

О.А.Мелешкевич, П.Аренс, В.Герайн

## Диагностическая значимость оксида азота при проведении бронхиальных провокационных тестов

4-я детская клиническая больница г. Минска, Беларусь; Дармштадтская детская клиника, Дармштадт, Германия

A.A.Meliashkevich, P.Ahrens, V.Gerein

## Diagnostic value of exhaled nitric oxide and bronchial challenge tests

### Summary

The reported practical work shows a significance of detection of the exhaled fraction of nitric oxide (FENO) compared with bronchial challenge tests to diagnose the allergic inflammation and to determine the inflammatory activity in the airways.

Methods: 30 bronchial challenge tests were performed in 24 children aged 5 to 16 yrs with different degrees of sensitization detected by the prick-test. The challenge tests were performed with various allergens, the lung function was examined by spirometry or pneumotachometry, the airway resistance was studied by impulse oscillometry. The FENO was measured using a chemiluminescent gas analyzer. The FENO levels obtained after the challenge tests allowed to divide the patients with positive test results in 2 groups and those with negative test results in 3 groups. Two negative and the positive groups had the similar FENO levels and only the third negative group had different FENO level.

Therefore, the FENO allows detecting the allergy inflammation including its latent form even if the challenge test is negative.

### Резюме

В проведенной практической работе при выполнении специфического бронхиального провокационного теста показано значение фракции выдыхаемого оксида азота (FENO), продуцируемого различными типами NO-синтаз, в диагностике аллергического воспаления и предполагаемой активности воспалительного процесса в дыхательных путях.

Проведено 30 бронхиальных провокационных тестов 24 пациентам — детям в возрасте 5–16 лет с различным уровнем сенсибилизации, выявленным при помощи *Prick*-тестов. Бронхиальный провокационный тест проводился с различными аллергенами, оценка функции внешнего дыхания проводилась методом спирометрии / пневмотахометрии, сопротивление дыхательных путей определялось методом импульсной осциллометрии. Фракция оксида азота в выдыхаемом воздухе замерялась с помощью хемилюминесцентного газового анализатора. Полученные показатели уровня FENO после бронхиального провокационного теста позволили выделить среди пациентов, показавших положительный тест, 2 группы, а среди пациентов, показавших негативный тест, — 3 группы. Отмечено, что из 3 групп пациентов, имевших негативный бронхиальный тест, 2 группы реагировали по уровню FENO аналогично пациентам, имевшим положительный бронхиальный тест, и только 1 группа имела свои отличительные признаки.

Заключение: Уровень FENO позволяет диагностировать наличие аллергической реакции, в т. ч. и латентной, даже при отрицательном провокационном бронхиальном тесте.

Учение о биомаркерах — новое направление в медицинской теории и практике последних лет. Одним из наиболее изучаемых биомаркеров в последнее десятилетие является оксид азота (NO, монооксид азота или окись азота). Теории о роли оксида азота в процессе жизнедеятельности все больше привлекают внимание ученых и практических врачей [1–6].

Оксид азота продуцируется многими клетками организма человека. В респираторном тракте эндогенный NO продуцируется несколькими типами клеток: эпителиальными, сосудистыми эндотелиальными, нейрональными, альвеолярными макрофагами, тучными клетками, нейтрофилами и, возможно, клетками других типов [3, 7].

Эндогенный NO синтезируется из аминокислоты L-аргинина. В этом комплексном окислительном процессе, катализируемом ферментом NO-синтазой (NOS), молекулярный кислород присоединяется к концевому атому азота в гуанидиновой группе L-аргинина [1–3].

Известно, что NO синтезируется тремя типами NO-синтаз, включающими в себя 2 конститутивные

NOS: эндотелиальную NOS (eNOS или III тип NOS), нейрональную NOS (nNOS или I тип NOS) и 1 индуцибельную (или макрофагальную) NOS (iNOS или II тип NOS). Все 3 типа NO-синтаз были обнаружены в респираторном тракте человека [8, 9].

2 конститутивные формы NOS (сNOS) непрерывно экспрессируются в клетках легочного тракта и поддерживают постоянный уровень NO в дыхательных путях. Активируясь при передаче физиологического сигнала, они продуцируют в течение секунд или минут небольшие количества (пикомоли) NO. Процесс активации сNOS зависит от ионов кальция [3].

Индукцибельная NOS активируется антигенами, экзо- и эндотоксинами, провоспалительными цитокинами и продуцируется длительное время. Индуцибельная NOS приводит к отсроченному выделению большого количества (наномоли) оксида азота. Соответственно, уровень NO, синтезируемого iNOS, значительно возрастает в выдыхаемом воздухе. При определенных условиях NO остается в клетке и участвует в развитии ряда патоморфологических про-

цессов. Процесс активации iNOS не зависит от ионов кальция [3].

По мнению ряда исследователей, NO, произведенный в физиологических условиях конститутивной NO-синтазой, направлен на поддержание тканевого равновесия, в то время как NO, являющийся продуктом индуцибельной NO-синтазы, усиливает воспалительные изменения в дыхательных путях при астме [10].

Наиболее значимые функции NO, синтезируемого различными типами NO-синтаз, приводятся в табл. 1.

В современной литературе оксид азота признан одним из главных маркеров аллергического воспаления при бронхиальной астме (БА) [11, 15, 16]. Аллергическое воспаление бронхов прослеживается уже на доклинической стадии развития БА, а также в межприступном периоде и, по-видимому, как при достаточно тяжелом, так и при легком варианте течения болезни, нарастает при прогрессировании заболевания. Аллергическое воспаление при БА представляет собой хронический процесс, в который вовлекаются все структуры стенки бронха: эпителиальный покров, базальная мембрана, бронхассоциированные лимфоидные узелки, сосуды, гладкие мышцы. Каждая из перечисленных структур реагирует по-своему: выявляются в просвете бронхов слизь, содержащая различные клеточные элементы; дисплазия и десквамация эпителия; увеличение числа бокаловидных желез; утолщение базальной мембраны; инфильтрация собственной мембраны слизистой оболочки лимфоцитами, гранулоцитами с преобладанием эозинофилов [17, 18].

Следует отметить, что в основе большинства аллергических заболеваний в детском возрасте, в т. ч. и atopической БА, лежат аллергические реакции немедленного (реагинового) типа, которые опосредуются иммуноглобулинами класса E (IgE). Процесс сенсибилизации к причинно-значимому аллергену начинается с первичного контакта с ним и ведет к выработке специфических IgE, завершается фиксацией IgE на клетках-мишенях (тучные клетки, базофилы) шокового органа. Уже на этом этапе запускается продукция медиаторов аллергического воспаления, включая цитокины (интерлейкины-1, 4, 5, 13), которые, возможно, на доклинической стадии развития БА активизируют iNOS. Повторная встреча с аллергеном приводит к развитию непосредственно

аллергической реакции, которая протекает в 2 фазы: раннюю и позднюю. Ранняя (острая) фаза аллергической реакции возникает через несколько минут после контакта с аллергеном и продолжается примерно 30–40 мин [18]. Поздняя (отсроченная) фаза аллергической реакции представляет собой более сложную и комплексную реакцию, которая может возникать после периода мнимого благополучия, спустя несколько часов после контакта с аллергеном. Именно эта фаза поддерживает персистенцию аллергического воспаления и ведет к прогрессированию заболевания. При персистенции воспаления происходит постоянная выработка медиаторов аллергической реакции, которые, вероятно, подавляют активность конститутивной NOS, в то же время повышая активность индуцибельной NOS.

Существует ряд теорий активации cNOS и iNOS.

По одной из наиболее распространенных теорий активации cNOS, выброс медиаторов аллергического воспаления зависит от ионов кальция  $Ca^{2+}$ , который поступает в клетку извне и из внутриклеточных депо (митохондрии, эндоплазматического ретикулаума). В клетке  $Ca^{2+}$  вступает в комплекс с кальмодулином. Под действием комплекса  $Ca^{2+}$ -кальмодулин активируется cNOS, которая ведет к быстрому синтезу NO, принимающего участие в передаче физиологического сигнала в ответ на медиаторы воспаления. Накопление избыточного количества свободного цитозольного кальция  $Ca^{2+}$ , который образует комплекс с кальмодулином, может запускать каскад неуправляемых биохимических реакций, оказывающих цитотоксическое действие [3, 19].

Существует ряд теорий механизма активации iNOS. По одной из них, главными факторами активации iNOS признаны следующие:

- Nuclear factor kB (NF-kB);
- Signal-transducer and activator of transcription-1 $\alpha$  (STAT-1 $\alpha$ ).

При этом NF-kB активизируется липополисахаридами (LPS), фактором некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и интерлейкином-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), активация STAT-1 $\alpha$  происходит под действием интерферона- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) [20, 21].

Обобщая вышесказанное, можно сделать заключение, что эндогенный оксид азота играет важную сигнальную роль как в оценке функции дыхательных путей, так и в патофизиологии их заболеваний. Большое внимание к уровню выдыхаемого NO отделяется еще и тем, что данный тест неинвазивен и

**Таблица 1**  
**Функции NO, продуцируемого различными типами NO-синтаз**

Функции NO, синтезируемого конститутивной NO-синтазой	Функции NO, синтезируемого индуцибельной NO-синтазой
Поддержание тканевого равновесия [2, 3]	Фактор неспецифической защиты против бактерий, вирусов, раковых клеток и т. д. [2, 3]
Передача физиологического сигнала [2, 3]	При определенных условиях (слишком высокая концентрация NO) усиливает развитие ряда патологических процессов [2, 3, 10, 11]
Регуляция тонуса гладкой мускулатуры (поддерживает нормальный тонус, оказывает определенный бронходилатационный и вазодилататорный эффект) [2–4, 12–14]	

не требует выполнения пациентом каких-либо сложных маневров.

Актуальность исследований в данном направлении обусловлена также большой вариабельностью данных, полученных при измерении выдыхаемого NO, и сложностью в их интерпретации.

В связи с этим нами была поставлена задача — поиск связей между параметрами функции внешнего дыхания (ФВД) и уровнем оксида азота в выдыхаемом воздухе при индуцировании аллергической реакции.

## Задачи исследования

Поиск корреляции между параметрами функции внешнего дыхания и уровнем оксида азота в выдыхаемом воздухе (FENO) при проведении специфических провокационных бронхиальных тестов с аллергенами у пациентов (дети в возрасте 5–16 лет) с различным уровнем сенсibilизации, выявленным при помощи *Prick*-тестов.

## Материалы и методы

Для исследования были отобраны пациенты с разным уровнем сенсibilизации к различным видам аллергенов, выявленным с помощью кожных *Prick*-тестов. Специфические бронхиальные провокационные тесты проводились пациентам с целью уточнения причинно-значимого аллергена в этиопатогенезе БА.

Исследуемая группа состояла из 24 пациентов — детей в возрасте 5–16 лет, которым было проведено 30 бронхиальных провокационных тестов.

Для диагностических кожных *Prick*-тестов использовались следующие аллергены ("ALK SCHERAX", Germany) в дозе 100 000 SQ-E / ml:

- бытовые аллергены, клещи домашней пыли (*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*);
  - грибковые аллергены (*Alternaria*, *Cladosporium*);
  - эпидермальные аллергены (шерсть кошки);
  - пыльцевые аллергены (орешник, ольха, полынь).
- Условные обозначения результатов *Prick*-теста:  
 Ж — отрицательная реакция;  
 + — слабоположительная реакция;  
 ++ — положительная реакция;  
 +++ — резкоположительная реакция;  
 ++++ — очень резкоположительная реакция.

Бронхиальный тест проводился на аппарате "Master Screen Paed" ("Erich Jaeger", Germany). Ежедневно перед началом работы проводилась калибровка аппарата. В бронхиальном тесте у пациента определялись параметры ФВД методом спирометрии / пневмотахометрии и сопротивления дыхательных путей методом импульсной осциллометрии. Аллерген ("ALK SCHERAX", Germany) подавался через небулайзер с автоматической синхронизацией с вдохом и дозиметрическим контролем, предназначенным для доставки точных доз аэрозоля аллергена при выполнении бронхиального теста.

Для купирования бронхоспазма использовался  $\beta_2$ -агонист в растворе для ингаляции *Salbutamol* (состав: *Salbutamolsulfat* 6,0 мг / 1мл раствора, что соответствует 5,0 мг чистого *Salbutamol*) компании "HEXAL" (Germany) в возрастной дозировке с физиологическим раствором, который подавался через компрессорный небулайзер "PARI BOY" (Germany).

Определение параметров фракции оксида азота в выдыхаемом воздухе проводилось на хемилюминесцентном NO — аппарате с ультразвуковой спирометрией "CLD 88 sp" ("ECO MEDICS", Switzerland). Аппарат позволяет проводить измерение уровня NO в выдыхаемом воздухе с точностью до сотых долей ррб. При измерении использовалась следующая методика:

1. Пациент находится в покое в положении сидя.
2. После максимально глубокого вдоха пациент производит единственный выдох с постоянной скоростью приблизительно 40–50 мл / с, ориентируясь на показания устройства обратной связи, на котором отображен индикатор, показывающий зеленым цветом правильность выполнения дыхательного маневра. При изменении скорости выдоха индикатор сигнализирует красным цветом; при необходимости тест повторяется.
3. Выдох производится через загубник с ограничителем потока, создающим небольшое положительное давление для разделения потока воздуха с тем, чтобы можно было оценить уровень NO в нижних дыхательных путях, избегая завышения уровня NO из-за контаминации воздухом из полости носа и носоглотки.
4. Средняя продолжительность дыхательного маневра составляла 10 с.
5. Для достоверности теста в соответствии с инструкцией эксплуатации аппарата проводилось 3 измерения NO, и по ним определялось среднее значение NO с точностью до сотых долей ррб.

Была выбрана следующая схема проведения исследований:

1. Постановка *Prick*-теста.
2. Отмена бронхолитических и глюкокортикостероидных препаратов на срок, превышающий длительность их действия.
3. Проведение подробного инструктажа пациента для правильного выполнения форсированных дыхательных маневров.
4. Измерение исходных параметров NO, R<sub>5</sub>, R<sub>20</sub>, FEV<sub>1</sub>, MEF<sub>25</sub>:
  - R<sub>5</sub> — общее сопротивление дыхательных путей (или резистентность при частоте 5 Гц),
  - R<sub>20</sub> — центральное сопротивление дыхательных путей (или резистентность при частоте 20 Гц).
  - FEV<sub>1</sub> (*forced expiratory volume*) соответствует ОФВ<sub>1</sub> — объему форсированного выдоха за 1-ю с.
  - MEF<sub>25</sub> (*maximal expiratory flow*) соответствует МОС<sub>75</sub> — максимальной объемной скорости форсированного выдоха на уровне 75 % вы-

**Таблица 2**  
**Ингаляционная и кумуляционная дозы аллергена**

№ ступени бронхиального теста	Ингаляционная доза, мг	Кумуляционная доза, мг
1	10	10
2	20	30
3	40	70
4	80	150
5	160	310
6	320	630

дохнутого объема ЖЕЛ, МОС<sub>75</sub> характеризует проходимость бронхов мелкого калибра.

5. Проведение ингаляции физраствора (0,9 % NaCl) в качестве контроля неспецифической бронхиальной гиперреактивности.
6. Проведение бронхиального теста. Начальная ингаляционная доза аллергена составляла 10 мг, на последующих ступенях доза аллергена удваивалась. Распределение доз аллергена в зависимости от ступени бронхиального теста приводится в табл. 2. После ингаляции каждой дозы аллергена через 5 мин проводилось измерение параметров R<sub>5</sub>, R<sub>20</sub>, FEV<sub>1</sub>, MEF<sub>25</sub>. Временной интервал между измерениями составлял в среднем 7–10 мин. Если бронхиальный провокационный тест был положительным, дальнейшую ингаляцию аллергена прекращали.
7. В ходе обследования для оценки специфической бронхиальной гиперреактивности были выбраны параметры R<sub>5</sub> и FEV<sub>1</sub>, и дальнейший анализ проводился с учетом данных параметров. Критериями для оценки положительного бронхиального провокационного теста в соответствии с методическими указаниями фирмы "Erich Jaeger" являлось следующее: диагностически достоверное повышение R<sub>5</sub> на 50 % от исходного уровня и / или достоверное снижение FEV<sub>1</sub> на 20 % от исходного значения для данного пациента. При этом принимались во внимание субъективные симптомы — чувство затруднения дыхания, стеснение в груди — и объективные — кашель, диспноэ, изменение аускультативной картины.
8. По окончании бронхиального теста для купирования бронхоспазма в положительном случае и после 6-й ступени в негативном случае для предупреждения поздних реакций всем пациентам ингалировали β<sub>2</sub>-агонист *Salbuhexal* в растворе для ингаляции в возрастной дозировке.
9. Через 10 мин после ингаляции β<sub>2</sub>-агониста осуществлялось контрольное измерение параметров R<sub>5</sub>, R<sub>20</sub>, FEV<sub>1</sub>, MEF<sub>25</sub>. Время проведения бронхиального теста, включая контрольное измерение после ингаляции β<sub>2</sub>-агониста, не превышало 80–90 мин.
10. Через 15 мин после ингаляции β<sub>2</sub>-агониста началась серия измерений NO в течение 120 мин через каждые 15 мин (всего 8 тестов).

11. Общая продолжительность обследования каждого пациента составляла 2–3,5 ч.

Показатели комплексного обследования пациентов приводятся в табл. 3:

- 1) за 100 % принимается уровень NO до начала бронхиального теста. Ингаляция аллергена индуцирует аллергическую реакцию. Купируя бронхоспазм, β<sub>2</sub>-агонист короткого действия при этом не оказывает (или почти не оказывает) влияния на изменение уровня NO в выдыхаемом воздухе [1, 22, 23];
- 2) за минимум уровня NO принимается минимальное значение из 8 показателей NO, полученных в течение 2 ч после ингаляции β<sub>2</sub>-агониста;
- 3) за максимум уровня NO принимается максимальное значение из 8 показателей NO, полученных в течение 2 ч после ингаляции β<sub>2</sub>-агониста.

## Результаты и обсуждение

Анализируя результаты бронхиальных провокационных тестов, нужно отметить, что специфическая бронхиальная гиперреактивность не всегда зависит от результатов *Prick*-тестов. Пациенты с низким уровнем сенсибилизации могли иметь высокую степень специфической бронхиальной гиперреактивности, в то время как пациенты с высоким уровнем сенсибилизации могли иметь низкую степень специфической бронхиальной гиперреактивности.

Анализируя значения R<sub>5</sub> и FEV<sub>1</sub>, с одной стороны, и уровень NO в выдыхаемом воздухе, с другой стороны, можно выделить среди обследованных пациентов 5 групп. При этом среди пациентов, показавших позитивный бронхиальный тест, выделено 2 группы, а среди пациентов, показавших негативный тест, выделено 3 группы.

### Группы 1 и 2 (15 пациентов)

Все пациенты имеют достоверное снижение FEV<sub>1</sub> и / или нарастание R<sub>5</sub>, т. е. бронхиальный тест — положительный.

### Группа 1 (8 пациентов)

После купирования бронхоспазма ингаляцией β<sub>2</sub>-агониста у пациентов наблюдается диагностически значимое снижение уровня NO, по сравнению с исходным значением, уже при 1-м измерении NO (в среднем — 30 %), которое в течение 2 ч наблюдения имеет тенденцию к некоторому снижению и за время наблюдения не возвращается к исходному уровню.

### Группа 2 (7 пациентов)

После купирования бронхоспазма ингаляцией β<sub>2</sub>-агониста у пациентов при 1-м измерении NO не наблюдается диагностически значимого изменения уровня NO, однако на протяжении 2 ч наблюдения прослеживается тенденция к диагностически значимому нарастанию уровня NO от исходного значения (в среднем +25 %).

Таблица 3  
Показатели комплексного обследования пациентов

Имя, пол, возраст пациента	Аллерген	Результаты Prick-теста	Специфический бронхиальный провокационный тест				Уровень NO до и после бронхиального теста			Отклонение NO от 100 % в течение 2 ч наблюдения после β <sub>2</sub> -агониста				Группа
			степень реакции	кумуляционная доза аллергена, mg	изменение от исходного уровня		до теста, ppb (100 %)	1-е измерение после β <sub>2</sub> -агониста, ppb	%	Min		Max		
					R <sub>s</sub> , % + (↑) - (↓)	FEV <sub>1</sub> , % + (↑) - (↓)				ppb	% + (↑) - (↓)	ppb	% + (↑) - (↓)	
<b>Положительный тест</b>														
L.H., м, 8	<i>D. farinae</i>	++	6	630	+27,8	-17,3	13,21	10,69	-19,1	9,03	-31,6	11,31	-14,4	I
O.N., ж, 13	Орешник	++++	6	630	+67,3	-4,3	9,28	6,94	-25,2	5,83	-37,2	9,31	+0,3	
T.M., ж, 10	<i>D. farinae</i>	++	6	630	+30,7	-31,3	14,77	4,47	-69,7	4,47	-69,7	7,11	-51,9	
P.P., м, 16	<i>D. pteronyss.</i>	++	5	310	+19,8	-21,2	20,91	13,91	-33,5	13,91	-33,5	18,02	-13,8	
G.B., ж, 12	<i>D. farinae</i>	++++	5	310	+65,4	-38,6	33,46	22,84	-31,7	21,71	-35,1	28,95	-13,5	
L.F., м, 7	<i>D. pteronyss.</i>	+++	4	150	+49,3	-35,7	12,84	9,12	-29,0	9,12	-29,0	12,81	-0,2	
T.M., ж, 11	<i>D. pteronyss.</i>	++++	1	10	+63,2	-20,8	22,52	16,97	-24,6	16,97	-24,6	21,75	-3,4	
T.J., ж, 9	Шерсть кошки	++++	3	70	+64,8	-47,8	11,89	8,10	-31,9	8,10	-31,9	12,40	+4,3	
<b>Отрицательный тест</b>														
G.M., ж, 11	<i>D. pteronyss.</i>	+++	5	310	+52,2	-5,3	11,70	11,59	-1	11,02	-5,8	14,32	+22,4	II
W.J., м, 11	<i>Alternaria</i>	++++	5	310	-16,7	-44,7	32,42	29,41	-9,3	29,41	-9,3	38,26	+18,0	
S.A., м, 7	<i>D. farinae</i>	+	5	310	+92,0	-34,8	12,65	12,67	+0,2	11,07	-12,5	15,99	+26,4	
L.L., ж, 13	<i>D. pteronyss.</i>	++++	1	10	+37,2	-23,8	58,21	56,91	-2,2	56,91	-2,2	67,45	+15,9	
U.H., м, 6	<i>D. pteronyss.</i>	++	3	70	+42,6	-65,9	25,31	26,34	+4,1	25,06	-1,0	31,79	+25,6	
L.J., м, 5	<i>D. farinae</i>	++	3	70	+31,3	-42,9	9,16	9,59	+4,7	8,34	-9,0	12,35	+34,8	
A.D., м, 11	<i>D. farinae</i>	+++	6	630	-6,6	-35,1	43,87	40,40	-7,9	40,40	-7,9	56,05	+27,8	
T.J., ж, 9	<i>Alternaria</i>	++++		630	+16,0	-6,6	13,35	12,92	-3,2	12,53	-6,1	14,21	+6,4	III
T.S., ж, 12	<i>D. pteronyss.</i>	++++		630	+3,4	+8,0	11,18	12,32	+10,2	8,05	-28,0	12,32	+10,2	
T.S., ж, 12	<i>Alternaria</i>	++++		630	-6,6	-7,6	10,18	9,87	-3,0	5,73	-43,7	9,87	-3,0	
O.N., ж, 13	Полынь	+		630	+5,1	-8,0	25,63	26,41	+3,0	17,12	-33,2	28,27	+10,3	
K.J., ж, 8	<i>D. farinae</i>	+		630	+4,8	-10,8	14,08	14,16	+0,6	12,03	-14,6	14,46	+2,7	
K.J., ж, 8	<i>Alternaria</i>	+		630	-11,2	-0,0	21,95	22,58	+2,9	22,38	+2,0	26,24	+19,5	IV
W.J., м, 9	<i>D. farinae</i>	++		630	-2,3	-11,2	11,86	11,43	-3,6	11,43	-3,6	14,27	+20,3	
W.J., м, 9	<i>Alternaria</i>	++++		630	-5,3	-0,0	22,93	22,04	-3,9	22,04	-3,9	29,21	+27,4	
C.S., м, 7	<i>D. farinae</i>	∅		630	-6,7	-1,4	5,07	4,67	-7,9	4,67	-7,9	6,32	+24,7	
F.L., ж, 6	<i>D. farinae</i>	∅		630	+31,0	+19,1	3,03	3,83	+26,4	3,13	+3,3	7,91	+161,1	
C.K., ж, 9	<i>Cladosporium</i>	+		630	-1,0	-15,9	6,90	6,08	-11,9	6,08	-11,9	9,58	+38,8	
H.C., м, 11	<i>D. farinae</i>	+		630	-11,9	-8,4	35,73	28,17	-21,2	28,17	-21,2	33,61	-5,9	V
B.N., ж, 9	<i>D. farinae</i>	++		630	-0,5	-18,0	17,97	11,83	-34,2	9,18	-48,9	16,91	-5,9	
K.K., м, 7	Ольха	+++		630	-9,3	-10,2	25,21	19,14	-24,1	19,14	-24,1	25,45	+1,0	
C.K., ж, 9	<i>D. farinae</i>	+		630	-6,5	-9,2	6,36	4,47	-29,7	4,47	-29,7	6,48	+1,9	

Группы 3, 4 и 5 (15 пациентов)

Все пациенты данных групп не имеют достоверного снижения FEV<sub>1</sub> и / или нарастания R<sub>s</sub> в течение 6 ступеней бронхиального теста, т. е. бронхиальный тест — отрицательный.

Группа 3 (5 пациентов)

После ингаляции β<sub>2</sub>-агониста через 15 мин при 1-м измерении NO практически не отмечается изменения уровня NO, в сравнении с исходным значением, однако в течение 2 ч наблюдения имеются диагностически значимые колебания уровня NO (в среднем от -25 % до +5 %).

Группа 4 (6 пациентов)

После ингаляции β<sub>2</sub>-агониста при 1-м измерении NO не наблюдается значимого изменения уровня NO, в сравнении с исходным значением, однако на протяжении 2 ч после проведения теста имеется тенденция к диагностически значимому нарастанию уровня NO от исходного значения (в среднем +25 %).

Группа 5 (4 пациента)

После ингаляции β<sub>2</sub>-агониста при 1-м измерении NO у всех обследуемых наблюдается диагностически достоверное снижение уровня NO, по сравнению

с исходным значением (в среднем  $-25\%$ ), которое в течение 2 ч последующего наблюдения имеет тенденцию к дальнейшему снижению и практически не возвращается к исходному уровню.

Анализ динамики уровня NO в выдыхаемом воздухе после специфического бронхиального теста показал, что прослеживается определенная связь между клиническим течением БА и уровнем NO независимо от результатов специфического бронхиального теста. Было замечено, что 1-я группа состоит преимущественно из пациентов с легким течением БА, и у большинства в терапии использовались лишь ингаляционные  $\beta_2$ -агонисты короткого действия. У пациентов 2-й группы преобладает среднетяжелое и тяжелое течение астмы, в терапии используются ингаляционные  $\beta_2$ -агонисты короткого или пролонгированного действия и глюкокортикостероиды. Пациенты 3, 4 и 5-й групп имеют преимущественно легкое течение БА (как интермиттирующее, так и персистирующее), в терапии преобладают ингаляционные  $\beta_2$ -агонисты короткого действия.

На основе полученных данных и обсуждая результаты исследования, можно предположить следующее.

*Группа 1.* Возможно, у данной группы пациентов исходно преобладает активность cNOS. При развитии аллергической реакции происходит высвобождение медиаторов воспаления, которые индуцируют активность iNOS и подавляют активность cNOS. Предполагается, что, когда снижение уровня NO достигает для каждого пациента определенного порогового уровня, диагностируется положительный бронхиальный тест, подтверждаемый также и клинически. Угнетение cNOS проявляется снижением уровня NO по сравнению с исходным, что прослеживается на протяжении 2 ч после проведения бронхиального теста.

*Группа 2.* Вероятно, у данной группы преобладает активность iNOS, эти пациенты имеют персистирующее воспаление дыхательных путей, более выраженное, чем в 1-й группе, которое поддерживается постоянной выработкой медиаторов воспаления и сопровождается угнетением функции cNOS. Предполагается, что у данной группы пациентов даже незначительное дальнейшее угнетение cNOS, ведущее к нарушению тканевого равновесия, совпадает с положительным бронхиальным тестом. Дополнительная стимуляция активности iNOS ведет к усугублению имеющегося патологического процесса в бронхах и повышению уровня NO, по сравнению с исходным, что наблюдается на протяжении 2 ч после проведения бронхиального теста.

*Группа 3.* Возможно, у данной группы пациентов исходно преобладает активность cNOS. В течение 2 ч наблюдения имеется снижение уровня NO, связанное с угнетением cNOS, которое быстро восстанавливается и приходит к исходному уровню. Это подтверждает, что данные пациенты реагируют на аллерген, но аллергический ответ выражен слабо, и,

вероятно, воспалительные изменения в бронхах, обусловленные данным аллергеном, также выражены незначительно.

*Группа 4.* Вероятно, пациенты данной группы имеют латентный воспалительный процесс в бронхах, у них преобладает активность iNOS и функция cNOS угнетена. При проведении бронхиального теста происходит дальнейшее нарастание активности iNOS и усугубление имеющегося воспалительного процесса, что подтверждается нарастанием уровня NO на протяжении 2 ч наблюдения. Предполагается, что пациенты данной группы схожи по активности патологического процесса в бронхах с пациентами 2-й группы. Данную группу пациентов можно рассматривать как позитивно реагирующую на аллерген, несмотря на негативный бронхиальный тест.

*Группа 5.* Возможно, у данной группы пациентов исходно преобладает активность cNOS. При выполнении бронхиального теста происходит угнетение cNOS, что ведет к снижению уровня NO. Снижение уровня NO может, вероятно, говорить о запуске латентной аллергической реакции. По-видимому, пациенты данной группы схожи по активности патологического процесса в бронхах с пациентами 1-й группы, и этих пациентов можно рассматривать как положительно реагирующих на аллерген, несмотря на отрицательный бронхиальный тест.

## Выводы

1. Прослеживается определенная связь между клиническим течением БА и изменением уровня NO в выдыхаемом воздухе после специфического бронхиального провокационного теста. Пациенты, имеющие легкое течение заболевания, демонстрируют достоверное снижение уровня NO после бронхиального теста. Пациенты, имеющие среднетяжелое и тяжелое течение БА, демонстрируют после бронхиального теста достоверное нарастание уровня NO.
2. Можно предположить, что пациенты, показавшие достоверное снижение уровня NO в выдыхаемом воздухе ( $-30\%$ ) сразу после бронхиального теста с аллергеном, имеют исходно преобладание cNOS, и воспалительные изменения в бронхах, обусловленные данным аллергеном, выражены умеренно. Пациенты, показавшие после бронхиального теста с аллергеном достоверное нарастание уровня NO ( $+25\%$ ), имеют, возможно, исходно преобладание iNOS, и у них, вероятно, воспалительные изменения в бронхах, обусловленные данным аллергеном, более выражены.
3. Пациенты, показавшие после бронхиального теста с аллергеном колебания уровня NO, который в течение нескольких часов восстанавливается до исходного значения, имеют, возможно, преобладание активности cNOS. Предполагается, что данные пациенты реагируют на аллерген, но аллергический ответ слабо выражен, и, вероятно,

воспалительные изменения в бронхах, связанные с данным аллергеном, также выражены незначительно.

- Изменение уровня NO в выдыхаемом воздухе после специфического бронхиального теста (нарастание или снижение) может подтверждать наличие аллергической реакции в случае положительного бронхиального теста либо указывать на наличие латентного патологического процесса (в нашем случае — аллергической реакции) при отрицательном бронхиальном тесте.

## Литература

1. Вознесенский Н.А., Чучалин А.Г., Антонов Н.С. Окись азота и легкие. Пульмонология 1998; 2: 6–10.
2. Лев Н.С. Патогенетическая роль оксида азота при бронхиальной астме. Рос. вестн. перинатол. и педиатр. 2000; 4: 48–51.
3. Малоч А.В., Майданник В.Г., Курбанова Э.Г. Физиологическая роль оксида азота в организме. Нефрол. и диализ 2000; 2 (1–2): 69–75.
4. Харитонов С.А., Барнс П. Дж., Чучалин А.Г. Окись азота (NO) в выдыхаемом воздухе. Новый тест в пульмонологии. Пульмонология 1997; 3: 7–13.
5. Barnes P.J., Bevisi M.G. Nitric oxide and lung disease. Thorax 1993; 48: 1034–1043.
6. Gaston D., Drazen J.M., Loscalzo J., Stamier J.S. The biology of nitrogen oxides in the airways. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1994; 149: 538–551.
7. Silvestri M., Sabatini F., Spallarossa D. et al. Exhaled nitric oxide levels in non-allergic and allergic mono- or polysensitized children with asthma. Thorax 2001; 56: 857–862.
8. Kobzik L., Bredt D.S., Lowenstein C.J. et al. Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1993; 9: 371–377.
9. Tracey W.R., Xue C., Klinghoffer V. et al. Immunocytochemical detection of inducible NO synthase in human lung. Am. J. Physiol. 1994; 266: L722–L727.
10. Kharitonov S.A., O'Connor B.J., Evans D.J., Barnes P.J. Allergen-induced late asthmatic reactions are associated with elevation of exhaled nitric oxide. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1995; 151: 1894–1899.
11. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Clinical aspects of exhaled nitric oxide. Eur. Respir. J. 2000; 16: 781–792.
12. Belvisi M.G., Stretton C.D., Barnes P. J. Nitric oxide is the endogenous neurotransmitter of bronchodilator nerves in human airways. Eur. J. Pharmacol. 1992; 210: 221–222.
13. Hogman M., Frostell C.G., Henderstom H., Hedestiem A. Inhalation of nitric oxide modulates adult human-bronchial tone. Am. Rev. Respir. Dis. 1993; 148: 1474–1478.
14. Sanna A., Kurtansky A., Veriter C., Stanescu D. Bronchodilator effect of inhaled nitric oxide in healthy men. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1994; 150: 1702–1704.
15. Alving K., Weitzberg E., Lundberg J.M. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. Eur. Respir. J. 1993; 6: 1368–1370.
16. Barnes P.J., Liew F.Y. Nitric oxide and asthmatic inflammation. Immunol. Today 1995; 16: 128–130.
17. Жерносек В.Ф., Дюбкова Т.П. Аллергические заболевания у детей: Руководство для врачей. Минск: Новое знание; 2003.
18. Чучалин А.Г., Баранов А.А. (ред.). Национальная программа "Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика". М.: Артинфопаблишинг; 1997.
19. Козловский В.Л. Эндогенные факторы нейродеструкции (фармакологические аспекты). Фармакол. и токсикол. 1990; 5: 7–13.
20. Exhaled nitric oxide in asthma. Scientific background. Produced by aerocrine provider of NIOX. Updated 2003.
21. Tedeschi E., Menegazzi M., Margotto M. et al. Anti-inflammatory actions of St. John's wort: inhibition of human iNOS expression by down regulating STAT-1 $\alpha$  activation. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2003; 307: 254–261.
22. Silkoff P.E., Wakita S., Chatkin J. et al. Exhaled Nitric Oxide after  $\beta_2$ -agonist inhalation and spirometry in asthma. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999; 159: 940–944.
23. Yates D.H., Kharitonov S.A., Barnes P.J. Effect of short- and long-acting inhaled  $\beta_2$ -agonists on exhaled nitric oxide in asthmatic patients. Eur. Respir. J. 1997; 10: 1483–1488.

Поступила 10.01.05

© Коллектив авторов, 2005

УДК 616.24-056.3-07:616.233-072.7