

Нитрозивный и оксидативный стресс при заболеваниях органов дыхания

С.К.Соодаева^{1,2}, И.А.Климанов¹, Л.Ю.Никитина³

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России: 105077, Россия, Москва, ул. 11-я Парковая, 32, корп. 4;

2 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

3 – Бюджетное учреждение высшего образования «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»: 628007, Ханты-Мансийск, ул. Мира, 40

Информация об авторах

Соодаева Светлана Келдибековна – д. м. н., профессор, заведующая лабораторией клинической и экспериментальной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России, профессор кафедры патологии человека Института профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел: (495) 465-52-64; e-mail: soodaeva@mail.ru

Климанов Игорь Александрович – к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России; тел: (495) 465-52-64; e-mail: igorklimanov@yandex.ru

Никитина Лидия Юрьевна – д. м. н., заведующая кафедрой терапии факультета дополнительного профессионального образования Бюджетного учреждения высшего образования «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»; тел.: (908) 882-86-20; e-mail: lidiya_nikitina@mail.ru

Резюме

Заболевания органов дыхания сопровождаются интенсификацией свободнорадикальных процессов на разных уровнях биологической организации организма с одновременным напряжением и последующим угнетением различных звеньев антиоксидантной защиты, что приводит к развитию оксидативного (ОС) и нитрозивного (НС) стресса. Рассмотрены основные механизмы развития и инициации ОС и НС при патологии легких. Охарактеризованы системы антиоксидантной защиты респираторного тракта. Представлены результаты исследования маркеров НС и ОС при различных заболеваниях респираторного тракта. Показано, что НС и ОС являются многоуровневыми сложнорегулируемыми процессами, существующими и развивающимися в нераздельной связи с рядом физиологических и патофизиологических процессов. Изучение механизмов НС и ОС способствует улучшению качества диагностики и побуждает к разработке новых терапевтических подходов и агентов, воздействующих на отдельные звенья патогенеза.

Ключевые слова: нитрозивный и оксидативный стресс, свободнорадикальные процессы, активные формы кислорода, активные формы азота, системы антиоксидантной защиты, метаболиты оксида азота, конденсат выдыхаемого воздуха, хроническая обструктивная болезнь легких, антиоксидантная терапия.

Для цитирования: Соодаева С.К., Климанов И.А., Никитина Л.Ю. Нитрозивный и оксидативный стресс при заболеваниях органов дыхания. *Пульмонология*. 2017; 27 (2): 262–273. DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-2-262-273

Nitrosative and oxidative stresses in respiratory diseases

Svetlana K. Soodaeva^{1,2}, Igor' A. Klimanov¹, Lidiya Yu. Nikitina³

1 – Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia: Odinnadtsataya Parkovaya ul. 32, build. 4, Moscow, 105077, Russia;

2 – I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Healthcare Ministry of Russia: Trubetskaya ul. 8, build. 2, Moscow, 119991, Russia;

3 – Khanty-Mansiyskaya State Medical Academy: ul. Mira 40, Khanty-Mansiysk, 628007, Russia

Author information

Svetlana K. Soodaeva, Doctor of Medicine, Professor, Head of Laboratory of Clinical and Experimental Biophysics, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; Professor at Department of Human Pathology, Institute of Professional Education, I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Healthcare Ministry of Russia, tel.: (495) 465-52-64; e-mail: soodaeva@mail.ru

Igor' A. Klimanov, Candidate of Medicine, Senior Researcher at Laboratory of Clinical and Experimental Biophysics, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; tel.: (495) 465-52-64; e-mail: igorklimanov@yandex.ru

Lidiya Yu. Nikitina, Doctor of Medicine, Head of Department of Therapy, Faculty of Postgraduate Physician Training, Khanty Mansiysk State Medical Academy; tel.: (908) 882-86-20; e-mail: lidiya_nikitina@mail.ru

Abstract

Respiratory diseases are accompanied by activation of free radical-related processes with enhancement and subsequent suppression of different parts of antioxidant defense. This could result in development of oxidative and nitrosative stresses. General mechanisms of development of oxidative and nitrosative stresses in respiratory diseases as well as antioxidant defense of respiratory system have been described in this review. Markers of oxidative and nitrosative stresses in different respiratory pathology were investigated. Oxidative and nitrosative stresses are multi-level processes with intricate regulation which are closely related to other physiological and pathophysiological processes. Investigation of mechanisms of oxidative and nitrosative stresses could improve diagnostics and contribute to development of new therapeutic approaches and agents.

Key words: oxidative and nitrosative stresses, free radical processes, reactive oxygen species, reactive nitrogen species, antioxidant defense, nitric oxide metabolites, exhaled breath condensate, chronic obstructive pulmonary disease, antioxidant therapy.

For citation: Soodaeva S.K., Klimanov I.A., Nikitina L.Yu. Nitrosative and oxidative stresses in respiratory diseases. *Russian Pulmonology*. 2017; 27 (2): 262–273 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2017-27-2-262-273

Большинство заболеваний респираторного тракта (РТ) сопровождаются интенсификацией свободно-радикальных процессов на разных уровнях биологической организации организма с одновременным напряжением и последующим угнетением различных звеньев антиоксидантной (АО) защиты, что приводит к развитию оксидативного стресса (ОС) – дисбаланса в системе активных форм кислорода (АФК) и АО-защиты организма [1–3].

В последнее десятилетие большое внимание уделяется изучению молекулярных механизмов развития как ОС, так и нитрозивного стресса (НС) – дисбаланса между активными формами азота (АФА) и АО-системой при заболеваниях легких, выявлению прогностических и диагностических маркеров в различных биологических средах, выяснению возможностей терапевтического влияния на различные звенья ОС и НС. Эти процессы неотъемлемо связаны с развитием и течением воспалительных и других физиологических и патофизиологических механизмов, являющихся патогенетическими звеньями развития заболевания. Инициирование ОС и НС может происходить экзогенным и / или эндогенным путями [2, 4–7].

Активация оксидативного и нитрозивного стресса в респираторном тракте

Для органов дыхания экзогенный путь инициации ОС и НС является наиболее актуальным. Так, ежедневно через легкие человека проходит около 8 000 л воздуха, содержащего различные газы (кислород, летучие оксиды), инфекционные агенты (бактерии, вирусы, грибы), поллютанты, аллергены, которые обладают прооксидантными эффектами. Основные аэрополлютанты городской атмосферы – взвешенные частицы, представляющие собой вариабельную композицию органических и неорганических соеди-

нений с углеродным ядром. Индуцированный аэрополлютантами ОС и повреждение РТ происходит с участием металлов переменной валентности, следовые количества которых входят в состав взвешенных частиц. Помимо возможности инициации ОС и НС прооксидантами, во вдыхаемом воздухе могут содержаться в значительных количествах свободные радикалы. В газовой фазе 1 затяжки табачного дыма содержится около 10^{15} свободных радикалов, включая супероксид-анион и гидроксильные радикалы. Среди экзогенных факторов инициации окислительных процессов в организме следует также рассматривать коротковолновое электромагнитное излучение (ультрафиолетовое, рентгеновское и т. п.) [8–10].

Эндогенный путь инициации ОС и НС представлен большим разнообразием механизмов. Огромное число биохимических процессов в живой клетке сопровождаются окислительно-восстановительными реакциями. Одним из основных внутриклеточных источников свободнорадикальных форм является митохондриальное дыхание: 1–2 % электронов могут «утекать» из дыхательной цепи [10]. В живых системах радикалы и другие высокоактивные оксиданты образуются различными путями. Выделяются т. н. первичные радикалы, которые образуются ферментативным путем – это супероксид-анион радикал и оксид азота (NO), которые дают начало 2 пулам высокоактивных групп молекул, получивших название АФА и АФК [11]. Деление на АФА и АФК достаточно условное, т. к. в ходе биохимических процессов радикальные и нерадикальные формы этих групп соединений реагируют друг с другом. Первичные радикалы, взаимодействуя с различными соединениями из своего микроокружения, образуют вторичные, третичные и т. д. радикальные формы, высокоактивные нерадикальные формы, стабильные продукты (рис. 1). К АФК относятся

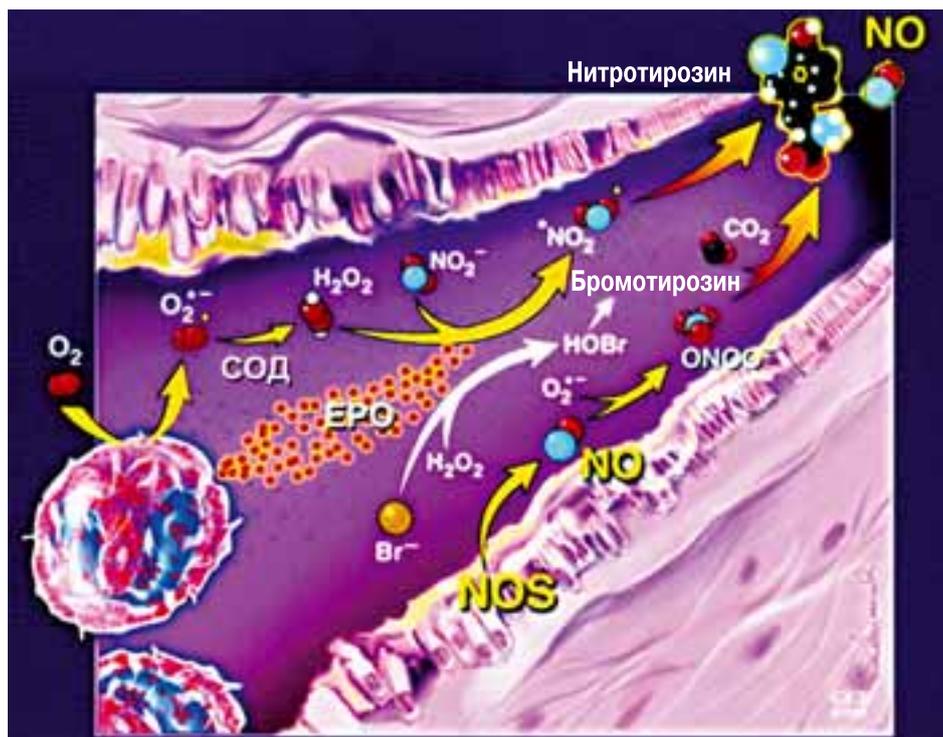


Рис. 1. Образование активных форм азота и активных форм кислорода в легких

Примечание: СОД – супероксиддисмутаза; NOS – NO-синтаза; ЕРО – эритропоэтин.

Figure 1. Production of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in the lungs

супероксид-анион радикал (O_2^-), гидроксильный радикал (OH), пероксильный радикал (HO_2) и алкоксильный радикал (RO). В процессе реакций образуются производные АФК, каковыми являются пероксид водорода (H_2O_2) и липопероксиды (ROOH). К АФА относятся NO, другие высшие оксиды азота, нитриты и пероксинитрит ($ONOO^-$). В генерации супероксид-анион радикала участвуют оксидазы: никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН)-оксидаза, ксантинооксидаза, цитохром P-450-оксидаза и т. п. [2, 11, 12]. Образование NO происходит при помощи ферментов NO-синтаз (NOS) в NO-синтазной составляющей цикла NO и при участии нитрит / нитрат-редуктазных систем в NO-синтаза-независимой составляющей цикла [13].

Широкоизвестна также физиологическая роль NO в РТ (рис. 2): регуляция базального тонуса и проницаемости сосудов, модуляция реактивности бронхов, антимикробная защита [14, 15]. Изучена способность NO регулировать секрецию бронхиальной слизи, основным источником которой служат железы, располагающиеся в подслизистом слое бронхов. В работе *M.Nagaki et al.* эффект ингибиторов NO-синтазы L-NAME и L-NMMA на секрецию гликопротеинов муцина изучался при помощи определения осаждаемых трихлоруксусной кислотой гликоконъюгатов при исследовании эксплантов и изолированных подслизистых желез человека [14, 15]. При этом ингибиторы NO-синтазы не оказывали непосредственного влияния на секрецию гликопротеинов, подавляя метахолин и брадикинин-индуцированную секрецию в изолированных железах [14, 15]. Кроме того, изосорбида динитрат как источник NO способствовал значимому повышению секреции муцина. Результаты приведенного исследования свидетельствуют о стимулирующем эффекте эндогенного NO на выработку муцина подслизистыми железами РТ [14, 15].

Ингибиторы NO-синтазы обладают способностью замедлять частоту биения ресничек эпителиоцитов РТ коров, стимулированных изопротеренолом, брадикинином, субстанцией Р. Данный эффект полностью обратим при добавлении предшественника NO L-аргинина, что свидетельствует об NO-зависимом механизме стимуляции двигательной активности ресничек названными соединениями. Цилиарная моторика также активируется под действием фактора некроза опухоли- α и интерлейкина- 1β , вырабатываемых альвеолярными макрофагами под действием индуцибельной NO-синтазы [14, 15]. Это стимулирующее воздействие блокируется L-NMMA и восстанавливается при добавлении L-аргинина, подтверждая регулируемую роль индуцибельной NO-синтазы в его реализации [14, 15].

Помимо активности моторики ресничек, эффективность мукоцилиарного клиренса определяется и свойствами жидкости, покрывающей респираторный эпителий, состав и объем которой, в свою очередь, зависит от транспорта электролитов. Функциональная активность ионных каналов также в значительной степени подвержена модулирующему действию NO. Молекула NO активирует как апикальные анионные каналы, так и базолатеральные калиевые каналы по циклическому гуанозинмонофосфат ($cGMP$)-зависимому пути, выступая в качестве физиологического регулятора трансэпителиального ионного обмена [14, 15].

Экспериментально подтверждена способность эндогенного NO оказывать модулирующее влияние на бронхиальную гиперреактивность (БГР), индуцируемую различными медиаторами. Так, *P.Nijkamp et al.* (1993) выявлена гистамин-индуцированная бронхоконстрикция у морских свинок под действием ингибитора NO-синтазы *in vivo*, а также дозозависимое сокращение гладкой мускулатуры трахеаль-

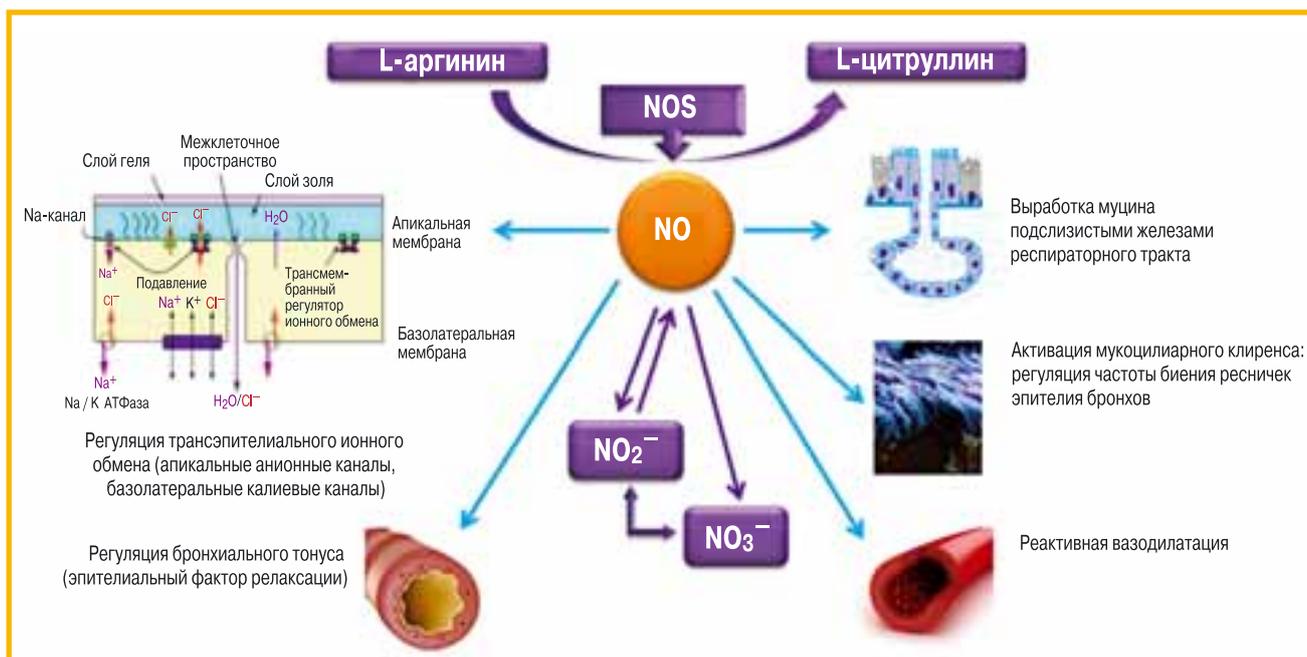


Рис. 2. Бронхопротективные свойства оксида азота
Примечание: NOS – NO-синтаза; АТФаза – аденозинтрифосфатаза.
Figure 2. Lung protective properties of nitric oxide

ной трубки морской свинки под действием гистамина *in vitro* [14, 15]. В исследовании *F.L.Ricciardolo et al.* продемонстрирована NO-зависимая регуляция бронхоконстрикции, индуцированной брадикинином, лимонной кислотой, селективным агонистом тахикинина NK1 и протеаз-активируемым рецептором-2 у морских свинок [14, 15].

Внутрипросветная перфузия препаратов интактной трахеальной трубки морских свинок брадикинином, эндотелином-1, субстанцией P, аденозином и кальцитонин-ген-связанным белком приводила к дозозависимой релаксации [14, 15]. При этом добавление ингибитора NO-синтазы сопровождалось сокращением трахеальной трубки, что подтверждает NO-зависимый механизм расслабления дыхательных путей. Этот же эффект воспроизводился при удалении респираторного эпителия. Следовательно, эпителий РТ является основным источником эндогенного NO, препятствующего бронхоконстрикции под действием различных триггеров. Приведенные результаты исследований подчеркивают значимую роль респираторного эпителия в регуляции БГР, он является не просто физиологическим барьером между бронхоконстрикторными стимулами и гладкими миоцитами, а модулятором бронхиального тонуса посредством высвобождения эпителиальных факторов расслабления.

В дальнейших исследованиях продемонстрировано быстрое (в пределах 2 с) высвобождение NO в респираторном эпителии морских свинок, индуцированное брадикинином. Данный феномен отсутствовал в собственном слое, свободном от ионов кальция [14, 15]. Следовательно, эндогенное высвобождение NO с целью бронхопротекции происходит при участии кальций-зависимой конститутивной NO-синтазы.

Дополнительным механизмом реализации бронхопротективных свойств NO в дыхательных путях является цГМФ-зависимый эффект гладких миоцитов бронхов. Так, продемонстрировано индуцированное брадикинином увеличение содержания цГМФ в дыхательных путях морских свинок. Данный эффект блокировался при добавлении ингибиторов NO-синтазы, что свидетельствует о роли цГМФ в качестве конечного медиатора NO-зависимой эпителиальной бронхопротекции [14, 15].

По результатам исследований, проведенных *in vitro* и *in vivo*, показано, что БГР, вызванная экспозицией аллергенов, не усиливается при предварительном добавлении ингибиторов NO-синтазы. Вирус-индуцированная БГР полностью блокируется при экспозиции L-аргинина, что демонстрирует взаимосвязь данного синдрома с дефицитом эндогенного NO. Также установлено, что дефицит выработки NO конститутивной NO-синтазой у морских свинок ведет к прогрессированию БГР в рамках ранней аллергической реакции (4–6 ч после экспозиции аллергена), а восстановление уровня NO при помощи индуцибельной NO-синтазы способствует обратному развитию БГР в более поздние сроки (24–48 ч). Такие выводы сделаны на основании отсутствия эф-

фекта от ингаляции специфического ингибитора индуцибельной NO-синтазы аминогуанидина на гистамин-индуцированную БГР после ранней аллергической реакции и значимой активации снижающейся БГР при ингаляции препарата в фазу позднего аллергического ответа [14, 15].

Кроме того, установлено, что при ингаляции липополисахаридов морскими свинками подавлялась продукция NO со снижением его содержания в РТ, что совпадало с увеличением гистамин-индуцированной гиперреактивности (через 1 ч после экспозиции). Через 48 ч после ингаляции БГР к гистамину уменьшалась одновременно с повышением уровня метаболитов NO в бронхоальвеолярном лаваже, предполагая возобновление синтеза NO при активации экспрессии гена индуцибельной NO-синтазы под действием ядерного транскрипционного фактора-κB (NF-κB) [14, 15].

Продемонстрированные NO-зависимые механизмы бронходилатации, активации мукоцилиарного клиренса, бронхопротективные свойства NO в отношении БГР приобретают решающее значение в условиях повышенной нагрузки на РТ.

Вместе с тем в последние десятилетия накоплена значительная доказательная база о вкладе NO в патогенез многих заболеваний РТ. Так, суммарная концентрация нитратов и нитритов в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) статистически значимо отличается от контроля при всех степенях тяжести течения бронхиальной астмы (БА). Отмечено повышение уровня суммарной концентрации нитратов и нитритов в КВВ при обострении БА легкой степени, его снижение в ходе проводимой терапии и отсутствие статистически значимых различий между указанными параметрами у взрослых и детей [16].

Концентрация 3-нитротирозина в КВВ при БА увеличивается при легкой степени у пациентов, не получающих глюкокортикостероиды (ГКС), но снижена по сравнению с контрольной группой при средней и тяжелой БА на фоне лечения ингаляционными ГКС. Уровень 3-нитротирозина коррелирует с уровнем выдыхаемого NO только при легкой БА [16, 17]. Уровень нитрозотиолов изучался при БА легкой и средней степени тяжести течения. Отмечено увеличение этого параметра при БА средней степени тяжести в сравнении с контролем и легкой БА [16, 18].

При хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) результаты исследований уровня выдыхаемого NO противоречивы. Вместе с тем установлено, что курение и тяжесть течения заболевания являются наиболее важными факторами, влияющими на данный показатель. У активных курильщиков с тяжелой ХОБЛ (особенно в сочетании с легочным сердцем) продемонстрированы более низкие уровни выдыхаемого NO по сравнению с таковыми у бывших курильщиков с нетяжелой ХОБЛ. Увеличение выдыхаемого NO зарегистрировано у пациентов, госпитализированных с обострением ХОБЛ. Следует отметить, что показатель возвращался к контрольным значениям только месяцы спустя после выпис-

ки из стационаров пациентов, получавших курсы системных ГКС. Этот факт подтверждает различные механизмы воспаления при ХОБЛ и чувствительной к ГКС БА. Ацидоз, часто сопровождающий острую вентиляционную респираторную недостаточность, связанную с обострением ХОБЛ, также может способствовать увеличению выдыхаемого NO [19].

Другие нарушения, связанные с активацией НС, включают бронхоэктазы, активный легочный саркоидоз, активный фиброзирующий альвеолит и реакцию отторжения аллотрансплантата легких [19].

При муковисцидозе в стадии ремиссии происходит увеличение содержания нитрит-аниона в КВВ [20], в отличие от содержания NO в выдыхаемом воздухе [21]. Так, в работе *W. Formanek et al.* [20] показано увеличение содержания в мокроте пациентов с муковисцидозом нитрат-аниона и нитрозирина при нормальном уровне NO в выдыхаемом воздухе. При увеличенной продукции NO и супероксид-анион-радикала увеличения содержания NO в КВВ может и не произойти, т. к. константа реакции супероксида с NO выше, чем константа его реакции с супероксиддисмутазой (СОД) [22, 23].

В настоящее время [13] концепция цикла оксида азота, включающая и NO-синтазную, и NO-синтаза-независимую составляющую его синтеза, и сопутствующий каскад окислительно-восстановительных, в разной степени обратимых реакций, расширена, показана роль не NO-синтазных составляющих цикла (рис. 3).

Определена роль микробиоты человека в цикле оксида азота, роль значимых компонентов нитрит- и нитрат-редуктазных систем в цикле оксида азота, механизмы их активации и дезактивации (участие ферментов, кофакторов, гомеостатических показателей и др.) при различных условиях, что позволяет детализировать механизмы регулирования цикла NO для таргетного воздействия терапевтических агентов [13].

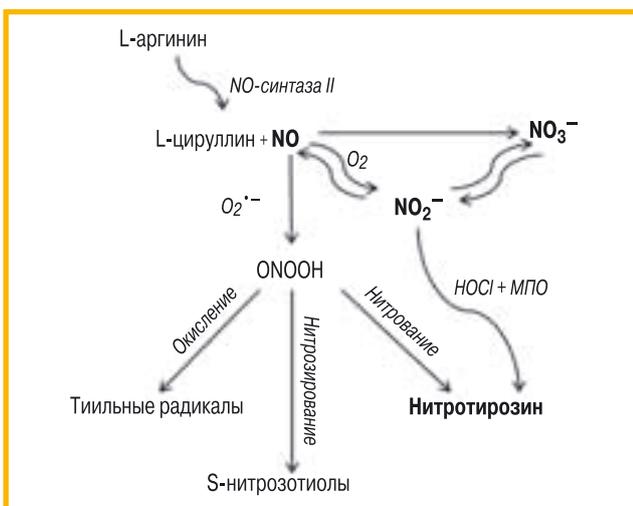


Рис. 3. Метаболизм оксида азота, синтез активных форм азота
Примечание: NO₂⁻ – нитрит-анион; NO₃⁻ – нитрат-анион; ONOОН – пероксиазотистая кислота; МПО – миелопероксидаза; HOCl – хлорноватистая кислота.
Figure 3. Metabolism of nitric oxide and synthesis of reactive nitrogen species

Маркеры оксидативного и нитрозивного стресса при заболеваниях легких

Изучение динамики концентраций АФА и АФК в живом организме и в клинической практике в особенности, является весьма проблематичным в связи со спецификой регистрируемых соединений. Время жизни большинства АФА и АФК составляет сотые доли секунды и менее. Соответственно, как к методикам, так и к биосредам, в которых происходит мониторинг динамической концентрации оксидантов, предъявляется ряд требований практического свойства, отличающихся простотой использования и воспроизводимостью результатов. В этой связи преимущественно обладают неинвазивные методики и биосреды для изучения ОС и НС в РТ – КВВ и сам выдыхаемый воздух. КВВ представляет собой жидкость, образующуюся в результате охлаждения и последующей конденсации выдыхаемого воздуха, поэтому ее состав определяется составом выдыхаемого воздуха. Для определения ОС в РТ используются показатели крови, которые, как правило, являются отражением системного изменения редокс-статуса в организме. Маркеры в КВВ и выдыхаемом воздухе способствуют выявлению напряженности оксидативного и нитрозивного статуса непосредственно в РТ и жидкости, выстилающей эпителий РТ, являющейся, по сути, первой линией защиты легких и организма от экзогенных оксидантов. Неинвазивные методы исследования ОС и НС позволяют оптимизировать диагностику и лечение, а также способствуют выяснению молекулярных механизмов патогенеза заболеваний легких [2, 16, 24].

Среди определяемых маркеров ОС наиболее популярными в клинической практике являются условно стабильные АФА и АФК и продукты их метаболизма, продукты окисления АФА и АФК других соединений, ионы переменной валентности и ряд других [2, 16, 24].

Несмотря на существующие трудности при определении концентрации тех или иных соединений в КВВ, в настоящее время все больший интерес исследователей вызывает определение в нем молекул, в той или иной степени вовлеченных в реакции ОС и НС, являющихся ключевыми звеньями в развитии большинства легочных патологий, что позволяет неинвазивно оценить состояние РТ. Концентрации практически всех этих молекул в КВВ изменяются от микромолярных до наномолярных, что их и объединяет, а это, в свою очередь, требует использования высокочувствительных методик определения. Несмотря на высокую вариабельность исследуемых параметров в группах, путем увеличения выборок достигаются статистически значимые отличия между группами при таких заболеваниях, как БА, ХОБЛ, муковисцидоз. Среди наиболее интенсивно исследуемых молекул особое место занимают маркеры ОС и НС – АФК и АФА. Однако с учетом особенностей сбора КВВ, а именно – продолжительности процедуры от 10 до 20 мин и возможным в течение этого времени изменении концентрации определяе-

мых молекул, наиболее перспективная роль отводится стабильным метаболитам кислорода и азота [2, 16, 24].

Из АФК наиболее стабильной и изученной формой является пероксид водорода (H_2O_2). Пероксид водорода в живом организме является продуктом дисмутации супероксид-анион-радикала (O_2^-). В биологических системах источниками таких радикалов служат реакции с участием ксантинооксидазы, митохондриальных и микросомальных цепей переноса электронов. Особенно велика концентрация H_2O_2 в очагах воспаления, благодаря чему изменение содержания H_2O_2 в биологических жидкостях служит одним из маркеров наличия и течения воспаления [16]. Однако конечная концентрация H_2O_2 в той или иной ткани зависит от многих параметров. Так, концентрация любого вещества, в т. ч. пероксида водорода, в организме в данный момент складывается из скорости синтеза и скорости распада этого соединения. При образовании H_2O_2 в реакции дисмутации супероксида с участием СОД, константа скорости реакции ниже, чем при взаимодействии супероксида и оксида азота, что говорит о конкуренции NO и СОД [25]. Поэтому в присутствии NO, содержание которого увеличивается в очаге воспаления по данным многих исследований, концентрация пероксида водорода в ткани может снижаться. Так, в работе *P.Latzin et al.* (2002) [26] выявлена отрицательная достоверная корреляция между уровнем атмосферного NO, а по сути – вдыхаемого NO, и содержанием перекиси водорода в КВВ у здоровых детей ($n = 102$). В случае присутствия в среде ионов металлов переменных валентностей, таких как железо, медь и марганец, также может снизиться содержание H_2O_2 даже при высокой скорости его образования. Это связано с высокой скоростью распада H_2O_2 в реакции Фентона с образованием чрезвычайно реакционно-способного гидроксильного радикала [16].

Изменения в концентрации H_2O_2 могут наблюдаться и при изменении АО-статуса, а именно – содержания в среде каталазы, пероксидазы, перокси-редоксинов и других ферментов, имеющих высокое сродство к пероксиду водорода. Такая высокая зависимость от концентрации других молекул, присутствующих в среде, вызывает необходимость измерять наряду с пероксидом водорода ряд параметров: концентрацию ионов металлов переменной валентности (железо, медь, марганец), уровень синтеза оксида азота (NO), АО-статус организма [16].

В настоящее время изучена динамика изменения H_2O_2 в КВВ при многих патологиях РТ. Показано, при БА любой степени тяжести течения содержание H_2O_2 в КВВ увеличивается, что коррелировало с увеличением количества эозинофилов в мокроте и усилением бронхиальной обструкции (снижением объема форсированного выдоха за 1-ю секунду), содержанием эозинофильного катионного протеина в сыворотке крови [27, 28]. Сообщается, что значительное повышение содержания H_2O_2 в КВВ, наблюдаемое при средней и тяжелой БА, может служить информативным маркером степени тяжести воспа-

ления, в отличие от уровня NO в выдыхаемом воздухе, который очень сильно зависит от проводимой терапии (в частности, приема ГКС) [28]. Показана возможность мониторинга течения БА в ходе проводимой терапии по уровню H_2O_2 в КВВ. При других воспалительных заболеваниях РТ, таких как ХОБЛ [29–31] и бронхоэктазы [32], также наблюдается увеличение содержания H_2O_2 в КВВ. У пациентов с пневмонией также отмечается увеличение концентрации пероксида водорода. Выявлена положительная достоверная корреляция между уровнем H_2O_2 и содержанием активных продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБК) в КВВ в 1-й и 3-й дни течения болезни, а также между уровнем H_2O_2 в КВВ, концентрацией С-реактивного белка и уровнем лейкоцитов в крови на 1-й день. В ходе проводимой терапии выявлено снижение показателей ОС в КВВ [33].

Подобная динамика содержания H_2O_2 в КВВ при указанных заболеваниях может свидетельствовать об увеличении генерации супероксида клетками, вовлеченными в процесс воспаления [34, 35] и / или о снижении АО-активности клеток и тканей при прогрессировании этих патологий. Однако в группе больных муковисцидозом в стадии ремиссии не обнаружено статистически значимого изменения указанного параметра в сравнении с группой практически здоровых людей [36].

Оксид азота и его активные метаболиты

Помимо непосредственной регистрации в выдыхаемом воздухе, продукцию NO в РТ можно определить по концентрации его более стабильных метаболитов, таких как нитрат- и нитрит-анионы, 3-нитротирозин, нитрозотиолы в КВВ. Нитрат- и нитрит-анионы являются наиболее стабильными из указанных метаболитов. Метаболизм оксида азота и кислородных радикалов имеют общие точки соприкосновения, поэтому следует подчеркнуть важность одновременной оценки нескольких показателей молекулярного обмена в КВВ для более объективной трактовки и интерпретации результатов.

Антиоксидантные системы защиты респираторного тракта

В связи с огромным количеством реакций, протекающих в живых клетках и образованием при этом АФА, АФК и других высокоактивных соединений, для регуляции окислительно-восстановительного баланса существуют АО-системы. Компоненты этих систем различным образом распределены как в клетке, так и на органотканевом уровне. РТ, представляющий собой первую линию защиты организма от воздействия атмосферных поллютантов [2], содержит большое количество АО-систем. АО-защиту легких и воздухоносных путей осуществляют многие низкомолекулярные АО, однако основную роль в защите эпителия трахеи, бронхов и альвеол от оксидативного повреждения играют АО-ферменты. К наи-

более важным АО-ферментам относятся СОД, каталаза, глутатион-пероксидазы (GPxs), глутатион-S-трансфераза (GSTs), глутамилцистеин-синтазы (GCSs), глутаредоксины (Grxs), тиоредоксины (Trxs) и пероксиредоксины (Prxs). Показано, у человека все эти АО-ферменты экспрессируются в воздухоносных путях [2, 37–39].

СОД являются одними из основных АО-ферментов, которые экспрессируются практически во всех клетках организма человека [39]. Белки этого семейства осуществляют реакцию дисмутации $O_2^{\cdot-}$ в H_2O_2 . Активный центр СОД содержит ион переходного металла, для цитоплазмы эукариот — это ионы меди и цинка (Cu / Zn-SOD) [40, 41]. Например для митохондрий характерен другой тип СОД, который в активном центре содержит марганец (MnSOD) [42]. Скорость ферментативной дисмутации $O_2^{\cdot-}$ очень высока (константа скорости составляет около $109 M^{-1} s^{-1}$) и необходима для быстрого регулирования образования $O_2^{\cdot-}$. Однако реакция дисмутации $O_2^{\cdot-}$ может протекать более медленно и спонтанным образом, без участия фермента. Избыточный $O_2^{\cdot-}$ при этом может прореагировать с самыми разными клеточными мишенями и нарушить их функции. Например фермент цикла трикарбоновых кислот аконитаза инактивируется $O_2^{\cdot-}$, что может вызвать существенные сдвиги в метаболизме клетки [43]. Образующийся H_2O_2 в результате реакции дисмутации $O_2^{\cdot-}$ так же, как и другие АФК, может быть токсичным для клеток и его концентрация в клетках также контролируется АО-системами.

Каталазы — гемсодержащие ферменты, которые катализируют реакцию разложения H_2O_2 до H_2O и молекулярного кислорода. Глутатионпероксидазы (GPx) являются еще одной группой белков, участвующих в удалении H_2O_2 . Реакция восстановления H_2O_2 до H_2O , осуществляемая этой группой ферментов, сопряжена с окислением глутатиона. Помимо H_2O_2 , GPx могут взаимодействовать и с другими пероксидами, встречающимися в клетках [44].

Тиоредоксиновая система включает собственно тиоредоксин (Trx) и тиоредоксинредуктазу (TrxR). Тиоредоксины образуют семейство небольших по размеру белков, обладающих оксидоредуктазной активностью. Trx восстанавливает окисленные дисульфиды пептидов при ОС. Восстановление окисленных Trx, в свою очередь, осуществляется НАДФН-зависимыми тиоредоксинредуктазами (TrxR) [45]. Помимо тиоредоксина, TrxR могут восстанавливать большое количество других соединений. Так, TrxR1 участвует в восстановлении H_2O_2 и гидроперекисей липидов, образующихся в большой концентрации при ОС. Функции тиоредоксиновой системы перекликаются с глутаредоксин-зависимой системой, которая также имеет огромное значение для АО-защиты. Компонентами этой системы являются глутаредоксин (Grx), который участвует в реакциях тиол / дисульфидного обмена. Окисленный Grx восстанавливается неферментативным путем благодаря пулу восстановленного глутатиона (GSH). Окисленный глутатион (GSSG) восстанавливает специальный

фермент глутатионредуктаза (GR). GR имеет некоторое сходство с TrxR и представляет собой флавиноадениндинуклеотид-содержащий фермент, использующий восстановительные эквиваленты НАДФН для восстановления GSSG [46].

В деградации H_2O_2 участвуют также пероксиредоксины — семейство АО-белков с пероксидазной активностью. Впервые они были обнаружены в дрожжах, а затем и в других организмах [38, 39]. У млекопитающих различают 6 типов пероксиредоксинов (Prx1–Prx6) и их большая часть идентифицирована в базах данных сравнительно недавно. В клетке пероксиредоксины находятся в основном в цитозоле, а также в митохондриях, пероксисомах, хлоропластах. Две изоформы пероксиредоксинов (Prx4 и Prx6) являются секреторными белками [38]. Концентрация пероксиредоксинов во многих клетках необыкновенно высока — от 0,1 до 1 % общего водорастворимого клеточного белка в зависимости от вида ткани, что делает их редокс-буфером, контролирующим уровень внутриклеточных перекисей. Пероксиредоксины катализируют восстановление H_2O_2 и органических перекисей до воды и спирта соответственно. Кроме того, некоторые изоформы пероксиредоксинов способны разрушать пероксинитрит. Впервые пероксинитритредуктазная активность обнаружена у бактериальных пероксиредоксинов, а затем подтверждена и для пероксиредоксинов эукариот [38]. Нейтрализация перекисей и пероксинитрита пероксиредоксинами происходит по одному и тому же каталитическому механизму. Уровень экспрессии генов различных типов пероксиредоксинов существенно повышен при многих патологических состояниях, сопровождаемых ОС. Эта корреляция указывает на то, что клетки увеличивают АО-защиту пероксиредоксинами для нейтрализации повышенного содержания АФК. Одним из типов пероксиредоксинов, выполняющих особую функцию в органах дыхания, является пероксиредоксин-6 (Prx6) (рис. 4). Секреторный водорастворимый Prx6 впервые выделен в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт биофизики клетки» Российской академии наук из обонятельного эпителия крысы [38, 39]. По результатам биохимических исследований показано, что Prx6 в присутствии некоторых тиолов обладает способностью нейтрализовать как органические, так и неорганические перекиси и его протекторная активность определяется в основном пероксидазной активностью [38, 39]. Так, согласно результатам иммуногистохимических исследований, проведенных на световом и электронно-микроскопическом уровнях, и экспериментов по гибридизации *in situ*, показано, что Prx6 в основном локализован в обонятельном эпителии, бронхах и эпидермисе кожи. В трахее и бронхах он синтезируется бокаловидными клетками и клетками Клара и секреторится в слизь, где является мажорным среди водорастворимых белков слизи. Показано, что вклад Prx6 в нейтрализацию АФК в трахее и бронхах достигает 70 % [38, 39].



Рис. 4. Локализация пероксиредоксина-6 в легких
Figure 4. Location of peroxiredoxin-6 in the lungs

Выявление важной роли Prx6 в защитных механизмах эпителиальных тканей органов дыхания, которые, в первую очередь, включают в себя активацию экспрессии Prx6 в клетках при различных патологических состояниях, позволило предположить, что использование экзогенного Prx6 может существенно ускорить процессы восстановления пораженного эпителия в органах дыхания. Данная гипотеза проверена на моделях острого воспалительного процесса в трахее крысы, вызванного бактериальными эндотоксинами, и термического ожога верхних дыхательных путей [38, 39].

Изучению АО-ферментов при патологии легких у человека препятствует ряд объективных факторов: невозможность оценки *in vivo* экспрессии белков иммуногистохимическими методами, отсутствие крупных молекул в неинвазивных биосредах, инвазивность процедур получения биоптата тканей легких, отсутствие стандартизации для оценки АО-ферментов в бронхоальвеолярном лаваже и индуцированной мокроте. Изучение роли ферментных АО-систем оценивается в настоящее время либо в крови, либо изучается в модельных системах и на животных. В связи с тем, что работа АО-систем зачастую происходит сайт-специфично (непосредственно в месте развития ОС или НС), оценка АО-систем по крови дает противоречивые результаты.

В роли АО могут выступать различные низкомолекулярные вещества. К их числу, помимо глутатиона, относятся аскорбиновая кислота (АК), α -токоферол и некоторые другие [47–50].

Молекула α -токоферола (витамин Е) состоит из бензольного ядра с гидроксильной группой (способной отдавать электрон, выполняя АО-функцию) [18, 19] и боковой фитильной цепи, осуществляющей гидрофобное взаимодействие АО с мембранными структурами. Витамин Е способен гасить АФК, взаимодействовать с гидроксильным радикалом и восстанавливать липидные радикалы структуры R \cdot и ROO \cdot . Наиболее активно в липидном бислое α -токоферол восстанавливает пероксильные радикалы.

Образующийся радикал α -токоферола относительно малоактивен в силу делокализации неспаренного электрона по ароматическому кольцу. Считается, что в присутствии водорастворимых АО, например восстановленной формы АК, витамин Е способен восстанавливать свой АО-потенциал посредством прямого рециклирования. Ретинол (витамин А) в комплексе с α -токоферолом также участвует в защите биологических мембран от повреждения их прооксидантами [47–50].

АК – важный представитель водорастворимых АО. Наличие в структуре молекулы АК двухенольных групп позволяет ей участвовать в окислительно-восстановительных превращениях, выступая в качестве донора и акцептора электронов и протонов. АК обладает чрезвычайно широким набором АО-свойств в отношении гипогалоидов, O $_2^{\cdot-}$, HO $_2^{\cdot}$, RO $_2^{\cdot}$, IO $_2$, HO \cdot , NO \cdot , ONOO $^-$, нитрозаминов, а также восстанавливает окисленную форму α -токоферола. В присутствии катионов металлов переменной валентности АК становится мощным прооксидантом, что обуславливает необходимость надежной регуляции концентрации ионов переходных металлов [47–50].

N-ацетилцистеин (NAC), ацетилированная аминокислота, L-цистеин инактивируют свободные радикалы и АФК путем прямой реакции с ними (прямое АО-действие), а также, поставляя цистеин, способствует синтезу глутатиона (непрямой АО-эффект). В свою очередь, глутатион – важный компонент системы детоксикации ксенобиотиков, перекисных соединений, свободных радикалов, оказывающий защитное действие на клеточном уровне [51, 52].

Из 3 аминокислот, входящих в структуру глутатиона (глутамат, глицин, цистеин), цистеин имеет самую низкую внутриклеточную концентрацию. При этом основной механизм пополнения глутатиона – синтез *de novo*. Следовательно, дефицит цистеина может ограничить скорость синтеза глутатиона в условиях ОС.

NAC используется в клинической практике > 50 лет. Установлено положительное влияние NAC на состояния, характеризующиеся пониженной продукцией глутатиона (GSH) или активацией перекисного окисления липидов – табакокурение, сердечно-сосудистые заболевания [53], отравления ацетаминофеном (парацетамолом) [54] и тяжелыми металлами, инфицирование вирусом иммунодефицита человека и т. п. [51, 52]. Предварительно продемонстрированы эффективность NAC как химиопрофилактического агента при химиотерапии злокачественных новообразований, а также дополнительная роль препарата в эрадикации *Helicobacter pylori* и профилактике гентамицин-индуцированной потери слуха у пациентов, находящихся на гемодиализе [55–57].

Предотвращение истощения резервов глутатиона под действием NAC, а также прямой нейтрализующий эффект препарата в отношении АФК и АФА (ОН, H $_2$ O $_2$, ONOO $^-$ и O $_2^{\cdot-}$) способствует снижению

интенсивности реакций ОС и НС, что на тканевом уровне приводит к подавлению воспаления при ХОБЛ, гриппе, идиопатическом легочном фиброзе [51, 52].

ХОБЛ является ведущей причиной смерти и заболеваемости в мире и характеризуется персистирующим ограничением воздушного потока, гиперсекрецией и увеличением вязкости мокроты, ОС, хроническим воспалением дыхательных путей и внелегочными проявлениями. В настоящее время собрана значительная доказательная база о положительном влиянии НАС на течение ХОБЛ. Антиоксидантные и противовоспалительные свойства препарата связаны с его способностью регулировать редокс-статус, а также активность NF-κB [58–60].

Прогрессирующее снижение емкости вдоха при физической нагрузке отражает динамическую гиперинфляцию и является значимым маркером физической детренированности у пациентов с ХОБЛ. На модели лабораторных животных продемонстрирована способность НАС модифицировать дыхательные пути малого диаметра и связанные с ними процессы легочной гиперинфляции. По результатам рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования *D.Stav et al.* с участием пациентов ($n = 24$) со среднетяжелым и тяжелым стабильным течением ХОБЛ выявлено повышение емкости вдоха и форсированной жизненной емкости легких после 6-недельного курса терапии НАС в суточной дозе 1 200 мг. Также отмечено повышение отношения остаточного объема легких и общей емкости легких. Преодолеваемая дистанция в тесте с физической нагрузкой также была достоверно больше в группе НАС по сравнению с плацебо [58–61].

Эффект НАС в отношении выраженности симптомов ХОБЛ оценен в рамках систематического обзора рандомизированных клинических исследований. Установлено статистически значимое уменьшение интенсивности симптомов заболевания в группах НАС во всех проанализированных в обзоре работах в сравнении с пациентами, принимавшими плацебо. По результатам метаанализа сделан вывод, что у 26 из 100 пациентов с ХОБЛ при терапии НАС уменьшается выраженность клинических проявлений (число пациентов, которых необходимо пролечить, чтобы предотвратить 1 дополнительный эпизод заболевания по сравнению с контрольной группой (*number-needed-to-treat*) – 3,8) [62].

Заключение

НС и ОС являются многоуровневыми процессами, существующими и развивающимися в нераздельной связи с рядом физиологических и патофизиологических процессов. Они сопровождают практически все заболевания РТ. Изучение тонких механизмов НС и ОС способствует улучшению качества диагностики и побуждают к разработке терапевтических подходов и агентов, воздействующих на отдельные звенья патогенеза.

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует. Публикация подготовлена без участия спонсоров.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest. This publication was not sponsored.

Литература

1. Ricciardolo F.L.M., Caramori G., Ito K. et al. Nitrosative stress in the bronchial mucosa of severe chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 116 (5): 1028–1035. DOI: 10.1016/j.jaci.2005.06.034.
2. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. *Пульмонология.* 2012; (1): 5–10.
3. Sugiura H., Ichinose M. Nitrate stress in inflammatory lung diseases. *Nitric Oxide.* 2011; 25 (2): 138–144. DOI: 10.1016/j.niox.2011.03.079.
4. Dozor A.J. The role of oxidative stress in the pathogenesis and treatment of asthma. *Ann. New York Academy of Sciences.* 2010; 1203: 133–137. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05562.x.
5. Kirkham P.A., Barnes P.J. Oxidative stress in COPD. *Chest.* 2013; 144 (1): 266–273. DOI: 10.1378/chest.12-2664.
6. Antus B., Kardos Z. Oxidative stress in COPD: molecular background and clinical monitoring. *Curr. Med. Chemistry.* 2015; 22 (5): 627–650.
7. Соодаева С.К., Климанов И.А. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии. *Практическая пульмонология.* 2009; (1): 34–38.
8. Соодаева С.К., Никитина Л.Ю., Климанов И.А. Механизмы развития оксидативного стресса под воздействием аэрополлютантов окружающей среды: потенциал средств антиоксидантной защиты. *Пульмонология.* 2015; 25 (6): 736–742. DOI: 10.18093/0869-0189-2015-25-6-736-742.
9. Berend N. Contribution of air pollution to COPD and small airway dysfunction. *Respirology.* 2016; 21 (2): 237–244. DOI: 10.1111/resp.12644.
10. BiaBas A.J., Sitarek P.B., Mibkowska-Dymanowska J. et al. The role of mitochondria and oxidative/antioxidative imbalance in pathobiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Oxid. Med. Cell. Long.* 2016; 2016: 1–15. DOI: 10.1155/2016/7808576.
11. Владимиров Ю.А. Физико-химические основы патологии клетки: Курс лекций. М.; 2001.
12. Thomasi A., Ozden T., Sculachev V. Free radicals, nitric oxide, and inflammation: molecular, biochemical, and clinical aspects. In: NATO: Life and behavioural sciences. 344. Amsterdam: IOS Press; 2003: 71–88.
13. Соодаева С.К., Климанов И.А., Никитина Л.Ю. Особенности цикла оксида азота при респираторных заболеваниях. *Пульмонология.* 2016; 26 (6): 753–759. DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-6-753-759.
14. Ricciardolo F.L.M., Sterk P.J., Gaston B., Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol. Rev.* 2004; 84 (3): 731–765. DOI: 10.1152/physrev.00034.2003.
15. Ricciardolo F.L. Multiple roles of nitric oxide in the airways. *Thorax.* 2003; 58 (2): 175–182.
16. Климанов И.А., Соодаева С.К. Механизмы формирования конденсата выдыхаемого воздуха и маркеры оксидативного стресса при патологиях респираторного тракта. *Пульмонология.* 2009; (2): 113–119.

17. Hanazawa T., Kharitonov S., Barnes P.J. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 162 (4): 1273–1276. DOI: 10.1164/ajrccm.162.4.9912064.
18. Corradi M., Montuschi P., Donnelly L.E. et al. Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163 (4): 854–858. DOI: 10.1164/ajrccm.163.4.2001108.
19. Malerba M., Radaeli A., Olivini A. et al. Exhaled nitric oxide as a biomarker in COPD and related comorbidities. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 271918. DOI: 10.1155/2014/271918.
20. Formanek W., Inci D., Lauener R.P. et al. Elevated nitrite in breath condensates of children with respiratory disease. *Eur. Respir. J.* 2002; 19 (3): 487–491.
21. Ho L.P., Innes J.A., Greening A.P. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax.* 1998; 53 (8): 680–684.
22. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Exhaled markers of inflammation. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 1 (3): 217–224.
23. McCafferty J.B., Bradshaw T.A., Tate S. et al. Effects of breathing pattern and inspired air conditions on breath condensate volume, pH, nitrite, and protein concentration. *Thorax.* 2004; 59: 694–698. DOI: 10.1136/thx.2003.016949.
24. Климанов И.А., Соодаева С.К., Лисица А.В. и др. Стандартизация преаналитического этапа исследования конденсата выдыхаемого воздуха. *Пульмонология.* 2006; (2): 53–55.
25. Millar T., Kanczler J., Bodamyali T. et al. Nitric Oxide. Its generation, reactions and role in physiology. In: NATO Conference Proceedings. 2001; 10–11.
26. Latzin P., Griese M. Exhaled hydrogen peroxide, nitrite and nitric oxide in healthy children: decrease of hydrogen peroxide by atmospheric nitric oxide. *Eur. J. Med. Res.* 2002; 7 (8): 353–358.
27. Emelyanov A., Fedoseev G., Abulimity A. et al. Elevated concentrations of exhaled hydrogen peroxide in asthmatic patients. *Chest.* 2001; 120 (4): 1136–1139.
28. Horvath I., Donnelly L., Kiss A., Kharitonov S. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 158 (4): 1042–1046. DOI: 10.1164/ajrccm.158.4.9710091.
29. Ferreira I.M., Mehdi S., Hazari R.I. et al. Exhaled Nitric Oxide and hydrogen peroxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164 (6): 1012–1101. DOI: 10.1164/ajrccm.164.6.2012139.
30. Dekhuijzen P.N., Aben K.K., Dekker I. et al. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 154 (3, Pt 1): 813–816.
31. van Beurden W.J., Dekhuijzen P.N., Harff G.A. et al. Variability of exhaled hydrogen peroxide in stable COPD patients and matched healthy controls. *Respiration.* 2002; 69 (3): 211–216.
32. Loukides S., Horvath I., Wodehouse T. et al. Elevated levels of expired breath hydrogen peroxide in bronchiectasis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 158 (3): 991–914. DOI: 10.1164/ajrccm.158.3.9710031.
33. Majewska E., Kasielski M., Luczynski R. et al. Elevated exhalation of hydrogen peroxide and thiobarbituric acid reactive substances in patients with community acquired pneumonia. *Respir. Med.* 2004; 98 (7): 669–976.
34. Szkudlarek U., Maria L., Kasielski M. et al. Exhaled hydrogen peroxide correlates with the release of reactive oxygen species by blood phagocytes in healthy subjects. *Respir. Med.* 2003; 97 (6): 718–725.
35. Antczak A., Nowak D., Bialasiewicz P. et al. Hydrogen peroxide in expired air condensate correlates positively with early steps of peripheral neutrophil activation in asthmatic patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.).* 1999; 47 (2): 119–126.
36. Ho L.P., Faccenda J., Innes J.A. et al. Expired hydrogen peroxide in breath condensate of cystic fibrosis patients. *Eur. Respir. J.* 1999; 13 (1): 103–106.
37. Новоселов В.И. Роль пероксиредоксинов при окислительном стрессе в органах дыхания. *Пульмонология.* 2012; (1): 83–87.
38. Варламова Е.Г., Гольяев М.В., Новоселов С.В. и др. Характеристика некоторых представителей суперсемейства тиоловых оксидоредуктаз. *Молекулярная биология.* 2013; 47 (4): 568–582.
39. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Ann. Rev. Biochem.* 1995; 64: 97–112. DOI: 10.1146/annurev.bi.64.070195.000525.
40. Tainer J.A., Getzoff E.D., Richardson J.S. et al. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature.* 1983; 306 (5940): 284–287.
41. Hart P.J., Balbirnie M.M., Ogihara N.L. et al. A structure-based mechanism for copper-zinc superoxide dismutase. *Biochemistry.* 1999; 38 (7): 2167–2178. DOI: 10.1021/bi982284u.
42. Borgstahl G.E., Parge H.E., Hickey M.J. et al. The structure of human mitochondrial manganese superoxide dismutase reveals a novel tetrameric interface of two 4-helix bundles. *Cell.* 1992; 71 (1): 107–118. DOI: 10.1016/0092-8674(92)90270-M.
43. Gardner P.R., Raineri I., Epstein L.B. et al. Superoxide radical and iron modulate aconitase activity in mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 1995; 270 (22): 13399–13405.
44. Chelikani P., Fita I., Loewen P.C. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004; 61 (2): 192–208. DOI: 10.1007/s00018-003-3206-5.
45. Arner E.S., Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267 (7): 6102–6109.
46. Deponte M., Urig S., Arscott L.D. et al. Mechanistic studies on a novel, highly potent gold-phosphole inhibitor of human glutathione reductase. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 20628–20637. DOI: 10.1074/jbc.M412519200.
47. Padayatty S.J., Katz A., Wang Y. et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J. Am. Coll. Nutr.* 2003; 22 (1): 18–35.
48. Shigeoka S., Ishikawa T., Tamoi M. et al. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.* 2002; 53 (372): 1305–1319.
49. Herrera E., Barbas C. Vitamin E: Action, metabolism and perspectives. *J. Physiol. Biochem.* 2001; 57 (1): 43–56.
50. Traber M.G., Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic. Biol. Med.* 2007; 43 (1): 4–15. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.024.
51. Kelly G.S. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern. Med. Rev.* 1998; 3 (2): 114–127.
52. Millea P.J. N-acetylcysteine: multiple clinical applications. *Am. Fam. Physician.* 2009; 80 (3): 265–269.
53. Boesgaard S., Nielsen-Kudsk J.E., Laursen J.B. et al. Thiols and nitrates: reevaluation of the thiol depletion theory of nitrate tolerance. *Am. J. Cardiol.* 1998; 81: 21A–29A.

54. Zafarullah M., Li W.Q., Sylvester J., Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell. Mol. Life Sci.* 2003; 60 (1): 6–20.
55. Amini A., Masoumi-Moghaddam S., Ehteda A., Morris D.L. Bromelain and N-acetylcysteine inhibit proliferation and survival of gastrointestinal cancer cells in vitro: significance of combination therapy. *J. Exp. Clin. Cancer. Res.* 2014; 33 (1): 92. DOI: 10.1186/s13046-014-0092-7.
56. Gurbuz A.K., Ozel A.M., Ozturk R. et al. Effect of N-acetylcysteine on Helicobacter pylori. *South. Med. J.* 2005; 98 (Suppl. 11): 1095–1097. DOI: 10.1097/01.smj.0000182486.39913.da.
57. Feldman L., Efrati S., Eviatar E. et al. Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine. *Kidney Int.* 2007; 72 (3): 359–363. DOI: 10.1038/sj.ki.5002295.
58. Zhou J., Wang M., Sun Y. et al. Nitrate Increased Cucumber Tolerance to Fusarium Wilt by Regulating Fungal Toxin production and distribution. *Toxins (Basel).* 2017; 9 (3): pii: E100. DOI: 10.3390/toxins9030100.
59. Tse H.N., Tseng C.Z.S. Update on the pathological processes, molecular biology, and clinical utility of N-acetylcysteine in chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2014; 9 (1): 825–836. DOI: 10.2147/COPD.S51057.
60. Santus P., Corsico A., Solidoro P. et al. Oxidative stress and respiratory system: pharmacological and clinical reappraisal of N-acetylcysteine. *COPD.* 2014; 11 (6): 705–717. DOI: 10.3109/15412555.2014.898040.
61. Stav D., Raz M. Effect of N-acetylcysteine on air trapping in COPD: a randomized placebo-controlled study. *Chest.* 2009; 136 (2): 381–386. DOI: 10.1378/chest.09-0421.
62. Stey C., Steurer J., Bachmann S. et al. The effect of oral N-acetylcysteine in chronic bronchitis: a quantitative systematic review. *Eur. Respir. J.* 2000; 16 (2): 253–262.
9. Berend N. Contribution of air pollution to COPD and small airway dysfunction. *Respirology.* 2016; 21 (2): 237–244. DOI: 10.1111/resp.12644.
10. BiaBas A.J., Sitarek P.B., MiBkowska-Dymanowska J. et al. The role of mitochondria and oxidative/antioxidative imbalance in pathobiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Oxid. Med. Cell. Long.* 2016; 2016: 1–15. DOI: 10.1155/2016/7808576.
11. Vladimirov Yu.A. Physical and Chemical Basis of Cell Pathology. Lecture Course. Moscow; 2001 (in Russian).
12. Thomasi A., Ozden T., Sculachev V. Free radicals, nitric oxide, and inflammation: molecular, biochemical, and clinical aspects. In: NATO: Life and behavioural sciences. 344. Amsterdam: IOS Press; 2003: 71–88.
13. Soodaeva S.K., Klimanov I.A., Nikitina L.Yu. Particularities of nitric oxide cycle in respiratory diseases. *Pul'monologiya.* 2016; 26 (6): 753–759. DOI: 10.18093/0869-0189-2016-26-6-753-759 (in Russian).
14. Ricciardolo F.L.M., Sterk P.J., Gaston B., Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol. Rev.* 2004; 84 (3): 731–765. DOI: 10.1152/physrev.00034.2003.
15. Ricciardolo F.L. Multiple roles of nitric oxide in the airways. *Thorax.* 2003; 58 (2): 175–182.
16. Klimanov I.A., Soodaeva S.K. Mechanisms of exhaled breath condensate production and markers of oxidative stress in respiratory diseases. *Pul'monologiya.* 2009; (2): 113–119 (in Russian).
17. Hanazawa T., Kharitonov S., Barnes P.J. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 162 (4): 1273–1276. DOI: 10.1164/ajrccm.162.4.9912064.
18. Corradi M., Montuschi P., Donnelly L.E. et al. Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163 (4): 854–858. DOI: 10.1164/ajrccm.163.4.2001108.
19. Malerba M., Radaeli A., Olivini A. et al. Exhaled nitric oxide as a biomarker in COPD and related comorbidities. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 271918. DOI: 10.1155/2014/271918.
20. Formanek W., Inci D., Lauener R.P. et al. Elevated nitrite in breath condensates of children with respiratory disease. *Eur. Respir. J.* 2002; 19 (3): 487–491.
21. Ho L.P., Innes J.A., Greening A.P. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax.* 1998; 53 (8): 680–684.
22. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Exhaled markers of inflammation. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 1 (3): 217–224.
23. McCafferty J.B., Bradshaw T.A., Tate S. et al. Effects of breathing pattern and inspired air conditions on breath condensate volume, pH, nitrite, and protein concentration. *Thorax.* 2004; 59: 694–698. DOI: 10.1136/thx.2003.016949.
24. Klimanov I.A., Soodaeva S.K., Lisitsa A.V. et al. Standardization of preanalytic stage of investigation of exhaled breath condensate. *Pul'monologiya.* 2006; (2): 53–55 (in Russian).
25. Millar T., Kanczler J., Bodamyali T. et al. Nitric Oxide. Its generation, reactions and role in physiology. In: *NATO Conference Proceedings.* 2001; 10–11.
26. Latzin P., Griese M. Exhaled hydrogen peroxide, nitrite and nitric oxide in healthy children: decrease of hydrogen peroxide by atmospheric nitric oxide. *Eur. J. Med. Res.* 2002; 7 (8): 353–358.
27. Emelyanov A., Fedoseev G., Abulimity A. et al. Elevated concentrations of exhaled hydrogen peroxide in asthmatic patients. *Chest.* 2001; 120 (4): 1136–1139.

Поступила 21.03.17

References

1. Ricciardolo F.L.M., Caramori G., Ito K. et al. Nitrosative stress in the bronchial mucosa of severe chronic obstructive pulmonary disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 116 (5): 1028–1035. DOI: 10.1016/j.jaci.2005.06.034.
2. Soodaeva S.K. Free radical injury in respiratory diseases. *Pul'monologiya.* 2012; (1): 5–10 (in Russian).
3. Sugiura H., Ichinose M. Nitrate stress in inflammatory lung diseases. *Nitric Oxide.* 2011; 25 (2): 138–144. DOI: 10.1016/j.niox.2011.03.079.
4. Dozor A.J. The role of oxidative stress in the pathogenesis and treatment of asthma. *Ann. New York Academy of Sciences.* 2010; 1203: 133–137. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05562.x.
5. Kirkham P.A., Barnes P.J. Oxidative stress in COPD. *Chest.* 2013; 144 (1): 266–273. DOI: 10.1378/chest.12-2664.
6. Antus B., Kardos Z. Oxidative stress in COPD: molecular background and clinical monitoring. *Curr. Med. Chemistry.* 2015; 22 (5): 627–650.
7. Soodaeva S.K., Klimanov I.A. Oxidative metabolism abnormalities in respiratory diseases and current approach to antioxidant therapy. *Prakticheskaya pul'monologiya.* 2009; (1): 34–38 (in Russian).
8. Soodaeva S.K., Nikitina L.Yu., Klimanov I.A. Mechanisms of oxidative stress caused by environmental air pollutants: antioxidant defence potential. *Pul'monologiya.* 2015; 25 (6): 736–742. DOI: 10.18093/0869-0189-2015-25-6-736-742 (in Russian).

28. Horvath I., Donnely L., Kiss A., Kharitonov S. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 158 (4): 1042–1046. DOI: 10.1164/ajrccm.158.4.9710091.
29. Ferreira I.M., Mehdi S. Hazari R.I. et al. Exhaled Nitric Oxide and hydrogen peroxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164 (6): 1012–1101. DOI: 10.1164/ajrccm.164.6.2012139.
30. Dekhuijzen P.N., Aben K.K., Dekker I. et al. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 154 (3, Pt 1): 813–816.
31. van Beurden W.J., Dekhuijzen P.N., Harff G.A. et al. Variability of exhaled hydrogen peroxide in stable COPD patients and matched healthy controls. *Respiration.* 2002; 69 (3): 211–216.
32. Loukides S., Horvath I., Wodehouse T. et al. Elevated levels of expired breath hydrogen peroxide in bronchiectasis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 158 (3): 991–914. DOI: 10.1164/ajrccm.158.3.9710031.
33. Majewska E., Kasielski M., Luczynski R. et al. Elevated exhalation of hydrogen peroxide and thiobarbituric acid reactive substances in patients with community acquired pneumonia. *Respir. Med.* 2004; 98 (7): 669–976.
34. Szkudlarek U., Maria L., Kasielski M. et al. Exhaled hydrogen peroxide correlates with the release of reactive oxygen species by blood phagocytes in healthy subjects. *Respir. Med.* 2003; 97 (6): 718–725.
35. Antczak A., Nowak D., Bialasiewicz P. et al. Hydrogen peroxide in expired air condensate correlates positively with early steps of peripheral neutrophil activation in asthmatic patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*. 1999; 47 (2): 119–126.
36. Ho L.P., Faccenda J., Innes J.A. et al. Expired hydrogen peroxide in breath condensate of cystic fibrosis patients. *Eur. Respir. J.* 1999; 13 (1): 103–106.
37. Novoselov V.I. A role of peroxiredoxins for oxidative stress in respiratory system. *Pul'monologiya.* 2012; (1): 83–87 (in Russian).
38. Varlamova E. G., Gol'tyaev M. V., Novoselov S. V. et al. Characteristics of several substances from thiol oxidoreductase superfamily. *Molekulyarnaya biologiya.* 2013; 47 (4): 568–582 (in Russian).
39. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Ann. Rev. Biochem.* 1995; 64: 97–112. DOI: 10.1146/annurev.bi.64.070195.000525.
40. Tainer J.A., Getzoff E.D., Richardson J.S. et al. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature.* 1983; 306 (5940): 284–287.
41. Hart P.J., Balbirnie M.M., Ogihara N.L. et al. A structure-based mechanism for copper-zinc superoxide dismutase. *Biochemistry.* 1999; 38 (7): 2167–2178. DOI: 10.1021/bi982284u.
42. Borgstahl G.E., Parge H.E., Hickey M.J. et al. The structure of human mitochondrial manganese superoxide dismutase reveals a novel tetrameric interface of two 4-helix bundles. *Cell.* 1992; 71 (1): 107–118. DOI: 10.1016/0092-8674(92)90270-M.
43. Gardner P.R., Raineri I., Epstein L.B. et al. Superoxide radical and iron modulate aconitase activity in mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 1995; 270 (22): 13399–13405.
44. Chelikani P., Fita I., Loewen P.C. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004; 61 (2): 192–208. DOI: 10.1007/s00018-003-3206-5.
45. Arner E.S., Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267 (7): 6102–6109.
46. Deponte M., Urig S., Arscott L.D. et al. Mechanistic studies on a novel, highly potent gold-phosphole inhibitor of human glutathione reductase. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 20628–20637. DOI: 10.1074/jbc.M412519200.
47. Padayatty S.J., Katz A., Wang Y. et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J. Am. Coll. Nutr.* 2003; 22 (1): 18–35.
48. Shigeoka S., Ishikawa T., Tamoi M. et al. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. Exp. Bot.* 2002; 53 (372): 1305–1319.
49. Herrera E., Barbas C. Vitamin E: Action, metabolism and perspectives. *J. Physiol. Biochem.* 2001; 57 (1): 43–56.
50. Traber M.G., Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic. Biol. Med.* 2007; 43 (1): 4–15. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.024.
51. Kelly G.S. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern. Med. Rev.* 1998; 3 (2): 114–127.
52. Millea P.J. N-acetylcysteine: multiple clinical applications. *Am. Fam. Physician.* 2009; 80 (3): 265–269.
53. Boesgaard S., Nielsen-Kudsk J.E., Laursen J.B. et al. Thiols and nitrates: reevaluation of the thiol depletion theory of nitrate tolerance. *Am. J. Cardiol.* 1998; 81: 21A–29A.
54. Zafarullah M., Li W.Q., Sylvester J., Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell. Mol. Life Sci.* 2003; 60 (1): 6–20.
55. Amini A., Masoumi-Moghaddam S., Ehteda A., Morris D.L. Bromelain and N-acetylcysteine inhibit proliferation and survival of gastrointestinal cancer cells in vitro: significance of combination therapy. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2014; 33 (1): 92. DOI: 10.1186/s13046-014-0092-7.
56. Gurbuz A.K., Ozel A.M., Ozturk R. et al. Effect of N-acetylcysteine on *Helicobacter pylori*. *South. Med. J.* 2005; 98 (Suppl. 11): 1095–1097. DOI: 10.1097/01.smj.0000182486.39913.da.
57. Feldman L., Efrati S., Eviatar E. et al. Gentamicin-induced ototoxicity in hemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine. *Kidney Int.* 2007; 72 (3): 359–363. DOI: 10.1038/sj.ki.5002295.
58. Zhou J., Wang M., Sun Y. et al. Nitrate Increased Cucumber Tolerance to Fusarium Wilt by Regulating Fungal Toxin production and distribution. *Toxins (Basel.)*. 2017; 9 (3): pii: E100. DOI: 10.3390/toxins9030100.
59. Tse H.N., Tseng C.Z.S. Update on the pathological processes, molecular biology, and clinical utility of N-acetylcysteine in chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2014; 9 (1): 825–836. DOI: 10.2147/COPD.S51057.
60. Santus P., Corsico A., Solidoro P. et al. Oxidative stress and respiratory system: pharmacological and clinical reappraisal of N-acetylcysteine. *COPD.* 2014; 11 (6): 705–717. DOI: 10.3109/15412555.2014.898040.
61. Stav D., Raz M. Effect of N-acetylcysteine on air trapping in COPD: a randomized placebo-controlled study. *Chest.* 2009; 136 (2): 381–386. DOI: 10.1378/chest.09-0421.
62. Stey C., Steurer J., Bachmann S. et al. The effect of oral N-acetylcysteine in chronic bronchitis: a quantitative systematic review. *Eur. Respir. J.* 2000; 16 (2): 253–262.

Received March 03, 2017