

8. Quality of Life. Medical Encyclopedia.- Chicago: The World Book, 1995.— P.744.
9. Sherbourne C.D., Stewart A.L., Wells K.B. Role Functioning measures // Outcomes Study Approach.— Durham, NC: Duke University Press.— 1992.— P.205—208.
10. Stewart B.N., Hood C.I., Block A.J. Long-term results of continuous oxygen therapy at sea level // Chest.— 1975.— Vol.68.— P.486—492.

11. Wenger N.K., Mattson M.E., Furberg C.D. Assessment of quality of life in clinical trials of cardiovascular therapies // Am. J. Cardiol.— 1984.— Vol.54.— P.908—913.

Поступила 30.04.98.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998

УДК 616.2-002-07:616.233-008.8-07

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИНТЕНСИВНОСТИ ВОСПАЛЕНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

С.Н.Авдеев, Э.Х.Анаев, А.Г.Чучалин

НИИ пульмонологии МЗ РФ, Москва

Исследование мокроты является одним из наиболее важных диагностических методов, используемых в клинике легочных заболеваний. Неоспоримым достоинством метода является относительная простота забора материала для исследования, отсутствие потребности в инвазивных вмешательствах. Изучение мокроты помогает получить информацию о возбудителях бронхолегочной инфекции и о природе и выраженности воспалительного процесса в дыхательных путях. К сожалению, мокроту не всегда удается получить спонтанно, и тогда приходится прибегать к бинвазивным процедурам — проведению бронхоскопии с забором материала для исследования при помощи бронхиальных смывов, бронхоальвеолярного лаважа, браш-биопсии, эндобронхиальной и трансbronхиальной биопсии.

Однако все эти процедуры довольно обременительны и неудобны для больного, не рекомендуются для выполнения у больных при обострении заболевания, при тяжелых функциональных нарушениях (выраженная бронхиальная обструкция, дыхательная недостаточность), могут спровоцировать обострение заболевания и не могут повторяться многократно. В таких случаях альтернативой данным методам может служить неинвазивный метод индуцированной мокроты, то есть получение мокроты после ингаляции 3—5% гипертонического раствора NaCl. При помощи «солевой индукции» удается получить мокроту в 76—100% случаев, в том числе даже у здоровых лиц [13,35].

Метод впервые был предложен для диагностики рака легких [4] и туберкулеза легких [60], а в 80-е гг. получил широкое применение для диагностики инфекции *Pneumocystis carinii* [37]. В настоящее время метод индуцированной мокроты широко используется для диагностики рака легких [29,53], туберкулеза [23,32,34], пневмоцистной пневмонии [6,11,28], цитомегаловирусной инфекции [19], токсоплазмоза [9], аспергиллеза [24], криптококкоза [30], а также для диагностики банальных бронхолегочных инфекций [17].

Кроме выявления инфекционных агентов, индуцированная мокрота (ИМ) может быть использована для изучения клеточных и неклеточных факторов воспаления (маркеров воспаления), содержащихся в дыхательных путях, и, т.о. служить для оценки интенсивности воспаления при острых и хронических заболеваниях легких (бронхиальной астме, хронической обструктивной болезни легких и др.), их активности и тяжести [18,44,52,58].

Механизм повышения продукции мокроты после ингаляции гипертонического раствора не вполне ясен. Возможной причиной являются осмотический эффект — повышение притока жидкости в просвет дыхательных путей вследствие осмотического градиента, повышения сосудистой проницаемости [55], стимуляция секреторной активности слизистых желез. Может иметь место просто эффект повышения объема, однако этот механизм наименее вероятен, так как ингаляция изотонического раствора практически не индуцирует мокроту [43]. Также возможным механизмом индукции мокроты может быть стимуляция мукоцилиарного клиренса, что было продемонстрировано у больных с хроническим бронхитом и муковисцидозом [33,46].

Методика получения ИМ

В основе метода лежит ингаляция 3—5% гипертонического солевого раствора в течение 5—30 минут, во время или после которой пациент пытается откашлять мокроту. В последние годы данная методика была несколько усовершенствована и унифицирована. Наиболее признанным является метод, предложенный Pin и др. [35] в модификации Роров и др. [43].

До начала процедуры больной выполняет ингаляцию сальбутамола (200 мкг, 2 вдоха), премедикация β-агонистами особенно необходима для пациентов с бронхиальной астмой, так как это позволяет предотвратить бронхokonстрикцию во время ингаляции гипер-

тонического раствора и в то же время не оказывает влияния на изучаемые показатели воспаления [43]. До и после каждого сеанса ингаляции проводится измерение показателей жизненной емкости легких (VC) и объема форсированного выдоха за одну секунду (FEV₁). Ингаляции проводятся сеансами по 7 минут, общая продолжительность ингаляции обычно не превышает 30 минут. Для индукции мокроты применяют только ультразвуковые небулайзеры, так как эти аппараты, в отличие от струйных небулайзеров, способны обеспечить высокую скорость продукции аэрозоля при хорошем качестве частиц аэрозоля. Применение даже самых современных струйных небулайзеров не приводит к повышению продукции мокроты [43]. Ультразвуковой небулайзер удовлетворяет требованиям для индукции мокроты, если выход аэрозоля находится в пределах от 0,87 до 2,0 мл/мин и средний массовый аэродинамический диаметр (MMAD) частиц аэрозоля меньше или равен 5 мкм. Гипертонический солевой раствор для ингаляции готовится непосредственно перед исследованием. Каждые 7 минут ингаляции концентрацию гипертонического раствора повышают на 1%, то есть последовательно используют 3, 4, 5% солевые растворы. При снижении показателя ОФВ₁ на 10%, концентрацию гипертонического раствора больше не повышают, при снижении ОФВ₁ на 20% или при появлении респираторных симптомов (удушьё, свистящее дыхание) ингаляцию прекращают. После первого сеанса ингаляции и в дальнейшем после каждого последующего сеанса пациенты должны тщательно полоскать рот и глотку и стараться откашливать мокроту в специальную посуду. При получении удовлетворительного образца мокроты процедуру прекращают. Исследование мокроты должно быть проведено не позднее 2 часов после получения материала, на протяжении всего этого времени образцы мокроты должны храниться при температуре 4°C.

Качество материала оценивают на основании полученного объема мокроты и степени примеси к ней слюны. Наиболее подходящими для исследования считаются слизистые слепки размерами более 4,5×9 мм с минимальными примесями слюны. Некоторые авторы считают минимальным количеством материала, пригодным для исследования, объем мокроты не менее 2 мл [21]. В ряде случаев, особенно при получении жидких гомогенных образцов мокроты, кроме макроскопической визуальной оценки адекватности образцов, может потребоваться просмотр мокроты под инвертированным микроскопом, после чего отбирается материал с минимальным содержанием плоских эпителиальных клеток (менее 20% от всех клеток). Следующим этапом приготовления материала для исследования является диспергирование и гомогенизация мокроты, для этого обычно используют: трипсин, N-ацетил-L-цистеин и особенно часто дитиотреитол (*dithiothreitol*) — вещество с низким окислительно-восстановительным потенциалом, разрушающее дисульфидные связи гликопротеинов слизистого секрета и не оказывающее влияния на клеточные и растворимые факторы мокроты [10]. Раствор дитиотреитола (ДТТ)

готовится непосредственно перед исследованием, препарат разводится до 0,1% концентрации и добавляется к мокроте в соотношении 1 мл ДТТ на 1 мг мокроты. Дальнейшие этапы приготовления мокроты зависят от цели исследования, для проведения бактериоскопии мокрота нуждается лишь в специальной окраске. Если задачей исследования является цитологическое изучение, то смесь мокроты с ДТТ встряхивают в течение 10 минут, клеточную суспензию отмывают в сбалансированном солевом растворе Хенкса, фильтруют через нейлоновую марлю и центрифугируют в течение 10 минут при 1000 об/мин. Затем в камере Горяева определяют число клеток, их жизнеспособность, окрашивают мазки (обычно методом *May-Grunwald-Giemsa*), проводят подсчет различных клеточных элементов. Для анализа растворимых факторов используют супернатант, полученный после центрифугирования.

К достоинствам метода относится неинвазивность, простота выполнения процедуры, безопасность метода, низкое число побочных эффектов, отсутствие необходимости в дорогостоящем оборудовании, возможность многократного получения ИМ, достоверность и высокая репродуктивность метода. Достоверность метода была продемонстрирована в исследованиях по сравнению клеточных и неклеточных факторов в ИМ у здоровых лиц и у пациентов с заболеваниями легких. Практически во всех проведенных исследованиях были обнаружены значительные различия мокроты по всем изученным параметрам [3,35,51]. Репродуктивность метода была доказана высокой повторяемостью результатов между образцами мокроты одного больного и между данными, полученными разными исследователями [51]. К побочным эффектам процедуры относятся соленый вкус во рту, гиперсекреция слюны, кашель, бронхоспазм и удушье (редко).

Бронхиальная астма

Наибольшее число работ по изучению процессов воспаления при помощи ИМ проведено у больных бронхиальной астмой. Состав ИМ больных астмой характеризуется повышением числа и пропорции эозинофилов, метакроматических клеток (базофилов и тучных клеток) [20], причем у больных с более тяжелым течением заболевания число и процент эозинофилов

Таблица 1

Процентный состав клеток в индуцированной мокроте больных бронхиальной астмой, ХОБЛ и здоровых лиц

Группы	Макрофаги, %	Нейтрофилы, %	Эозинофилы, %	Лимфоциты, %
Здоровые	71,5±3,6	27,8±3,5	0,5±0,3	0,2±0,1
Астма	67,0±3,6	26,6±3,3	5,9±2,4*	0,4±0,2
ХОБЛ	35,4±2,0	61,95±1,9**	2,0±1,1	0,6±0,3

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с ХОБЛ и здоровыми лицами; ** — $p < 0,01$ по сравнению с больными астмой и здоровыми лицами.

Цитологический состав индуцированной мокроты больных бронхиальной астмой, ХОБЛ и здоровых лиц

Группы	Все клетки, клеток × 10 ⁶ /мл	Макрофаги, клеток × 10 ⁶ /мл	Нейтрофилы, клеток × 10 ⁶ /мл	Эозинофилы, клеток × 10 ⁶ /мл	Лимфоциты, клеток × 10 ⁶ /мл
Здоровые	0,54±0,1	0,40±0,07	0,14±0,03	0,002±0,0007	0,001±0,0007
Астма	1,81±0,4	1,24±0,32	0,47±0,10	0,09±0,03*	0,008±0,004
ХОБЛ	3,58±0,5	1,23±0,17	2,31±0,33**	0,072±0,02*	0,022±0,013

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми лицами. ** — $p < 0,005$ по сравнению со здоровыми лицами и $p < 0,05$ по сравнению с больными астмой.

значительно выше, чем у больных с легкой формой астмы (соответственно $39,4 \pm 8,1$ и $9,2 \pm 3,1\%$, $p < 0,05$) [21]. Среднее содержание клеточных элементов и их процентный состав представлены в таблицах 1 и 2 [26].

В ряде исследований было показано, что степень активации эозинофилов более адекватно отражает воспалительный процесс в дыхательных путях больных бронхиальной астмой, чем общее число или процент эозинофилов [1,2,56], поэтому в последние годы большое внимание уделяется гуморальным, или растворимым, факторам, которые являются продуктами секреции клеток воспаления, медиаторами, цитокинами и др.

Наиболее изученными гуморальными факторами ИМ при бронхиальной астме являются высокоосновные протеины, высвобождающиеся из гранул эозинофилов: эозинофильный катионный протеин (ЭКП), эозинофильная пероксидаза (ЭПО), большой основной протеин (БОП) и др. Эти белки имеют важное значение в развитии воспаления при бронхиальной астме: доказана их роль в деструкции и десквамации бронхиального эпителия и развитии гиперреактивности дыхательных путей [5]. *Ronchi* и др. доказали, что уровень ЭКП в ИМ отражает тяжесть бронхиальной астмы и тесно связан с функциональными и клиническими показателями: отмечалась достоверная корреляция между концентрацией ЭКП и тяжестью заболевания, оцененной по балльной шкале ($r = 0,50$, $p < 0,008$), FEV_1 ($r = -0,34$, $p < 0,02$), PC_{20} ($r = 0,40$, $p = 0,01$), в то время как эозинофилы мокроты коррелировали лишь с числом баллов клинической шкалы ($r = 0,40$, $p < 0,008$). В то же время эозинофилы крови и сывороточный ЭКП не были связаны практически ни с одним из клинико-функциональных показателей, слабая корреляционная связь была отмечена лишь между сывороточным ЭКП и PC_{20} ($r = -0,34$, $p = 0,04$) [48].

В работе, проведенной *Fujimoto* и др., также было показано, что уровень ЭКП в ИМ существенно различается у больных с бронхиальной астмой в зависимости от степени тяжести заболевания: чем тяжелее заболевание, тем выше концентрация ЭКП в мокроте [21]. Уровень ЭКП ИМ был тесно связан с клиническими симптомами ($r = 0,48$, $p < 0,01$) и утренними показателями $PEFR$ ($r = -0,65$, $p < 0,01$).

Сравнение маркеров воспаления в ИМ и материалах, полученных при помощи других методов. ИМ больных бронхиальной астмой по сравнению с бронхиальными

смывами (БС) и жидкостью бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) содержит большее число эозинофилов и нейтрофилов и меньшее количество лимфоцитов и макрофагов. В исследовании *Fahy* и др. сравнивались маркеры воспаления в материале, полученном из дыхательных путей при помощи ИМ, БС и БАЛ у 10 здоровых лиц и 10 больных бронхиальной астмой легкой степени ($FEV_1 > 75\%$) [15]. Было обнаружено, что у лиц обеих групп ИМ отличается от БС и БАЛ более высоким содержанием неэпителиальных клеток ($p = 0,0001$), ЭКП ($p = 0,0001$), альбумина ($p = 0,0001$) и муциноподобного гликопротеина ($p = 0,0001$). Число эозинофилов и ЭКП в ИМ более тесно коррелировало с их уровнем в БС ($r = 0,67$, $p = 0,005$; $r = 0,69$, $p = 0,0008$, соответственно), чем в БАЛ ($r = 0,5$, $p = 0,03$; $r = 0,37$, $p = 0,11$, соответственно). У больных астмой по сравнению со здоровыми лицами, число эозинофилов было достоверно выше в мокроте ($p = 0,0003$) и БС ($p = 0,006$), а уровень ЭКП был выше в БС ($p = 0,001$) и БАЛ ($p = 0,0005$). Таким образом, состав ИМ качественно не различался от состава БС и жидкости БАЛ, однако ИМ отличалась от материала БС и жидкости БАЛ более высоким содержанием бронхиального секрета и высокой концентрацией клеточных и неклеточных факторов.

В исследовании *Grootendorst* и др. у 18 больных с бронхиальной астмой легкой и средней степени тяжести ($FEV_1 61—114\%$) проводилось сравнение состава клеток воспаления в ИМ жидкости, БАЛ, БС и эндобронхиальных биоптатах [22]. Клеточный состав мокроты практически не различался у больных астмой, принимающих и не принимающих ингаляционные стероиды, средние пропорции плоских эпителиальных клеток составили 19,4%, эозинофилов — 1,0%, лимфоцитов — 3,3%, нейтрофилов — 28,7%, макрофагов — 49,4%, цилиндрических эпителиальных клеток — 6,9%. Число эозинофилов в ИМ коррелировало с их количеством в БС ($r = 0,52$, $p = 0,03$), БАЛ ($r = 0,55$, $p = 0,02$) и имела тенденция к корреляции между эозинофилами мокроты и числом $EG2$ +эозинофилов/ mm^2 в *lamina propria* биопсийных образцов ($r = 0,44$, $p = 0,07$). Также существенная корреляция была обнаружена между числом $CD4+$ лимфоцитов в ИМ и жидкости БАЛ ($r = 0,55$, $p = 0,03$). Таким образом, данная работа также подтвердила близкий качественный состав клеточных элементов в индуцированной мокроте и материалах, полученных при помощи бронхоскопии.

Видимо, каждый из методов, используемых для оценки воспаления, отражает присутствие маркеров воспаления в различных отделах стенки бронха, поэтому каждый из этих методов может дополнять друг друга.

Pizzichini и др. доказали, что исследование уровня эозинофилов и ЭКП в индуцированной мокроте по сравнению с их содержанием в периферической крови у больных бронхиальной астмой является более чувствительным и специфическим методом оценки воспаления в дыхательных путях [41]. В исследовании *Prietro и др.* было показано, что существует более тесная корреляция между уровнем эозинофилов и ЭКП в ИМ и показателями FEV₁/FVC и PC₂₀ по сравнению с теми же параметрами периферической крови. Также не было отмечено корреляции между маркерами эозинофильного воспаления крови и мокроты (для эозинофилов: $r=0,34$, $p=0,07$; для ЭКП $r=0,16$, $p=0,38$) [44].

Влияние противовоспалительной терапии на маркеры воспаления в ИМ при бронхиальной астме. *Claman и др.* провели сравнительное рандомизированное двойное слепое исследование по оценке влияния 6-дневного курса преднизолона $0,5$ мг/кг/день и плацебо на параметры ИМ. В группе плацебо не было отмечено никаких изменений состава мокроты, в то же время в группе терапии наблюдалось достоверное снижение числа эозинофилов (с $14,1 \pm 5,0\%$ до $1,8 \pm 0,8\%$) и уровня ЭКП (с 324 ± 131 до 144 ± 84 нг/мл) [8]. Пока не получено однозначных результатов о влиянии ингаляционных глюкокортикостероидов на показатели воспаления ИМ. В исследовании *Sorva и др.* годовичная терапия детей 7—11 лет, больных бронхиальной астмой, ингаляционным будесонидом и недокромилом привела к снижению концентрации ЭКП в ИМ, в то время как уровень ЭКП сыворотки достоверно не изменился [50]. В другом исследовании, проведенном *Keatings и др.*, терапия ингаляционным будесонидом в течении 2 недель не оказала влияния ни на один из маркеров воспаления ИМ. Достоверное снижение числа эозинофилов, уровней ЭКП и ЭПО мокроты было достигнуто лишь после двухнедельной терапии системными глюкокортикостероидами (преднизолон 30 мг/сутки) [27]. Различия результатов данных работ о влиянии ингаляционных стероидов на процессы воспаления, возможно, подтверждают положение о необходимости длительной противовоспалительной терапии для достижения стойкого клинического эффекта.

Изменения маркеров воспаления в ИМ после провокационных тестов с аллергенами. Изменение состава ИМ позволяет изучать активность воспаления в дыхательных путях после ингаляции аллергенов. В исследовании *Fahy и др.* было показано, что через 4 часа после провокационного теста в ИМ больных атопической бронхиальной астмой происходит увеличение пропорции эозинофилов (с $0,5$ до $12,0\%$, $p<0,05$) и нейтрофилов (с $7,5$ до $30,5\%$, $p<0,05$), уровней ЭКП (с $39,8$ до $151,3$ нг/мл, $p<0,05$) и гистамина (с $8,8$ до $19,4$ мкг, $p<0,05$) и повышение этих показателей сохраняется на протяжении последующих 24 часов

[14]. В работе *Pin и др.* было показано, что через 32 часа после выполнения ингаляционных провокационных тестов с аллергенами в ИМ больных бронхиальной астмой происходит повышение числа эозинофилов (с $3,8$ до $18,2\%$, $p=0,01$) и метакроматических клеток (с $0,05$ до $0,25\%$, $p=0,04$) [36]. У больных с профессиональной бронхиальной астмой ингаляционный тест с дифенилдиизоцианатами вызывал повышение эозинофилов мокроты через 8 и 24 часа после теста — 5 до 29% ($p=0,014$) и 30% ($p=0,031$), соответственно.

Кроме ЭКП, другими неклоточными, или растворимыми, факторами ИМ, для которых показано достоверное различие между больными бронхиальной астмой и здоровыми добровольцами, являются другие секреторные белки эозинофилов: БОП, эозинофильный нейротоксин [39], ЭПО [26]; цитокины: интерлейкин-2 [7], интерлейкин-5 [42], интерлейкин-8, GM-CSF, RANTES [47]; сывороточные белки, отражающие повышение сосудистой проницаемости: альбумин, фибриноген [39]; продукты слизи: муциноподобные гликопротеины, ДНК [12], IgA [31]; субстанция P [54], однако значение этих факторов для оценки воспалительного процесса и их связь с активностью или тяжестью бронхиальной астмы пока изучены недостаточно.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ)

К настоящему времени проведено сравнительно небольшое количество исследований, посвященных изучению ИМ при хроническом обструктивном бронхите и эмфиземе легких. У больных ХОБЛ в ИМ отмечается значительное повышение числа и процентного соотношения нейтрофилов по сравнению со здоровыми лицами ($p<0,005$) и больными бронхиальной астмой ($p<0,05$) [26]. В исследовании *Keatings и др.* была показана корреляционная связь между процентным содержанием нейтрофилов в ИМ и степенью бронхиальной обструкции, оцениваемой по показателю ОФВ₁ ($r=-0,62$, $p<0,05$) [25].

В качестве гуморальных маркеров воспаления, отражающих активность нейтрофильного воспаления, чаще всего используются миелопероксидаза (МПО) и человеческий нейтрофильный липокаин (ЧНЛ) — протеины, высвобождающиеся из гранул нейтрофилов при их дегрануляции. Уровень этих факторов у больных ХОБЛ оказался существенно повышенным в ИМ (МПО $9,1 \pm 3,6$ мг/л и ЧНЛ $16,6 \pm 5,4$ мг/л) по сравнению со здоровыми лицами ($0,2 \pm 0,1$ мг/л и $0,7 \pm 0,3$ мг/л, соответственно) и пациентами с бронхиальной астмой ($1,1 \pm 0,3$ мг/л и $3,0 \pm 0,6$ мг/л, соответственно). Разница между содержанием маркеров активации нейтрофилов в ИМ у больных ХОБЛ и бронхиальной астмой оказалась более значительной для ЧНЛ ($p<0,005$), чем для МПО ($p<0,05$), что позволяет предположить, что ЧНЛ является более чувствительным маркером нейтрофильного воспаления и может служить для разграничения этих заболеваний [26].

В другой работе этих же авторов при ХОБЛ показано значение других маркеров нейтрофильного воспаления — цитокинов интерлейкина-8 (ИЛ-8) и фактора

некроза опухоли- α (ФНО- α). ИЛ-8 вызывает рекрутирование и активацию нейтрофильных гранулоцитов и является хемоаттрактантом для них [49], а ФНО- α регулирует экспрессию адгезивных молекул на поверхности эндотелия и обладает способностью усиливать экстрацеллюлярный протеолиз, вызываемый нейтрофилами. Содержание ИЛ-8 и ФНО- α было значительно повышено в ИМ больных ХОБЛ по сравнению с больными астмой и здоровыми, причем у здоровых курящих лиц содержание ИЛ-8 было достоверно выше по сравнению с некурящими [25]. Это исследование подтверждает данные двух других работ, показавших увеличение ИЛ-8 в спонтанно полученной мокроте у больных ХОБЛ [45,59].

Особый интерес вызывают свидетельства об участии эозинофилов в процессах воспаления при ХОБЛ. В исследовании *Keatings и др.* в ИМ наблюдалось повышение абсолютного числа эозинофилов при ХОБЛ по сравнению со здоровыми лицами, хотя и менее выраженное, чем при бронхиальной астме. Кроме того, в ИМ также было обнаружено повышение уровня основных эозинофильных белков — ЭКП и ЭПО, и их тесная корреляция с числом эозинофилов ($r=0,64$, $p<0,01$ и $r=0,81$, $p<0,001$, соответственно) [26].

Заслуживают внимания и сообщения о повышении в ИМ у больных ХОБЛ таких факторов, как глутатион [57], говорящее о напряжении антиоксидантной защиты при ХОБЛ, и субстанции Р [54], свидетельствующее о роли нейтрогенного компонента в воспалительном процессе при ХОБЛ.

Острый бронхит

В единственной на сегодняшний день работе *Pizzichini и др.* изучали последовательность воспалительных реакций при остром бронхите, вызванном *Chlamidia pneumoniae*, при помощи оценки состава ИМ на 6, 8 и 11-й день заболевания [40]. Паттерн воспаления бронхиального дерева характеризовался повышением общего числа клеток и лимфоцитов с последующим повышением числа нейтрофилов, снижением соотношения CD4/CD8, активацией CD8 лимфоцитов и развитием экссудативных реакций, что отражалось повышением уровня фибриногена. Таким образом, исследование ИМ может применяться для мониторинга воспалительного и иммунного ответа дыхательных путей во время острых инфекций.

Интерстициальные заболевания легких

На сегодняшний день также проведено всего одно исследование, посвященное сравнению цитологического состава ИМ и жидкости БАЛ у больных с интерстициальными заболеваниями легких [16]. У больных с пневмокониезом, интерстициальным фиброзом легких (ИФЛ) процентный состав лимфоцитов и соотношение CD4/CD8 в ИМ и жидкости БАЛ практически не различались. При пневмокониезе лимфоциты в жидкости БАЛ и ИМ составляли $13,3\pm 11,1\%$ и $11,1\pm 10,3\%$, $p=0,38$; а CD4/CD8: $1,6\pm 1,1$ и $2,5\pm 1,3$, $p=0,08$. При ИФЛ лимфоциты в жидкости БАЛ и ИМ

составляли $19,5\pm 21,0\%$ и $19,3\pm 9,9\%$, $p=0,49$; CD4/CD8: $1,4\pm 1,0$ и $2,1\pm 1,3$, $p=0,27$. При саркоидозе процент лимфоцитов оказался достоверно более высоким в жидкости БАЛ по сравнению с ИМ: $35,0\pm 17,0\%$ и $11,0\pm 5,8\%$, $p=0,002$; в то время как соотношение CD4/CD8 оказалось примерно одинаковым: $6,2\pm 3,3$ и $6,4\pm 3,1$, $p=0,36$. Соотношение CD4/CD8 при саркоидозе было достоверно выше, чем при пневмокониезе ($p=0,00319$) и при ИФЛ ($p=0,00273$). Таким образом, была выявлена тесная корреляция между субпопуляциями лимфоцитов в ИМ и жидкости БАЛ и показано, что ИМ может быть ценным неинвазивным диагностическим тестом для оценки типа воспалительных реакций при интерстициальных заболеваниях легких.

Итак, метод ИМ является доступным, неинвазивным, безопасным методом для оценки процессов воспаления при заболеваниях легких: бронхиальной астме, ХОБЛ, остром бронхите, интерстициальных заболеваниях легких. В ряде случаев отмечена большая информативность данных, полученных при помощи ИМ, по сравнению с другими методами исследования воспаления дыхательных путей. Многократное последовательное получение ИМ предоставляет уникальную возможность изучения воспалительных процессов бронхиального дерева в динамике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анаев Э.Х., Черняев А.Л., Черняк А.В., Чучалин А.Г. Оценка обострения бронхиальной астмы и эффективности проведенного лечения с помощью корреляционного анализа // Тер. арх.— 1996.— № 3.— С.55—58.
2. Alderoth E., Rosenhal L., Johansson S., Linden M., Venge P. Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthmatic investigated by bronchoalveolar lavage: the effects of anti-asthma treatment with budesonide and terbutaline // Am. Rev. Respir. Dis.— 1990.— Vol.142.— P.91—99.
3. Belda J., Giner J., Casan P., Sanchis J.A. Induced sputum in asthma: study of validity and repeatability // Arch. Broncopneumol.— 1997.— Vol.33, № 7.— P.325—330.
4. Bickerman H.A., Sproud E.E., Barach A.I. An aerosol method of production bronchial secretions in human subjects: a clinical technique for detection of lung cancer // Dis. Chest.— 1958.— Vol.4.— P.347—362.
5. Busse W.W., Sedwick J.B. Eosinophils in asthma // Ann. Allergy.— 1992.— Vol.68, № 3.— P.286—290.
6. Cartwright C.P., Nelson N.A., Gill V.J. Development and evaluation of a rapid and simple procedure for detection of pneumocystis carinii by PCR // J. Clin. Microbiol.— 1994.— Vol.32, № 7.— P.1634—1638.
7. Ceyhan B.B., Enc F.Y., Sahin S., Celikel T. IL-2 level in sputum samples of asthmatic patients // Eur. Respir. J.— 1997.— Vol.10, Suppl.25.— P.318s.
8. Claman D.M., Boushey H.A., Liu J., Wong H., Fahy J.V. Analysis of induced sputum to examine the effects of prednisone on airway inflammation in asthmatic subjects // J. Allergy Clin. Immunol.— 1994.— Vol.94, № 5.— P.861—869.
9. Contini C., Romani R., Magno S., Delia S. Diagnosis of toxoplasma gondii infection in AIDS patients by a tissue-culture technique // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.— 1995.— Vol.14, № 5.— P.434—440.
10. Efthimiadis A., Pizzichini M.M., Pizzichini E., Dolovich J., Hargreave F.E. Induced sputum cells and fluid-phase indices of inflammation: comparison of treatment with dithiothreitol vs phosphate-buffered saline // Eur. Respir. J.— 1997.— Vol.10.— P.1336—1340.
11. Elvin K. Laboratory diagnosis and occurrence of pneumocystis carinii // Scand. J. Infect. Dis.— 1994.— Vol.94, Suppl.— P.1—34.

12. Fahy J.V., Steiger D.J., Liu J., Basbaum C.B., Finkbeiner W.E., Boushey H.A. Markers of mucus secretion and DNA levels in induced sputum from asthmatic and from healthy subjects // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1993.— Vol.147, № 5.— P.1132—1137.
13. Fahy J.V., Liu J., Wong H., Boushey H.A. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatics and healthy individuals // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1993.— Vol.147.— P.1126—1131.
14. Fahy J.V., Liu J., Wong H., Boushey H.A. Analysis of cellular and biochemical constituents of induced sputum after allergen challenge: a method for studying allergic airway inflammation // *J. Allergy Clin. Immunol.*— 1994.— Vol.93, № 6.— P.1031—1039.
15. Fahy J.V., Wong H., Liu J., Boushey H.A. Comparison of samples collected by sputum induction and bronchoscopy from asthmatic and healthy subjects // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1995.— Vol.152, № 1.— P.53—58.
16. Fireman E., Topilsky Y., Greif J. et al. Evaluation of interstitial lung diseases (ILD) by induced sputum (IS) compared to bronchoalveolar lavage (BAL) // *Sarcoidosis.*— 1997.— Vol.14, Suppl.1.— P.10.
17. Fishman J.A., Roth R.S., Zanzot E., Enos E.J., Ferraro M.J. Use of induced sputum specimens for microbiologic diagnosis of infections due to organisms other than pneumocystis carinii // *J. Clin. Microbiol.*— 1994.— Vol.32, № 1.— P.131—134.
18. Floreani A.A., Buchalter S., Thompson A.B., Rennard S.I. In vivo assessment of airway inflammation // *Monaldi Arch. Chest Dis.*— 1994.— Vol.49, № 3.— Suppl.1.— P.17—26.
19. Foot A.B., Caul E.O., Roome A.P., Cornish J.M., Catterall J.R. Sputum induction as an aid to diagnosis of active cytomegalovirus infection following bone marrow transplantation // *Bone Marrow Transplant.*— 1990.— Vol.5, № 4.— P.283—284.
20. Foresi A., Leone C., Pelucchi A., Mastropasqua B., Chetta A., D'Ippolito R., Marazzini L., Olivieri D., Giovanni S.S. Eosinophils, mast cells, and basophils in induced sputum from patients with seasonal allergic rhinitis and perennial asthma: relationship to methacholine responsiveness // *J. Allergy Clin. Immunol.*— 1997.— Vol.100, № 1.— P.58—64.
21. Fujimoto K., Kubo K., Matsuzawa Y., Sekiguchi M.A. Eosinophil cationic protein levels in induced sputum correlate with the severity of bronchial asthma // *Chest.*— 1997.— Vol.112, № 5.— P.1241—1247.
22. Grootendorst D.C., Sont J.K., Willems L.N., Kluin-Nelemans J.C., Van Krieken J.H., Veselic-Charvat M., Sterk P.J. Comparison of inflammatory cell counts in asthma: induced sputum vs bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies // *Clin. Exp. Allergy.*— 1997.— Vol.27, № 7.— P.769—779.
23. Hermans P.W., Schuitema A.R., Van-Soolingen D., Verstynen C.P., Bik E.M., Thole J.E., Kolk A.H., van-Emben J.D. Specific detection of mycobacterium tuberculosis complex strains by polymerase chain reaction // *J. Clin. Microbiol.*— 1990.— Vol.28, № 6.— P.1204—1213.
24. Keating J.J., Rogers T., Petrou M., Cartledge J.D., Woodrow D., Nelson M., Hawkins D.A., Gazzard B.G. Management of pulmonary aspergillosis in AIDS: an emerging clinical problem // *J. Clin. Pathol.*— 1994.— Vol.47, № 9.— P.805—809.
25. Keatings V.M., Collins P.D., Scott D.M., Barnes P.J. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor- α in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1996.— Vol.153.— P.530—534.
26. Keatings V.M., Barnes P.J. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and normal subjects // *Ibid.*— 1997.— Vol.155.— P.449—453.
27. Keatings V.M., Jatakanon A., Worsdell Y.M., Barnes P.J. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD // *Ibid.*— P.542—548.
28. Kiska D.L., Bartholoma N.Y., Forbes B.A. Acceptability of low-volume, induced sputum specimens for diagnosis of pneumocystis carinii pneumonia // *Am. J. Clin. Pathol.*— 1998.— Vol.109, № 3.— P.335—337.
29. Khajotia R.R., Mohn A., Pokieser L., Schalleschak J., Vetter N. Induced sputum and cytological diagnosis of lung cancer // *Lancet.*— 1991.— Vol.338, № 8773.— P.976—977.
30. Martos A., Mascaro J., Santin M., Ariza J., Carratala J., Podzamczek D. Cryptococcosis pulmonar en el SIDA // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*— 1992.— Vol.10, № 10.— P.607—610.
31. Nahm D.H., Park H.S. Correlation between IgA antibody and eosinophil cationic protein levels in induced sputum from asthmatic patients // *Clin. Exp. Allergy.*— 1997.— Vol.27, № 6.— P.676—681.
32. Parry C.M., Kamoto O., Harries A.D., Wirima J.J., Nyirenda C.M., Nyangulu D.S., Hart C.A. The use of sputum induction for establishing a diagnosis in patients with suspected pulmonary tuberculosis in Malawi // *Tuberc. Lung. Dis.*— 1995.— Vol.76, № 1.— P.72—76.
33. Pavia D., Thomson M.L., Clarke S.W. Enhanced clearance of secretions from the human lung after the administration of the hypertonic saline aerosol // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1978.— Vol.117.— P.199—203.
34. Pedro-Botet J., Gutierrez J., Miralles R., Coll J., Rubies Prat J. Pulmonary tuberculosis in HIV-infected patients with normal chest radiographs // *AIDS.*— 1992.— Vol.6, № 1.— P.91—93.
35. Pin I., Gibson P.G., Kolendovicz R., Girgis-Gabardo A., Denburg J.A., Hargreave F.E., Dolovich J. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma // *Thorax.*— 1992.— Vol.47.— P.25—29.
36. Pin I., Freitag A.P., O'Byrne P.M., Girgis-Gabardo A., Watson R.M., Dolovich J., Denburg J.A., Hargreave F.E. Changes in the cellular profile of induced sputum after allergen-induced asthmatic responses // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1992.— Vol.145, № 6.— P.1265—1269.
37. Pitchenik A.E., Ganjei P., Torres A., Evans D.A., Rubin E., Baier H. Sputum examination for the diagnosis of pneumocystis carinii pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome // *Ibid.*— 1986.— Vol.133.— P.226—229.
38. Pizzichini E., Pizzichini M.M., Efthimiadis A., Hargreave F.E., Dolovich J. Measurement of inflammatory indices in induced sputum: effects of selection of sputum to minimize salivary contamination // *Eur. Respir. J.*— 1996.— Vol.9.— P.1174—1180.
39. Pizzichini E., Pizzichini M.M., Efthimiadis A., Evans S., Morris M.M., Squillage D., Gleich G.J., Dolovich J., Hargreave F.E. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1996.— Vol.154.— P.308—317.
40. Pizzichini M.M., Pizzichini E., Efthimiadis A., Clelland L., Mahony J.B., Dolovich J. Markers of inflammation in induced sputum in acute bronchitis caused by Chlamydia pneumoniae // *Thorax.*— 1997.— Vol.52, № 10.— P.929—931.
41. Pizzichini M.M., Pizzichini E., Efthimiadis A., Dolovich J., Hargreave F.E. Measuring airway inflammation in asthma: eosinophils and eosinophilic cationic protein in induced sputum compared with peripheral blood // *J. Allergy Clin. Immunol.*— 1997.— Vol.99.— P.539—544.
42. Pizzichini M.M., Pizzichini E., Pavord I., Efthimiadis A., Dolovich J., Hargreave F.E. Induced sputum indices of inflammation in patients with eosinophilic bronchitis // *Eur. Respir. J.*— 1997.— Vol.10, Suppl. 25.— P.184s.
43. Popov T.A., Pizzichini M.M., Pizzichini E., Kolendovicz R., Punthakee Z., Dolovich J., Hargreave F.E. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis // *Ibid.*— 1995.— Vol.8.— P.559—565.
44. Prieto L., Gutierrez V., Morales C., Torres V. Non-invasive methods for diagnosing asthma. Study of induced sputum // *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.*— 1997.— Vol.7.— P.348—350.
45. Richman-Eisenstat J.B., Jorens P.G., Hebert C.A., Ueki I., Nadel J.A. Interleukin-8: an important chemoattractant in sputum of patients with chronic inflammatory airway diseases // *Am. J. Physiol.*— 1993.— Vol.264, № 4.— Pt. 1.— P.L413—L418.
46. Robinson M., King M., Tomkiewkz R.P. et al. Effects of hypertonic saline, amiloride and cough on mucociliary clearance in patients with cystic fibrosis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1994.— Vol.149.— P.A669.
47. Romagnoli M., Vachier I., Chiappara G., Tarodo De La Fuente., Vignola A.M., Bousquet J., Chanez P. Cellular and biochemical characteristics in induced sputum of asthmatic patients of various severity // *Eur. Respir. J.*— 1997.— Vol.10, Suppl.25.— P.184s.

48. Ronchi M.C., Piragino C., Rosi E., Stendardi L., Tanini A., Galli G., Duranti R., Scano G. Do eosinophils and ECP relate to the severity of asthma? // *Ibid.*— P.1809—1813.
49. Smith W.B., Gamble J.R., Clarke-Lewis I., Vadas M.A. IL-8 induces neutrophil transendothelial migration // *Immunology.*— 1991.— Vol.72.— P.65—72.
50. Sorva R., Metso T., Turpeinen M., Juntunen-Backman K., Bjorksten F., Haahtela T.A. Eosinophil cationic protein in induced sputum as a marker of inflammation in asthmatic children // *Pediatr. Allergy Immunol.*— 1997.— Vol.8, № 1.— P.45—50.
51. Spanevello A., Migliori G.B., Sharara A., Ballardini L., Bridge P., Pisati P., Neri M. Induced sputum to assess airway inflammation: a study of reproducibility // *Clin. Exp. Allergy.*— 1997.— Vol.27, № 10.— P.1138—1144.
52. Sterk P.J. Non-invasive monitoring of bronchial inflammation in asthma // *Schweiz. Med. Wochenschr.*— 1997.— Bd 127, № 41.— S. 1686—1692.
53. Tockman M.S., Erozan Y.S., Gupta P., Piantadosi S., Mulshine J.L., Ruckdeschel J.C. The early detection of second primary lung cancers by sputum immunostaining. LCEWDG Investigators. Lung Cancer Early Detection Group // *Chest.*— 1994.— Vol.106, № 6.— Suppl.— P.385S—390S.
54. Tomaki M., Ichinose M., Miura M., Hirayama Y., Yamauchi H., Nakajima N., Shirato K. Elevated substance P content in induced sputum from patients with asthma and patients with chronic bronchitis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1995.— Vol.151, № 3.— Pt 1.— P.613—617.
55. Umeno E., McDonald D.M., Nadel J.A. Hypertonic saline increases vascular permeability in the rat trachea by producing neurogenic inflammation // *J. Clin. Invest.*— 1990.— Vol.85.— P.1905—1908.
56. Virchow J.C., Holscher U., Virchow C. Sputum ECP levels correlate with parameters of airflow obstruction // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1992.— Vol.146.— P.604—606.
57. Wielders P.L., Dekhuijzen P.N.R., Ruytenbeek K. et al. Total glutathione is increased in induced sputum of COPD patients // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1997.— Vol.155.— P.A188.
58. Wielders P.L., Dekhuijzen P.N.R. Disease monitoring in chronic obstructive pulmonary disease: is there a role for biomarkers? // *Eur. Respir. J.*— 1997.— Vol.10.— P.2443—2445.
59. Yamamoto C., Yoneda T., Yoshikawa M., Fu A., Tokuyama T., Tsukaguchi K., Narita N.A. Airway inflammation in COPD assessed by sputum levels of interleukin-8 // *Chest.*— 1997.— Vol.112, № 2.— P.505—510.
60. Yue W.Y., Cohen S.S. Sputum induction by newer inhalation methods in patients with pulmonary tuberculosis // *Dis. Chest.*— 1967.— Vol.51.— P.614—620.

Поступила 14.04.98.

Заметки из практики

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998

УДК 616.248-02:615.212.4]-085.23

Н.А.Дидковский, В.К.Трескунов, Н.И.Сухова, А.М.Вахнин, О.Б.Святкина

АКОЛАТ СНИЖАЕТ ПРОДУКЦИЮ ЛЕЙКОТРИЕНОВ ПРИ АСПИРИНОВОЙ АСТМЕ

НИИ ФХМ МЗ России, Москва; ММА им.И.М.Сеченова

В основе патогенетического механизма развития аспириновой астмы (АА) лежит дисбаланс метаболизма арахидоновой кислоты, который приводит к снижению содержания продуктов циклоксигеназного пути ее расщепления и увеличению продуктов липоксигеназного [1]. Продуктами липоксигеназного пути являются лейкотриены (ЛТ) С₄, D₄, E₄, обладающие мощным бронхоконстрикторным действием, и В₄, являющийся мощным хемоаттрактантом для лейкоцитов [4]. Поэтому наиболее перспективным направлением в терапии АА может стать применение препаратов, блокирующих лейкотриеновые рецепторы. Препарат аколлат, производимый фирмой "Zeneca" (Великобритания), является одним из первых препаратов — антагонистов лейкотриеновых рецепторов. В настоящее время клини-

ческая эффективность применения аколлата у больных АА считается доказанной [2,3].

В нашем исследовании, кроме оценки клинической эффективности, исследовали профилактическое действие аколлата на аспириновый бронхоспазм при проведении теста *in vivo*. В процессе проведения теста вычислялся коэффициент чувствительности к аспирину (Кча) по следующей формуле:

$$K_{\text{ча}} = I_g \% \text{ падения ОФВ}_1 / Q \text{ аспирин (гр)}$$

— логарифм процента падения ОФВ₁, разделенного на количество аспирина, вызвавшего это падение.

Использование этого коэффициента дает возможность объективной оценки чувствительности бронхов к препарату. Результаты исследований показали, что при Кча < 2 (низкая степень чувствительности) чаще