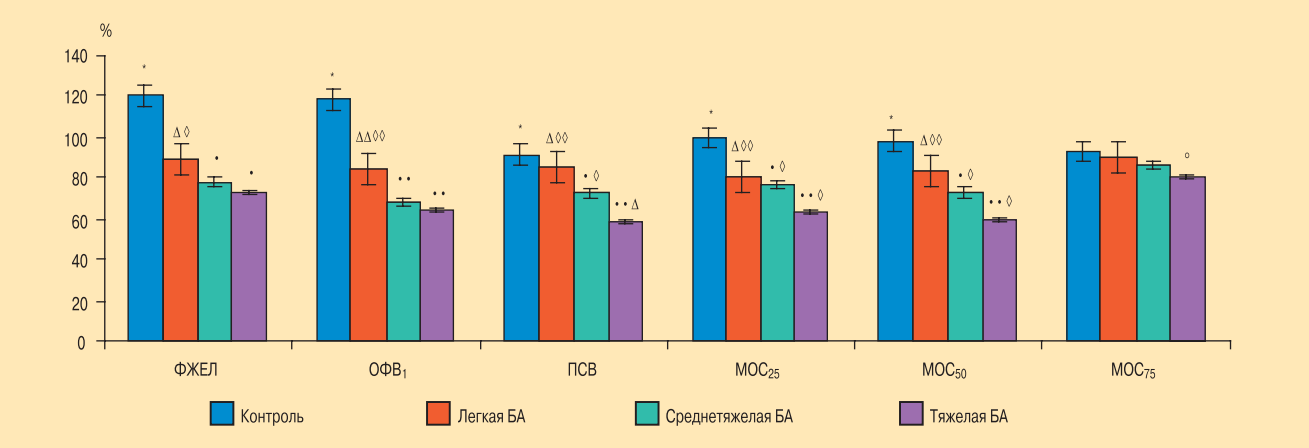

Рисунок. Показатели функциональных тестов во всех группах пациентов
Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с БА; • – $p < 0,05$; •• – $p < 0,001$ в сравнении с легкой БА; $^{\Delta}$ – $p < 0,05$; $^{\Delta\Delta}$ – $p < 0,001$ в сравнении со средней БА; $^{\Diamond}$ – $p < 0,05$; $^{\Diamond\Diamond}$ – $p < 0,001$ в сравнении с тяжелой БА; $^{\circ}$ – $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Установлено, что у больных БА по сравнению со здоровыми лицами происходит усиление пероксидации в ЖБАЛ. Так, проведенное исследование позволило выявить отчетливую зависимость изменения параметра ПОЛ от тяжести состояния пациентов с БА, что согласуется с результатами, полученными ранее другими исследователями [4, 10–12]. Выявленную активацию свободнорадикальных процессов при утяжелении БА возможно связать с усилением генерации активных форм кислорода лейкоцитами крови, альвеолярными макрофагами, тучными клетками. Усиление процессов ПОЛ и недостаточность систем антиоксидантной защиты делают уязвимыми плазматические мембраны клеток [13]. Вероятно, данный факт связан с хронизацией воспаления, с одной стороны, и с необратимыми процессами ремоделирования стенки дыхательных путей при БА, с другой.

Взаимосвязь анализируемого маркера пероксидации и бронхиальной обструкции проявилась в виде отрицательных корреляций: с увеличением количества значимого для бронхиальной обструкции контролируемого фактора происходило снижение изменяемых параметров ФВД (табл. 3).

Из представленных данных следует, что активация ПОЛ развивается и имеет патогенетический механизм, связанный с ограничением воздушного потока в бронхах. Отметим, что у больных со среднетяжелой и тяжелой формой течения БА были выявлены сильные и средней степени, но статистически достоверные отрицательные корреляции ($r = -0,75...-0,59$ при $p = 0,002–0,049$) между уровнем МДА и показателями, характеризующими ФВД и степень бронхиальной обструкции. Однако у пациентов с легкой персистирующей БА, несмотря на интенсификацию ПОЛ в ЖБАЛ, высокие значения МДА можно интерпретировать только как фактор, связанный с нарушением ФВД.

Изучение NO-продуцирующей функции респираторного тракта обследованных пациентов показало достоверное повышение содержания метаболитов NO в ЖБАЛ у всех больных БА в сравнении со здоровыми лицами (табл. 4). Так, даже у пациентов с легкой БА уровень метаболитов NO был в 4,1 раза выше по сравнению с нормой, а у пациентов со среднетяжелой и тяжелой формами заболевания – еще выше. Согласно данным литературы, возрастание

Таблица 2
Содержание МДА в ЖБАЛ больных БА

Показатель	Группы пациентов			
	контроль	легкая БА (0,1–0,25)	среднетяжелая БА (0,24–1,03)	тяжелая БА (0,49–1,52)
МДА, мкМ	0,035 ± 0,03	0,18 ± 0,03*$^{\Delta\#}$	0,64 ± 0,19*••	1,01 ± 0,22*••

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля, • – $p < 0,05$ в сравнении с легкой, $^{\Delta}$ – $p < 0,05$ в сравнении со среднетяжелой, $^{\#}$ – $p < 0,05$ в сравнении с тяжелой БА.

Таблица 3
Корреляционный анализ соотношения показателей ФВД, бронхиальной проходимости и содержания МДА у больных БА

Показатели	Группы пациентов		
	легкая БА	среднетяжелая БА	тяжелая БА
ФЖЕЛ / МДА	$r = -0,62; p < 0,048$	$r = -0,59; p < 0,002$	$r = -0,71; p < 0,0027$
$МОС_{25}$ / МДА		$r = -0,63; p < 0,002$	$r = -0,66; p < 0,0130$
$МОС_{50}$ / МДА		$r = -0,74; p < 0,049$	$r = -0,75; p < 0,0058$

Таблица 4

Уровень метаболитов NO в ЖБАЛ у пациентов, включенных в исследование

Изучаемые показатели	Группы пациентов			
	контроль	легкая БА	среднетяжелая БА	тяжелая БА
Метаболиты NO, мкМ в ЖБАЛ	0,39 ± 0,09	1,62 ± 0,41*	3,28 ± 1,72*	2,46 ± 0,50*

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

уровня NO у больных БА может быть связано с увеличением экспрессии iNOS в ответ на воздействие активных форм кислорода или эндотоксинов микроорганизмов. При этом активация через NF-kappa-β приводит к наибольшей интенсификации деятельности iNOS, избыточной продукции NO и, как следствие, накоплению его метаболитов [1, 24, 25].

Как видно из табл. 4, достоверные различия между группами установить не удалось, отмечалась лишь тенденция повышения уровня метаболитов NO по мере утяжеления заболевания. Видимо, такое распределение NO-продуцирующей функции эпителиального пласта связано с преобладанием обратимых нарушений его целостности и ремиссией заболевания на момент обследования больных БА.

Известно, что NO, являясь медиатором бронходилатации и вазодилатации, активно участвует в иммунных и воспалительных процессах [2, 14, 18]. В многочисленных исследованиях показано, что NO, образующийся в избытке эпителием бронхов, может усугублять аллергическое воспаление через увеличение количества Th2-лимфоцитов и цитокинов [1, 6, 14]. При этом установлено, что высокие концентрации сывороточных IL-1β, TNF-α и IL-4 являются маркерами БА, участвуют в регуляции процессов аллергического воспаления, и именно эти цитокины обладают наибольшей способностью вызывать экспрессию iNOS, отвечающей за синтез NO при БА [16, 20, 25]. Т. е. существует возможность развития процесса неконтролируемой аутоактивации продукции NO.

При сравнительной оценке показателей цитокинового профиля и маркеров атопического процесса выявлены следующие особенности Th2-ассоциированного процесса (табл. 5). При оценке реагиновых антител у больных БА было установлено, что данный признак отражает патогенетическую структуру заболевания [17, 19, 21]. Значения общего IgE у больных БА достоверно превышали уровень указанного показателя у представителей группы контроля. Можно отметить, что в период клинической ремиссии наблюдалась тенденция к снижению содержания IgE у больных БА (данные не приведены).

Как в ЖБАЛ, так и в сыворотке периферической крови пациентов с БА обнаружены ключевые цитокины атопического воспаления, тогда как в контрольной группе уровень этих цитокинов возможно было оценить только в сыворотке периферической крови. С увеличением тяжести заболевания уровни IL-4 и TNF-α, регистрируемых в ЖБАЛ, имели тенденцию к росту, в частности при легкой БА их содержание оказалось соответственно в 22 и 27 раз выше, чем у здоровых лиц. Необходимо особо отметить, что уровень IL-4 в сыворотке и ЖБАЛ при тяжелой БА имеет чрезвычайно схожие значения. Несмотря на то, что бронхологические исследования проводились в период ремиссии, повышение уровня IL-4 в ЖБАЛ в зависимости от тяжести заболевания, вероятнее всего, отражает активирующий эффект значимых для БА факторов, определяя непрерывное течение аллергического воспаления.

Важно подчеркнуть, что с нарастанием тяжести процесса увеличивалось и содержание TNF-α. Однако, учитывая, что больные были обследованы во время клинической ремиссии, данный факт указывает на малосимптомную и хроническую персистенцию воспаления дыхательных путей. Так, достоверное прогрессирующее повышение уровня сывороточного и бронхоальвеолярного TNF-α регистрировалось с нарастанием тяжести процесса в сравнении с контролем (в 24 и 28 раз – при легкой, в 163 и 75 раз – при среднетяжелой, в 138 и 208 раз – при тяжелой БА соответственно). При этом известно, что провоспалительные цитокины, в том числе и TNF-α,

Таблица 5

Уровень цитокинов и реагиновых антител у пациентов, включенных в исследование

Изучаемые показатели	Группы пациентов			
	контроль	легкая БА	среднетяжелая БА	тяжелая БА
В сыворотке периферической крови				
IL-4, пг/мл	3,02 ± 1,33$^{*\Delta\#}$	47,38 ± 8,57$^{*\Delta\#}$	186,75 ± 28,97$^{*\cdot}$	147,01 ± 23,91$^{*\cdot}$
TNF-α, пг/мл	6,18 ± 1,51$^{*\Delta\#}$	24,26 ± 6,68$^{*\Delta\#}$	63,16 ± 6,00$^{*\cdot\#}$	138,50 ± 21,67$^{*\cdot\Delta}$
IgE, МЕ/мл	67,21 ± 21,32$^{*\Delta\#}$	466,37 ± 210,27$^{*\#}$	285,02 ± 73,43$^{*\#}$	134,45 ± 33,42$^{*\cdot\Delta}$
В ЖБАЛ				
IL-4, пг/мл	не определялся	21,95 ± 5,84$^{*\Delta\Delta\#\#}$	94,58 ± 13,90$^{*\cdot\#}$	149,27 ± 27,43$^{*\cdot\Delta}$
TNF-α, пг/мл	не определялся	28,37 ± 5,51$^{*\Delta\Delta\#\#}$	74,95 ± 10,55$^{*\#\#\cdot\cdot}$	207,58 ± 26,13$^{*\cdot\cdot\Delta\Delta}$
IgE, МЕ/мл	не определялся	не определялся	0,51 ± 0,33	2,0 ± 0,93

Примечание: * – $p < 0,001$ в сравнении с контролем; $^{\cdot}$ – $p < 0,05$, $^{\cdot\cdot}$ – $p < 0,001$ в сравнении с легкой БА; $^{\Delta}$ – $p < 0,05$, $^{\Delta\Delta}$ – $p < 0,001$ в сравнении со средней БА; $^{\#}$ – $p < 0,05$, $^{\#\#}$ – $p < 0,001$ в сравнении с тяжелой БА.

Таблица 6

Значимые корреляционные зависимости цитокинов, метаболитов NO и IgE у больных БА

Сопоставляемые показатели	Легкая БА	Среднетяжелая БА	Тяжелая БА
IL-4 (ЖБАЛ) / IL-4(сыворотка)	$r = 0,71$; $p = 0,046$	$r = 0,77$; $p = 0,0001$	
IL-4 (ЖБАЛ) / TNF-α (ЖБАЛ)		$r = 0,70$; $p = 0,0001$	
IL-4 (ЖБАЛ) / NO (ЖБАЛ)		$r = -0,67$; $p = 0,001$	
IL-4 (сыворотка) / TNF-α (ЖБАЛ)		$r = 0,73$; $p = 0,0001$	
IL-4 (сыворотка) / NO (ЖБАЛ)		$r = -0,91$; $p = 0,0001$	
TNF-α (ЖБАЛ) / NO (ЖБАЛ)	$r = -0,99$; $p = 0,0001$	$r = -0,72$; $p = 0,0001$	$r = -0,94$; $p = 0,0001$
TNF-α (ЖБАЛ) / TNF-α (сыворотка)			$r = 0,81$; $p = 0,008$
TNF-α (сыворотка) / NO (ЖБАЛ)			$r = -0,70$; $p = 0,036$
TNF-α (сыворотка) / IgE (сыворотка)		$r = -0,61$; $p = 0,005$	

способны активировать экспрессию iNOS в альвеолярных макрофагах [1, 16, 20] и посредством повышенной выработки NO нарушать работу реснитчатого эпителия, способствуя хронизации воспаления (в том числе через воздействие на Fas-рецепторы и активацию апоптоза, через усиление экспрессии адгезивных молекул sVCAM-1 и sICAM-1, активацию взаимодействия лейкоцитов сосудистого русла с клетками эндотелия, нарушение состояние эндотелиальных клеток и пр.) [1].

С целью уточнения влияния маркеров воспаления на развитие реагинового иммунопатологического ответа была изучена плотность связи IL-4, TNF-α, NO и IgE у больных БА (табл. 6).

Анализируя коэффициенты корреляции Спирмена, необходимо подчеркнуть, что обнаруженные ассоциации изучаемых параметров чаще всего регистрировались у больных БА среднетяжелой степени, что сопровождалось более выраженными у них показателями уровней метаболитов NO и TNF-α.

Однонаправленность повышения сывороточного и бронхоальвеолярного IL-4 подтвердилась результатами анализа корреляционных связей, отражающих усиление связи с ростом тяжести БА. Ассоциация между сывороточным и бронхоальвеолярным TNF-α была отмечена только у больных тяжелой БА.

У больных БА среднетяжелой степени отмечен дисбаланс определяемых концентраций TNF-α и IgE в сыворотке крови. Сильные отрицательные корреляции указывают в данном случае на патогенетические механизмы дисрегуляции продукции реагиновых антител и провоспалительных цитокинов [1, 17, 19].

Обращает на себя внимание тесная корреляционная связь между содержанием метаболитов NO и TNF-α, которая прослеживалась у всех пациентов, страдающих БА (табл. 6). Проверка статистической гипотезы о равенстве коэффициентов корреляции бронхоальвеолярных уровней метаболитов NO и TNF-α в зависимости от тяжести заболевания подтвердила, что различия в группах не случайны (значение 2 получено при сравнении коэффициентов корреляции при среднетяжелой и тяжелой БА; значение $p = 0,012$ получено при сравнении коэффициентов корреляции при среднетяжелой и легкой БА). Таким образом, выявленные отрицательные корреляции между уровнем метаболитов NO и TNF-α указывают на возможный механизм регуляции продукции бронхоальвеолярного NO этим цитокином.

Заключение

Результаты исследования показывают, что при БА NO-продуцирующая функция дыхательных путей опосредуется мощной аккумуляцией провоспалительных клеток в респираторной системе и их высокой метаболической активностью, проявляющейся в выработке провоспалительных цитокинов, регулирующих иммунопатологическое воспаление. Возможно, важным и определяющим механизмом лимитации воздушного потока в бронхах у больных БА является формирование нитрат-зависимого метаболизма клеток дыхательных путей с ускоренным NO-катаболизмом. Это путь, при котором NO не успевает проявить свой бронходилатационный эффект, поскольку взаимодействует с ПОЛ-опосредованным супероксид-анионом с выделением пероксинитрита. Пероксинитрит, являясь прооксидантом, способен активировать нитрование протеинов и инициировать липидную пероксидацию, что приводит к повреждению легочных структур и в конечном итоге определяет патоморфологическую основу необратимой бронхиальной обструкции.

Литература

1. *Barnes P.J.* The role inflammation and anti-inflammatory medication in asthma. Respir. Med. 2002; 96: 9–15.
2. *Kharitonov S.A., Gonio F., Kelly C. et al.* Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. Eur. Respir. J. 2003; 21: 433–438.
3. *Ricciardolo F.M.* Multiple role of nitric oxide in the airways. Thorax 2003; 58: 175–182.
4. *Юлдашева И.А., Арипова М.И.* Роль оксида азота и процессов липопероксидации в формировании обструкции бронхов при бронхиальной астме. Клин. и лаб. диагн. 2003; 5: 3–5.
5. *Berlyne G.S., Parameswaran K., Kamada D. et al.* A comparison of exhaled nitric oxide and induced sputum as markers of airway inflammation. J. Allergy Clin. Immunol. 2000; 106: 638–644.
6. *Ho L.P., Wood F.T., Robson A. et al.* Atopy influences exhaled nitric oxide levels in adult asthmatics. Chest 2000; 118: 1327–1331.

7. *Scollo M., Zanconato S., Ongaro R. et al.* Exhaled nitric oxide and exercise-induced bronchoconstriction in asthmatic children. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2000; 161: 1047–1050.
8. *Sippel J.M., Holden W.E., Tilles S.A. et al.* Exhaled nitric oxide levels correlate with measures of disease control in asthma. J. Allergy Clin. Immunol. 2000; 106: 645–650.
9. *Terada A., Fujisawa T., Togashi K. et al.* Exhaled nitric oxide decreases during exercise-induced bronchoconstriction in children with asthma. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001; 164: 1879–1884.
10. *Болевич С.И., Даниляк И.К., Коган А.Х. и др.* Роль свободно-радикальных процессов в патогенезе бронхиальной астмы. Пульмонология 1995; 1: 18–23.
11. *Варшавский Б.Я., Трубников Г.В., Галактионова Л.П. и др.* Оксидантно-антиоксидантный статус больных бронхиальной астмой при ингаляционной и системной глюкокортикоидной терапии. Тер. арх. 2003; 3: 21–24.
12. *Кокосов А.Н., Гольденберг Ю.М., Мищенко В.П.* Перекисное окисление липидов и гемостаз на этапах формирования хронического бронхита и бронхиальной астмы. Пульмонология 1995; 1: 38–42.
13. *Valko M., Leibfritz D., Moncol J. et. al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 2007; 39 (1): 44–84.
14. *Di Maria G.U., Spicuzza L., Mistretta A., Mazzarella G.* Role of endogenous nitric oxide in asthma. Allergy 2000; 55: 31–35.
15. Recommendations for standardized procedures for the online and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children 1999: this official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999. 160: 2104–2117.
16. *Buckova D., Holla L.I., Vasku A. et. al.* Lack of association between atopic asthma and the tumor necrosis factor alpha-308 gene polymorphism in a Czech population. J. Invest. Allergol. Clin. Immunol. 2002; 12: 192–197.
17. *Cardinale F., de Benedictis F.M, Muggeo V. et. al.* Exhaled nitric oxide, total serum IgE and allergic sensitization in childhood asthma and allergic rhinitis. Pediatr. Allergy Immunol. 2005. 16: 236–242.
18. *Lane C., Knight D., Burgess S. et al.* Epithelial inducible nitric oxide synthase activity is the major determinant of nitric oxide concentration in exhaled breath. Thorax 2004; 59: 757–760.
19. *Bacharier L.B., Geha R.S.* Molecular mechanisms of IgE regulation. J. Allergy Clin. Immunol. 2000; 105 (2, pt 2): 547–558.
20. *Chung K.F. Barnes P.J.* Cytokines in asthma. Thorax 1999; 54: 825–857.
21. *Marsh D.G., Neely J.D., Breazeale D.R. et al.* Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. Science 1994; 264: 1152–1156.
22. *Palmer L.J., Burton P.R., Faux J.A. et al.* Independent inheritance of serum immunoglobulin E concentrations and airway responsiveness. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2000; 161: 1836–1843.
23. *Казначеев В.А., Гервазиев Ю.В.* Роль полиморфизма генов цитокинов и их рецепторов в развитии атопической бронхиальной астмы 2004; 5 (1): 73–84.
24. *De Sanctis G.T., MacLean, J.A., Hamada K. et al.* Contribution of nitric oxide synthases 1, 2, and 3 to airway hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of asthma. J. Exp. Med. 1999; 189: 1621–1630.
25. *Trifilieff A., Fujitani Y., Mentz F. et al.* Inducible nitric oxide synthase inhibitors suppress airway inflammation in mice through down-regulation of chemokine expression. J. Immunol. 2000; 165: 1526–1533.
26. Global strategy for asthma management and prevention. Global initiative for asthma. NIH Publication number 01-3659 NHLBI/WHO. National Institutes of Health; 2002.
27. *Карпищенко А.И.* Медицинские технологии. М: Наука; 1999; т. 2.

Поступила 13.03.08
© Коллектив авторов, 2008
УДК 616.248-092