

ПУЛЬМОНОЛОГИЯ

1'95



3
1749028

Атровент®

ИПРАТРОПИУМ

**Антихолинергический дозированный аэрозоль
для лечения хронических обструктивных
заболеваний дыхательных путей**

Атровент

- обладает выраженным спазмолитическим действием на мускулатуру бронхов
- оказывает защитное действие посредством угнетения рефлекторной бронхоконстрикции, обусловленной раздражением блуждающего нерва
- посредством ингаляции оказывает местное действие, поэтому системные побочные эффекты исключаются

Атровент успешно применяется при следующих показаниях:

- хронический обструктивный бронхит при наличии эмфиземы или без нее
- бронхиальная астма легкой и средней тяжести, особенно у больных с сопутствующими заболеваниями сердца и органов кровообращения
- при бронхоспазмах во время и после хирургических операций
- при обусловленной инфекцией и длительной дыхательной недостаточности

Дозировка

Аэрозоль Атровент

Обычно для взрослых и детей старше трех лет рекомендуется следующая схема:

Для профилактики дыхательной недостаточности при хроническом обструктивном бронхите и астме – по 1–2 дозы аэрозоля несколько раз в день, средняя суточная доза составляет 3 раза в день по 1–2 дозы аэрозоля.

Для лечения дыхательной недостаточности легкой и средней степени тяжести можно проводить дополнительную ингаляцию с помощью 2–3 доз аэрозоля.

Атровент капсулы для ингаляций

Взрослые и дети школьного возраста: 3 раза в день проводится ингаляция содержимым 1 капсулы.

Для лечения дыхательной недостаточности легкой / средней степени тяжести рекомендуется 1 капсула.

Форма выпуска

15 мл дозированного аэрозоля с мундштуком (300 доз аэрозоля).

100 капсул для ингаляций.

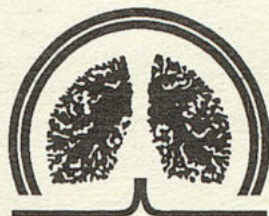
**Boehringer
Ingelheim**



Берингер Ингельхайм Фарма Гез мбХ, Вена
Представительство в Москве: РФ 123007 Москва, Хорошевский проезд, 3
Тел: 941 11 16, 941 29 93. Факс: 941 11 00. Телекс: 413828 бимоссу

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И МЕДИЦИНСКОЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ РОССИИ
ВСЕРОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ПУЛЬМОНОЛОГОВ

ПУЛЬМОНОЛОГИЯ



1'95

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

*Свободнорадикальные процессы
в патологии органов дыхания*

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА

А.Г.Чучалин — главный редактор

Б.Т.Величковский, Р.А.Григорьянц, И.С.Гущин, И.Г.Даниляк,

Н.А.Дидковский — зам. главного редактора,

М.Н.Зубков, С.Ю.Каганов, Л.М.Клячкин, А.Н.Кокосов,

П.М.К...ников, А.А.Овчинников, С.Н.Орлов,

Г.З.Пискунов, А.А.Приймак,

— ответственный секретарь,

Г.Б.Федосеев, А.Л.Черняев,

елев, В.С.Щелкунов

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

АБРОСИМОВ В.Н. (Рязань), ГОРБЕНКО П.П. (Санкт-Петербург), КИРИЛЛОВ М.М. (Саратов), КОРКИНА Л.Г. (Москва), ЛУЦЕНКО М.Т. (Благовещенск), МАВРАЕВ Д.Э. (Махачкала), МАРАЧЕВ А.Г. (Москва), НЕСТЕРОВСКИЙ Я.И. (Челябинск), НОРЕЙКО Р. (Каунас), ПУТОВ Н.В. (Санкт-Петербург), РОМАНОВА Л.К. (Москва), СЕДОВ К.Р. (Красноярск), СИДОРОВА Л.Д. (Новосибирск), СИМБИРЦЕВ С.А. (Санкт-Петербург), СУЛЕЙМАНОВ С. (Чита), СУХАНОВА Г.И. (Владивосток), ТРУБНИКОВ Г.В. (Барнаул), УСЕНКО Ю.Д. (Киев), ХАДАРЦЕВ А.А. (Тула), ШНИПАС П.А. (Каунас), ШУЛУТКО М.Л. (Екатеринбург), ЯННУС Л.Э. (Таллинн)

Журнал выпускается при поддержке фирмы "BOEHRINGER INGELHEIM" (Австрия)

Адрес редакции:

105077, г.Москва, 11-я Парковая улица, дом 32/61
НИИ пульмонологии МЗ РФ, редакция журнала "Пульмонология"
т. 465-48-77

Зав. редакцией Т.Н.ВАСИЛЕЙСКАЯ



1749028

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "JW".

СОДЕРЖАНИЕ

Редакционная колонка

Передовая статья

- Величковский Б.Т. Новые представления о патогенезе профессиональных заболеваний легких пылевой этиологии. 6

Оригинальные исследования

- Болевич С., Даниляк И.Г., Коган А.Х., Стремоухов А.А., Болевич Са. Роль свободнорадикальных процессов в патогенезе бронхиальной астмы. 18
- Дидковский Н.А., Владимиров Ю.А., Решетова Н.В., Трескунов В.К., Малашенкова И.К., Путвинский В.А., Малинин В.С. Люминолзависимая хемилюминесценция в диагностике и контроле эффективности лечения аспириновой бронхиальной астмы. 24
- Коган А.Х., Даниляк И.Г., Стремоухов А.В. Реакция генерации активных форм кислорода лейкоцитами на гистамин при различных формах и тяжести обострения бронхиальной астмы. 30
- Дайрова Р.А., Геппе Н.А., Болевич С., Коган А.Х. Показатели хемилюминесценции лейкоцитов у детей больных бронхиальной астмой, получавших ингаляции гиперкапнической гипоксической газовой смеси. 34
- Кокосов А.Н., Гольденберг Ю.М., Мищенко В.П. Перекисное окисление липидов и гемостаз на этапах формирования хронического бронхита и бронхиальной астмы. 38
- Сюрин С.А., Деревоедов А.А., Петреян В.П. Антиоксидантная терапия больных хроническим бронхитом с использованием микроэлемента селена. 43
- Бизукин А.В., Соодаева С.К. Новый методический подход к изучению окислительного метаболизма фагоцитирующих клеток. 46
- Соодаева С.К., Острахович Е.А. Роль свободного железа в процессах перекисного окисления липидов при воздействии асбеста. 50
- Козлов А.В., Томази А., Мазини А., Владимиров Ю.А. Свободное железо в интактных тканях крысы и его накопление при экспериментальном гемохроматозе. Исследование методом электронного парамагнитного резонанса. 53
- Бруханова Э.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. Влияние гаптоглобина на способность гемоглобина разлагать перекись водорода с образованием свободных радикалов. 56
- Ягмуров Б.Х., Острахович Е.А., Тимофеев А.А., Чучалин А.Г., Соодаева С.К. Влияние тровентола на свободнорадикальные процессы. 60
- Алейников С.О., Наголкин А.В., Малышева А.Г., Фурман И.Е., Смирнов Ю.А., Сучков Ю.Г., Петросов В.В., Петрова З.К., Водорацкая И.И. Эколого-гигиеническая экспертиза эффективности оптимизации воздушной среды помещений с помощью рециркуляционной установки "Поток-150М". 64
- Васильева О.С., Наголкин А.В., Фурман И.Е., Власенко С.Ю., Володина Е.В. Лечебно-оздоровительный эффект использования "чистого воздуха" с помощью рециркуляционной установки "Поток-150М" в комплексной терапии больных бронхиальной астмой. 69

Обзоры

- Дремина Е.С., Шаров В.С., Владимиров Ю.А. Определение антиоксидантной активности биологических и лекарственных препаратов: методологические аспекты. 73
- Соодаева С.К. Развитие свободнорадикальных реакций в легочных клетках при воздействии асбеста (обзор). 75

CONTENTS

Editorial column

Editorials

- Velitchkovskiy B.T. New supposition about pathogenesis of pulmonary occupational diseases of dust etiology. 6

Original studies

- Bolevich S., Daniliack I.G., Kogan A.H., Stremoukhov A.A., Bolevich Sa. The role of free radical processes in bronchial asthma pathogenesis. 18
- Didkovsky N.A., Vladimirov Y.A., Reshetova N.V., Treskunov V.K., Malashenkova I.K., Putvinsky V.A., Malinin V.S. Luminol dependent chemiluminescence in diagnostics and control of aspirinic bronchial asthma treatment effectivity. 24
- Kohan A.H., Daniliack I.G., Stremoukhov A.A. The histamine effect on leukocytal generation of reactive oxygen species during bronchial asthma of various forms and the severity degree. 30
- Dairova R.A., Heppe N.A., Bolevich S., Kogan A.H. Leukocytal hemiluminescence parameters in bronchial asthma infants obtaining hypercapnic hypoxic mixture inhalation. 34
- Kokosov A.N., Goldenberg Y.M., Mishenko V.P. Peroxide lipid oxidation and hemostasis during chronic bronchitis and bronchial asthma formation. 38
- Surin S.A., Derevoedov A.A., Petreian V.P. Antioxidant therapy with selenium use in patients with chronic bronchitis. 43
- Bizukin A.V., Sohodaeva S.K. New technique for phagocyte oxygen metabolism study. 46
- Sohodaeva S.K., Ostrakhovich E.A. Role of free ferrum in peroxide lipid oxidation processes during asbestos influence. 50
- Kozlov A.V., Tomasi A., Masini A., Vladimirov Y.A. Free ferrous ions intact rat tissues and their accumulation during experimental hemochromatosis. The electron paramagnetic resonance study. 53
- Brukhanova E.V., Osipov A.N., Vladimirov Y.A. The haptoglobin effect on haemoglobin mediated decomposition of hydrogen peroxide yielding free radicals. 56
- Yahgmurov B.H., Ostrakhovich E.A., Timofeyev A.A., Chuchalin A.G., Sohodaeva S.K. The effect of troventol on free radical processes. 60
- Aleynikov S.O., Nagolkin A.V., Malisheva A.G., Furman I.E., Smirnov Yu.A., Suchkov Yu.G., Petrosov V.V., Petrova Z.K., Vodorackaya I.I. Ecological hygienical expertise of the efficiency of room air environment optimisation with the recirculative unit "Potok-150M". 64
- Vasiljeva O.S., Nagolkin A.V., Furman I.E., Vlasenko S.Y., Volodina E.V. Medical health recover effect of "Clear Air" application through the recirculative unit "Potok-150M" in complex treatment in patients with bronchial asthma. 69

Reviews

- Dremina E.S., Sharov V.S., Vladimirov Y.A. The study of antioxidant activity of biological and pharmacologic aspects. 73
- Sohodaeva S.K. The free radical reaction development in pulmonary cells during asbestos influence (review). 75

Юбилейные даты	Anniversaries
К 70-летию со дня рождения Я.И.Нестеровского 78 К 70-летию со дня рождения Л.М.Клячкина 79	J.I.Nesterovsky. The 70th anniversary L.M.Kliatchkin. The 70th anniversary
Самооценка профессиональной подготовки врача-пульмонолога	Self-estimation for professional fitness for pulmonologist
Некролог	Obituary
Памяти профессора В.В.Уткина 83	In memory of professor V.V.Utkin
Новое о лекарственных препаратах	New data on pharmacological products
<i>Хаитов Р.М., Борисова А.М., Хорошилова Н.В., Кулаков А.В., Еремина О.Ф., Голубева Н.М., Пинегин Б.В.</i> Применение рибосомального препарата рибомунила для коррекции иммунной системы у больных хроническим бронхитом. 84	<i>Khaitov R.M., Borisova A.M., Khoroshilova N.V., Kulakov A.V., Eremina O.F., Golubeva N.M., Pinegin B.V.</i> The use of rhybosomal drug rhybomunil for immune system correction in patients with chronic bronchitis
Хроника. Информация	Current events. Information
Авторский указатель статей, опубликованных в журнале "Пульмонология" в 1994 г.	Author index of the articles published in the "Pulmonology" journal in 1994

НА ОБЛОЖКЕ:

ДОНСКАЯ БОЖИЯ МАТЕРЬ

XIV век, Феофан Грек.

Дерево, паволока, левкас, яичная темпера.

Из собрания Государственной Третьяковской Галереи.

Икона известна как русская святыня. Чудеса заступничества иконы за русский народ описаны неоднократно: защита Москвы от полчищ хана Казы-Гирея в 1591 году; русское войско было на севере, и Москва была беззащитна. Иоанн Грозный брал икону Донской Божьей матери в победоносный поход на Казань. Перед Донской иконой наречен на царство Борис Годунов (факт отражен в трагедии А.С.Пушкина).

По ряду свидетельств икона Донской Божьей матери впервые появилась в день битвы на Куликовом поле, куда ее привезли люди с Дона. После победы над Мамаем Дмитрий Донской поставил икону в Благовещенском соборе Кремля. После Донского сражения было сделано несколько копий. Одна из них оказалась в г. Коломне, другая была поставлена в 1591 году в Донском монастыре в Москве.

Донская Божия мать относится к традиционной византийской композиции "Елеуса" (милостивая), известной на Руси как "Богоматерь Умиление". Донская необычна по живописи, она имеет некоторые детали, свойственные итальянскому Возрождению.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛОНКА

Два с небольшим десятка лет тому назад, когда открытие Фридовичем и Мак-Кордом фермента супероксид-дисмутазы еще не было оценено современниками, свободнорадикальные реакции в живых организмах казались экзотикой, а ученые, призывавшие заниматься этой проблемой, — не более как чудаковатыми поклонниками профессора Б.Н.Тарусова и академика Н.М.Эммануэля. Открытие фермента, специализировавшегося на удалении свободных радикалов, заставило биохимиков пересмотреть постулат о том, что только относительно устойчивые молекулы, а не радикалы с их огромной реакционной способностью и ничтожным временем жизни могут быть участниками клеточного метаболизма. И все же, поворот патологов и врачей к проблеме свободных радикалов связан не столько с открытием СОД, сколько с раскрытием механизма бактерицидного действия клеток-фагоцитов. Оказалось, что важная, а часто основная роль в бактерицидном действии принадлежит свободным радикалам кислорода, первый из которых — супероксидный радикал синтезируется еще одной специализированной ферментной системой — НАДФН-оксидазой. В самое последнее время была открыта еще одна важная и тоже специализированная система синтеза свободнорадикального соединения, окиси азота, которая, как вскоре выяснилось, играет ключевую роль в регуляции кровяного давления и (опять же!) в деятельности фагоцитов. Список изученных ферментных систем, прямо или косвенно контролирующих уровень свободнорадикальных процессов в живых клетках и организме, в последнее время дополнился большим списком неферментных антирадикальных соединений, начиная с витаминов А, С и Е (и их производных) и кончая комплексами железа типа карнозина в мышечных клетках. Иначе говоря, системы генерации и связывания свободных радикалов — это новый и большой мир современной биохимии, биофизики и биологии клетки.

Интерес к свободнорадикальным реакциям патологов и клиницистов связан, конечно, не только с этим. Разработка большого комплекса методов изучения свободнорадикальных процессов дала возможность выяснить роль этих процессов в патогенезе многих заболеваний, и по мере накопления данных становилось все более ясным, что свободные радикалы ответственны за возникновение и развитие многих болезней человека. Развитие атеросклероза, канцерогенное действие многих веществ, развитие болезней пожилого возраста, например старческой катаракты, многие хронические воспалительные заболевания, интоксикации, диабет — это далеко не полный перечень патологических процессов и болезней, развитие которых непосредственно связано с активацией свободнорадикальных процессов в определенных органах и тканевых структурах.

Свободные радикалы — это самая горячая точка современной патологии. Международные конференции, специализированные журналы и научные общества, создаваемые для решения проблем роли свободных радикалов в норме и в развитии болезней, — наглядное свидетельство интереса международной научной общественности к этому научному направлению.

Академик РАМН Ю.А.Владимиров.

Б.Т.Величковский

НОВЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛЕГКИХ ПЫЛЕВОЙ ЭТИОЛОГИИ

Лаборатория патогенеза и экспериментальной терапии пневмокониозов Российского
государственного медицинского университета, Москва

NEW SUPPOSITION ABOUT PATHOGENESIS OF PULMONARY OCCUPATIONAL DISEASES OF DUST ETIOLOGY

B.T.Velitchkovskiy

S u m m a r y

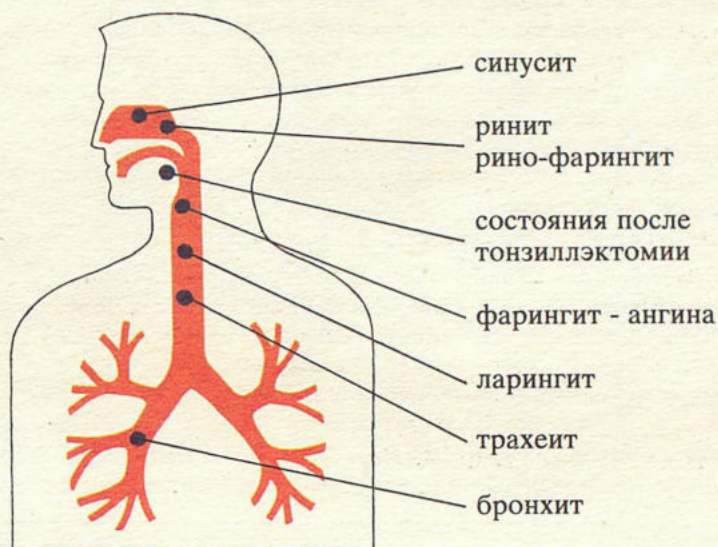
Initial molecular mechanisms of fibrogenic dust action on organism are based on prolonged formation of reactive oxygen species (ROS) in lungs. This phenomena is based on three processes. The first process is conditioned by activation of phagocytes with dust particles. The action is occurred by means of weak chemical interaction during contacts of the dust particle surface with the cell membrane. The second process is coupled with transformation of formed ROS on catalytic centres of the particle border layer. The third one is copupled with the energy deficit state and intracellular hypoxia development in the koniophage. The mentioned process plays a dominating role in koniophage death. The predominating forms of formed reactive oxygen depends on the chemical content, the molecular structure, and surface properties of dust particles. Generally, coal dust generates the superoxide oxygen anion-radical, quartz one generates hydrogen peroxid (H_2O_2), and asbest one initiates the hydroxilic $HO\cdot$ radical. The formed ROS under the fibrogenic dust influence not only causes koniophage death, but stimulates synthesis of interleukine I and other intermediators regulating the growth of lymphocytes and fibroblasts. The ROS are the cause of relative deficit of proteasa inhibitors and also the cause of appearance of antigens as a result of oxidative protein modification with hydrogen peroxid. All the fibrogenic dusts are characterized by the ROS featured ability of causing the development of more and less manifestated local and generalized mutagen effects. The ROS plays a role in determination of the ways and methods concerning the respirable dust fraction excretion from lung. They plays a role in localisation of pathologic changes and in manifestations of the diseases developing under the fibrogenic various type dust influence.

Р е з ю м е

Первичные молекулярные механизмы воздействия фиброгенной пыли на организм заключаются в длительном избыточном образовании в легких активных форм кислорода (АФК). В основе этого феномена лежат три процесса. Первый из них обусловлен активацией фагоцитов пылевыми частицами за счет слабых химических взаимодействий при контакте поверхности пылинки с клеточной мембраной. Второй процесс связан с трансформацией образовавшихся АФК на каталитических центрах пограничного слоя частицы. Третий — с развитием в кониофаге энергодефицитного состояния и внутриклеточной гипоксии. Указанный процесс играет решающую роль в гибели кониофага. Преобладающая форма образующегося активного кислорода зависит от химического состава, молекулярного строения и свойств поверхности пылевых частиц. Угольная пыль генерирует преимущественно супероксидный анион-радикал O_2^- , кварцевая — пероксид водорода H_2O_2 , асбестовая — гидроксильный радикал $HO\cdot$. Образующиеся под влиянием фиброгенной пыли АФК не только обуславливают гибель кониофага, но и стимулируют синтез интерлейкина I и других интермедиаторов, регулирующих рост лимфоцитов и фибробластов, служат причиной развития относительной недостаточности ингибиторов протеаз и возникновения аутоантигенов в результате окислительной модификации белков, по-видимому, пероксидом водорода. Всем фиброгенным

БИОПАРОКС

Ингаляционный антибиотик

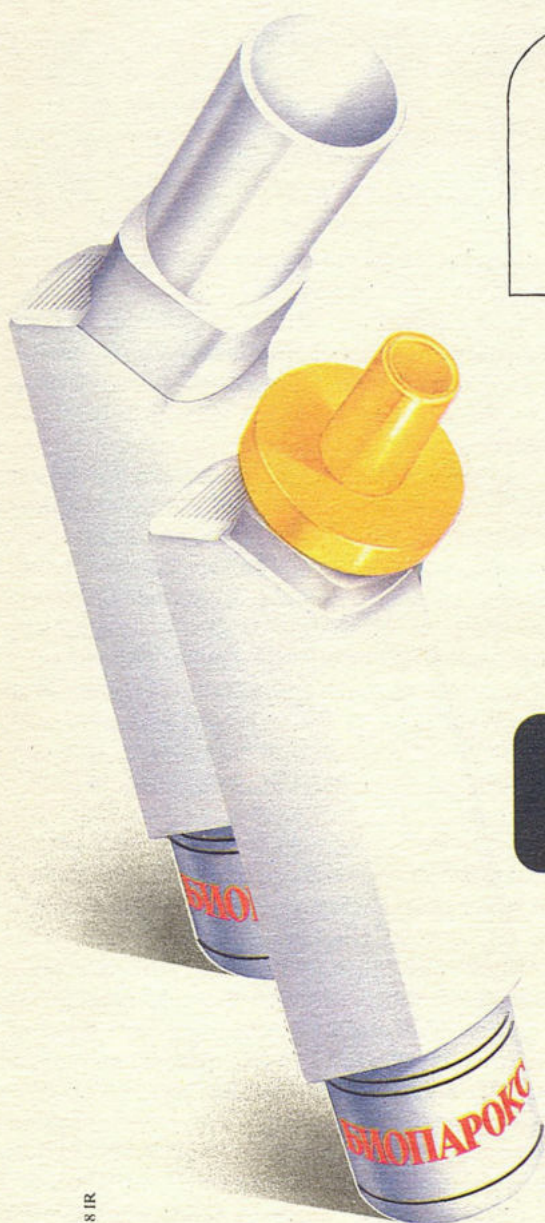


Терапевтическое воздействие
на всех уровнях дыхательного тракта.

БИОПАРОКС

Одновременное антибактериальное и
противо-воспалительное действие.
Аэрозольный препарат в виде
микронных лекарственных частиц.

Один сеанс каждые 4 часа, в каждый сеанс :
4 ингаляции через рот и/или 4 ингаляции
в каждый носовой ход.



пылям свойственна опосредованная АФК способность вызывать развитие более или менее выраженных местных и генерализованных мутагенных эффектов. АФК играют роль и в определении путей и способов выведения респираторной фракции пыли из легких, локализации патологических изменений и клинических проявлений заболевания, развивающегося под воздействием различных видов фиброгенной пыли.

Перед исследователями, занимающимися изучением патогенеза пневмокозиозов, долгие годы неразрешимым парадоксом стоял вопрос о том, каким образом практически нерастворимые и не токсичные мелкодисперсные пылевые частицы оказывают такое неблагоприятное влияние на органы дыхания? Почему, например, кремнезем, относящийся к наиболее устойчивой и химически инертной части земной коры, вызывает развитие самого тяжелого профессионального заболевания легких?

Сегодня этот парадокс, по-видимому, можно считать раскрытым. Установлено, что пылевые частицы реализуют свое пагубное воздействие на организм и, раньше всего, на фагоцитирующие их мононуклеарные и полиморфнонуклеарные лейкоциты благодаря способности стимулировать длительное избыточное образование в легких активных форм кислорода (АФК).

1. Механизм генерации АФК, связанный с активацией фагоцитов

При контакте возбудителя инфекции, иммунного комплекса или пылевой частицы с мембраной фагоцита так интенсивно повышается уровень потребления кислорода, что это явление получило название "дыхательного взрыва". Практически весь этот дополнительно поглощенный кислород не используется на энергетические потребности клетки. Особые ферментные системы фагоцитов, встроенные во внешнюю клеточную мембрану, — НАДФ, Н-оксидаза и др. изменяют электронную структуру молекулы кислорода, превращая его в главное оружие бактерицидной защиты организма — кислородные радикалы. Методом люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) обнаружено

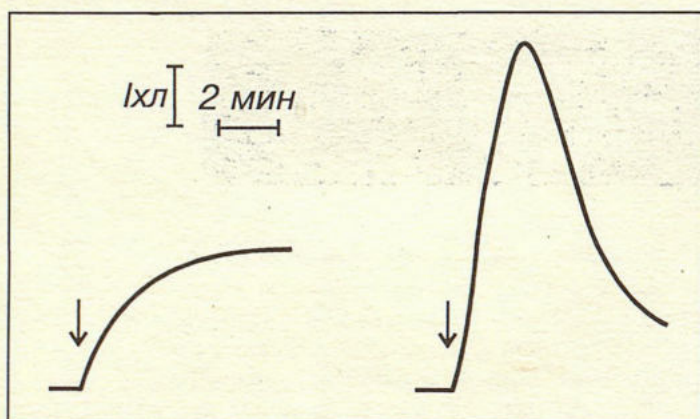


Рис.1. Основные типы ХЛ-ответа фагоцитов при контакте с пылью различной степени цитотоксичности ($I_{ХЛ}$ — интенсивность хемилюминесценции).

Стрелкой обозначен момент введения 1 мг/мл пылевого образца в суспензию макрофагов концентрации 5×10^5 в 1 мл. Среда: 110 мМ NaCl; 10 мМ трис pH=7,4; 5 мМ глюкозы; 5×10^{-5} М люминола.

два основных типа изменения метаболической активности фагоцитов при контакте с пылью различной степени цитотоксичности (рис.1). Первый тип ХЛ-ответа — медленный. При нем наблюдается постепенное развитие свечения с небольшой амплитудой и медленным достижением максимума за 6—8 минут. Интенсивность ХЛ после достижения максимума длительное время остается практически постоянной. Такой ХЛ-ответ можно, по-видимому, расценивать как наиболее физиологичный. Макрофаг при этом сохраняет жизнеспособность и адекватно отвечает на дополнительные стимулы.

Второй тип ХЛ-ответа — быстрый. Он характеризуется высокой амплитудой, коротким временем достижения максимума за 1—3 минуты и последующим быстрым снижением интенсивности свечения. Быстрая кинетика ХЛ отражает состояние чрезмерной активации макрофага, сопряженное с опасностью повреждения клетки.

Медленный ХЛ-ответ характерен при пыли, контактирующей с клеточной мембраной за счет неспецифических дисперсионных и/или гидрофобных взаимодействий. Наиболее типичными примерами аэрозолей такого рода являются углеродные пыли, оксид титана и др. Все подобные виды пыли обладают низкой цитотоксичностью.

Быстрая кинетика ХЛ присуща пылевым частицам, контакт которых с клеточной мембраной фагоцита осуществляется за счет относительно специфических сил или водородных связей. Типичными видами пылей такого рода являются аэрозоли кварца, асбеста, цеолитов. Все они отличаются высокой цитотоксичностью [3,5].

Таким образом, фиброгенные пыли способны в разной степени активировать фагоцитирующие клетки и вызывать генерацию АФК. Интенсивность этих процессов зависит от химического состава, кристаллического строения и свойств поверхности пылевых частиц.

Различный тип взаимодействия поверхности пылевых частиц с наружной клеточной мембраной порождает отличия в метаболической активности не только лейкоцитов, но и эритроцитов. Так, интенсивность "пылевого" гемолиза эритроцитов при откачке воздуха из среды инкубации или замене его на инертный газ снижается у тех видов высокофиброгенной пыли, которые взаимодействуют с клеточной мембраной за счет электростатических сил: асбестовый гемолиз подавляется в 2,9 раза, цеолитовый в 4,1 раза. Кварц же, взаимодействующий с клеточной мембраной с помощью водородных связей, гемолитическую активность сохраняет практически полностью, она уменьшается лишь на одну четверть. Таким образом, гемолиз эритроцитов, вызываемый кварцевой пылью, в меньшей степени зависит от количества растворенного в среде кислорода.

Т а б л и ц а

Образование активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов в суспензии фагоцитов под влиянием фиброгенной пыли (% от контроля — клеток без пыли)

Активирующая пыль	$O_2^{\cdot -}$	H_2O_2	$HO^{\cdot}$	МДА
Кварц	300	203	118	153
Крокидолит-асбест	250	96	163	300

Изучение кинетики ХЛ-ответа позволяет быстро получить представление о степени цитотоксичности производственной пыли. Нельзя, однако, считать, что степень биологической опасности аэрозоля можно прогнозировать только по характеру и интенсивности вызываемой ХЛ, так как активация фагоцитов сама по себе практически не приводит к их гибели. К тому же цитотоксичность пыли не всегда соответствует уровню ее фиброгенности и, главное, фиброгенностью не исчерпываются эффекты и клинические проявления воздействия на организм твердых пылевых частиц.

2. Механизм генерации АФК, обусловленный каталитическими свойствами поверхности пылинки

Состав накапливающихся вокруг пылевых частиц форм активного кислорода определяет, главным образом, второй механизм их генерации. Он заключается в развитии на поверхности частиц каталитических реакций трансформации АФК и, прежде всего, относительно более устойчивого пероксида водорода H_2O_2 .

Особый интерес представляет сравнение каталитической способности кварца и асбеста (табл.). Генерация $O_2^{\cdot -}$ за 60 мин активации перитонеальных макрофагов асбестом — крокидолитом (ИСС, Канада) и кварцем (Люберцы, Россия) в 2,5—3 раза превышает контроль.

При изучении образования пероксида водорода наблюдаются, на первый взгляд, парадоксальные результаты. Содержание пероксида водорода при инкубации (15 минут) нейтрофилов человека с асбестом практически не отличается от контроля. Кварц, напротив, вызывает накопление H_2O_2 в количествах, превышающих контроль в среднем в 2 раза. Надо полагать, что при активации клеток асбестом не удается зарегистрировать пероксид водорода в связи с тем, что каталитические центры на поверхности волокна трансформируют его в более агрессивный гидроксильный радикал.

Это положение подтверждается при исследовании генерации гидроксильного радикала. В присутствии макрофагов и пылевых частиц кварца содержание $HO^{\cdot}$, определяемое по разрушению 2-дезоксид-Д-рибозы (ДОР), превышает контроль только на 18%. Инкубация клеток с волокнами асбеста увеличивает деградацию ДОР на 63%, то есть в 3,5 раза больше, чем при контакте с кварцем. К тому же половина гидроксильных радикалов, образующихся под влиянием крокидолита, не взаимодействует с этанолом, добавленным в среду, то

есть является не свободными, а так называемыми "сайтспецифическими", или "криптогидроксилами", возникающими непосредственно в точке контакта с поверхностью частицы.

Подобный тип гидроксильных радикалов более чем в 2 раза активнее индуцирует усиление перекисного окисления липидов (ПОЛ). Действительно, пероксидация липидов перитонеальных макрофагов, определяемая по количеству малонового диальдегида (МДА), под влиянием кварца увеличивается только на 53%, а при контакте с волокнами асбеста — в 3 раза [4,12,16].

Таким образом, действие пыли кварца на организм опосредовано главным образом пероксидом водорода, а влияние волокон асбеста связано прежде всего с образованием гидроксильных и особенно "криптогидроксильных" радикалов. Что касается угольной пыли, поверхность которой не имеет каталитических центров, то ее воздействие обусловлено целиком возникающими при активации лейкоцитов супероксидными анион-радикалами $O_2^{\cdot -}$.

Роль компонентов асбестового волокна в генерации АФК различна (рис.2). На верхней половине рисунка

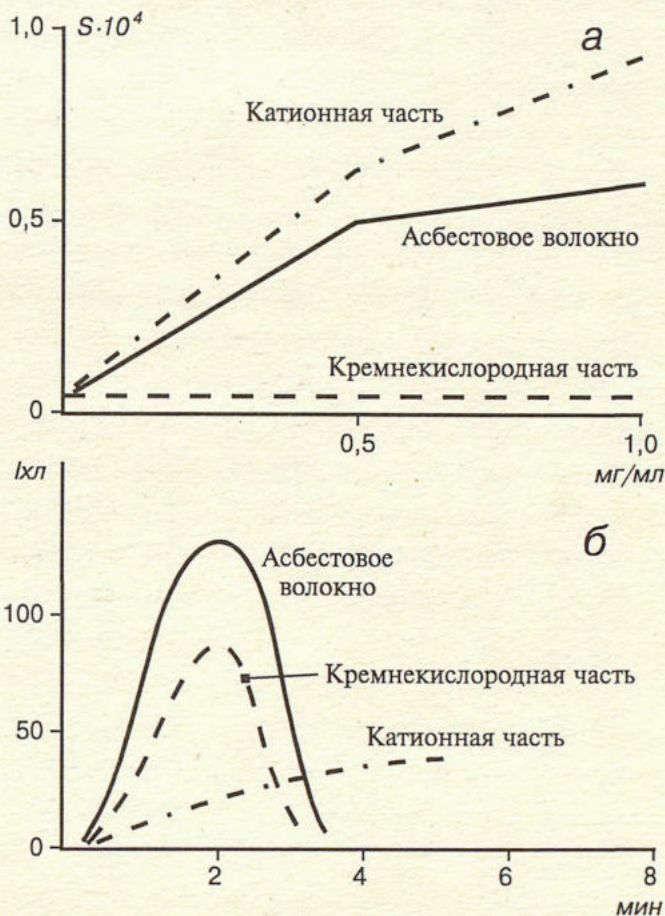


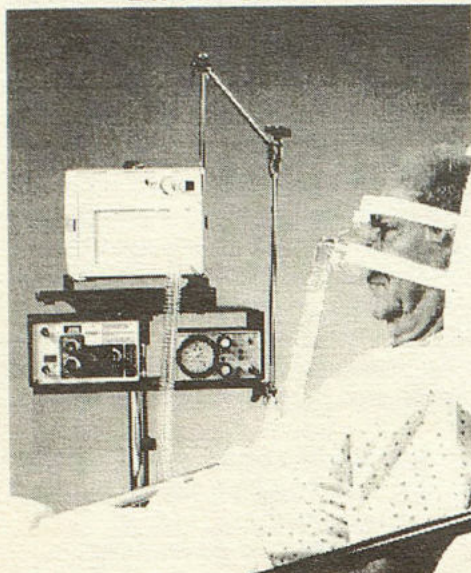
Рис.2. Генерация радикалов кислорода асбестовым волокном и его компонентами.

а — в бесклеточной среде. По оси абсцисс — концентрация (мг/мл); по оси ординат — светосумма вспышек ХЛ за 3 мин. Среда: 154 мМ KH_2PO_4 pH=7,4; $\times 10^{-7}$ М пероксидазы хрена; $\times 10^{-5}$ М люминола; 5×10^{-5} М НАДРН;

б — в суспензии макрофагов. По оси абсцисс — время (мин), по оси ординат — интенсивность ХЛ. Среда та же.

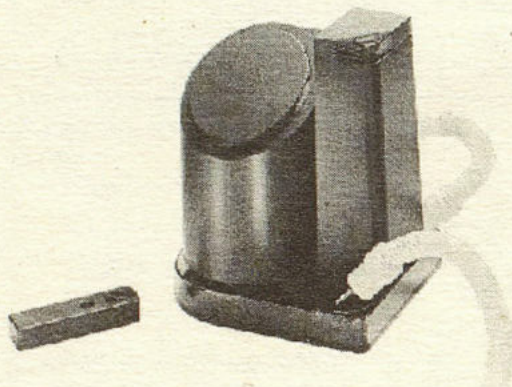


BiPAP S/T-D



BiPAP S/T-D обеспечивает эффективную неинвазивную респираторную терапию.

REMstar Choice



REMstar Choice лучший выбор при лечении синдрома апноэ во время сна в домашних условиях.



Медицинское Оборудование, Диагностика и Лечение

СП ПульмоСенс, 105077, а/я2,
г. Москва, 11-я Парковая ул.,
д. 32/61, корп. 2.
тел. (095) 461 90 45, 4658385
факс. (095) 461 37 41

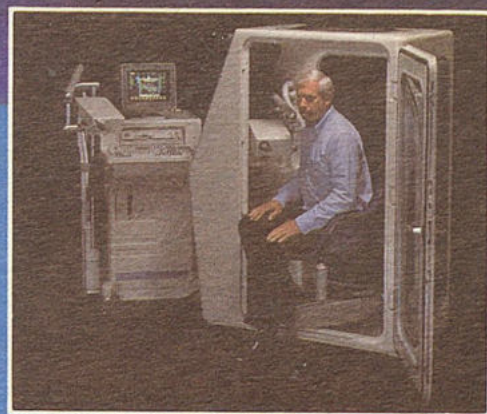
BiPAP S/T-D Hospital System - первый аппарат вентиляции легких с поддерживающим давлением (pressure support) специально разработанный для неинвазивной терапии с помощью носовых и лицевых масок, позволяющий отдельно регулировать инспираторное (IPAP) и экспираторное (EPAP) давление в дыхательных путях. Применяется у взрослых и детей для лечения вентиляционных расстройств дыхательной системы в терапевтической клинике, интенсивной терапии и реанимации, а также для лечения синдрома апноэ во время сна. Обеспечивает 4 основных режима спонтанной вентиляции легких с поддерживающим давлением (в том числе CPAP). Позволяет мониторировать и регистрировать давление в дыхательных путях, дыхательный объем и величину утечки.

REMstar Choice - портативная система для создания постоянного положительного давления в дыхательных путях (CPAP). Применяется для лечения вентиляционных расстройств дыхания. Самый удобный и эффективный способ лечения нарушений дыхания во время сна, в том числе обструктивной и смешанной форм апноэ. Имеет наилучшие характеристики и обеспечивает наибольший комфорт для пациента: носовые маски со всеми приспособлениями, дистанционное управление уровня давления и времени достижения его исходной величины, возможность использования простого но высокоэффективного увлажнителя, тихая работа, широкий диапазон поддерживающего давления (от 2.5 до 20 см H₂O), стабильный уровень установленного давления в дыхательных путях даже при возникновении утечки. Применяется у взрослых и детей в клинических и домашних условиях.

Все Ваши Кардио-Респираторные Нужды Под Одним Сводом!



Всеохватывающие Системы
Анализа Сна Серии SomnoStar 4100



Совершенные Системы Исследования
Функции Внешнего Дыхания. Портативные
Спирометры, Плетизмограф Измеряющий Диффузию



The CardioPulmonary Care Company™



Оценка Метаболизма,
Нагрузочных Тестов и Питания



Мониторинг Газов При Неотложной
Помощи и Высоочастотная Вентиляция

SensorMedics BV
European Headquarters
Rembrandtlaan 1b
P.O.Box 299
3720 AG Bilthoven, The Netherlands

Telephone : +31 (0)30 28 97 11
Fax : +31 (0)30 28 62 44
Telex : 40795 senmed nl

© 1992, SensorMedics BV

 **ПульмоСенс**

СП ПульмоСенс
105077, г.Москва, А/Я 2
11-я Парковая ул., д.32/61,
Корп.2
Тел.: (095) 465 83 85; 461 90 45
Факс: (095) 461 37 41

показано, что каталитическая способность асбеста целиком обусловлена перешедшей в раствор катионной составляющей волокна. Однако при контакте с макрофагами (нижняя половина рисунка) выясняется, что катионная часть волокна не способна вызывать активацию клеток. Таким образом, кремнекислородный скелет минерала активирует фагоциты и генерацию ими АФК, а на поверхности волокна последние превращаются в гидроксильные и "криптогидроксильные" радикалы [17]. Потому нативное волокно в наибольшей степени опасно для организма. Каталитические свойства присущи ионам металлов переменной валентности, в частности железа. На связь каталитической способности асбеста с присутствием ионов железа в структуре поверхности волокна указывает тот факт, что она подавляется хелатором железа — дезокси-ферритином [19]. Следует подчеркнуть, что хотя процесс трансформации АФК на поверхности пылевых частиц определенное время идет и в водной среде, каталитическим он становится только в присутствии лейкоцитов, ферменты которых генерируют восстановительные эквиваленты, необходимые для перевода ионов переходных металлов в низшую степень валентности.

Однако каталитические процессы на поверхности пылевых частиц не всегда ведут к повышению их биологической активности. Например, кристаллическая окись алюминия разлагает пероксид водорода до воды подобно ферменту каталазе без образования свободных радикалов кислорода [4,16]. В этом случае содержание АФК вокруг частицы уменьшается и одновременно снижается ее цитотоксичность. Не случайно окись алюминия используется в производстве вакцин. Популярная в свое время алюмопрофилактика силикоза также, по-видимому, обусловлена способностью пленки окиси алюминия разлагать генерируемые кварцем АФК без образования свободных радикалов [2]. Подобная каталитическая способность пылинок кристаллической окиси алюминия обусловлена, по-видимому, апротонными кислотоподобными центрами поверхности (льюисовскими центрами).

3. Механизм генерации АФК, связанный с развитием в фагоците энергодефицитного состояния и внутриклеточной гипоксии

Третий молекулярный механизм образования АФК имеет место при фагоцитозе как высоко-, так и низкоцитотоксической пыли. Но причина и период включения указанного механизма в том и другом случае не одинаковы.

При максимальной активации фагоцитов высокофиброгенными видами пыли кислородные радикалы, образуемые ферментами, локализованными в наружной клеточной мембране, "запускают" процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ), приводящий к повышению проницаемости мембран. Это обуславливает то, что большая часть поглощенного кислорода и энергетических ресурсов фагоцита расходуется не на дыхание, а используется на два параллельно идущих процесса — генерацию бактерицидных АФК и работу ионных насосов, восстанавливающих внутриклеточное ионное и осмо-

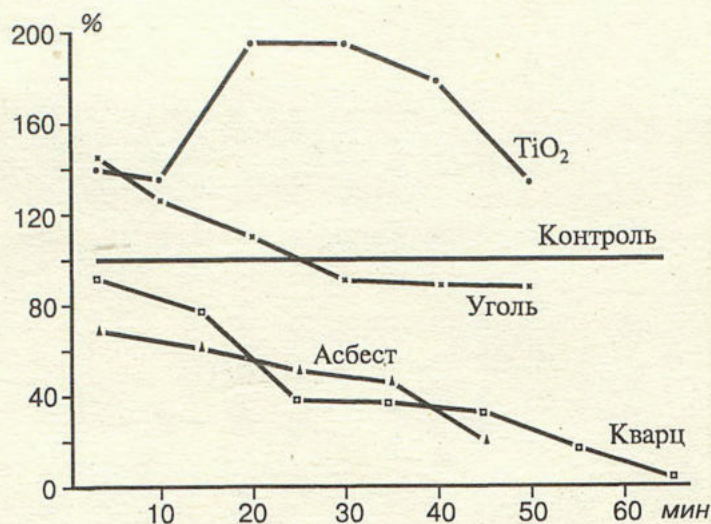


Рис. 3. Изменение количества АТФ в суспензии макрофагов концентрации $0,75 \times 10^7$ клеток/мл при инкубации с различными образцами фиброгенной пыли концентрации 1 мг/мл.

По оси абсцисс — время (мин); по оси ординат — концентрация АТФ (% от контроля — количества АТФ в клетках без пыли, принятого за 100%).

тическое равновесие. По указанной причине происходит значительное и быстрое снижение уровня энергетической "валюты" клетки — аденозинтрифосфата (АТФ). В клетке развивается энергодефицитное состояние (рис. 3). При инкубации с асбестом и кварцем содержание АТФ уменьшается до 10—20%, в то время как частицы угля и диоксида титана или не изменяют, или даже повышают уровень АТФ в клетках [9]. Последнее подтверждает различие механизмов повреждения лейкоцитов высоко- и низкофиброгенной пылью.

Одновременно с развитием энергодефицитного состояния в фагоците нарастает внутриклеточная гипоксия, первопричина которой заключается в том, что весь потенциал "дыхательного взрыва" расходуется на генерацию бактерицидных радикалов, а не на нужды жизнедеятельности клетки. Переключение в активно фагоцитирующей клетке энергетического метаболизма с аэробного на анаэробных тип лишь временно задерживает развитие внутриклеточной гипоксии, при которой возникают серьезные повреждения митохондрий, ведущие к разобщению окислительного фосфорилирования и нарушению их структуры. Именно поэтому одним из первых морфологических проявлений повреждения макрофагов, фагоцитирующих высокофиброгенную пыль, является набухание митохондрий, потеря ими крист и, в конечном итоге, образование на их месте электроннопрозрачных полостей. Поврежденные митохондрии сами становятся источником генерации большого количества супероксида, который в норме является лишь побочным минорным продуктом восстановления кислорода в дыхательной цепи. Так в клетке формируется новый очаг образования АФК. Еще один очаг образования кислородных радикалов возникает в цитоплазме клетки при взаимодействии фермента ксантиноксидазы с продуктами глубокого распада АТФ — ксантином и гипоксантином [11].

Таким образом, фагоцит все более активно продуцирует средства своей бактерицидной защиты — кислородные радикалы. Но если для микробного, вирусного или грибкового возбудителя они губительны, то пылевая частица к ним не чувствительна. В этом случае эволюционно выработанный стандартный ответ альвеолярных макрофагов и нейтрофилов не срабатывает. Напротив, при большой пылевой нагрузке ситуация становится опасной как для самой клетки, так и для окружающих тканей. Как правило, только после включения указанного третьего механизма внутриклеточной генерации АФК происходит разрушение кониофага.

При фагоцитозе низкоцитотоксичной пыли механизм внутриклеточной генерации АФК и гибели кониофага иной [10]. Клетки, поглотившие большое количество такого рода частиц, не только длительное время остаются жизнеспособными и подвижными, но даже увеличиваются в объеме, в них возрастает число и размеры митохондрий, лизосом и жировых включений. Происходит типичная "рабочая" гипертрофия кониофага на внутриклеточном уровне. Например, в модельных опытах с внутрибрюшинным введением белым крысам 5 мг/мл взвеси угольной пыли через сутки средний диаметр перитонеальных макрофагов увеличивается на 32% по сравнению с контролем. Однако гипертрофированные кониофаги нуждаются в потреблении повышенного количества кислорода. С увеличением размеров клетки отношение площади ее поверхности к объему резко снижается, что создает все большие затруднения для диффузии кислорода в цитоплазму. В результате со временем поступление кислорода к митохондриям становится недостаточным, гипоксия нарушает режим их работы и начинается усиленное образование супероксидного анион-радикала. Включается сразу третий механизм внутриклеточной генерации АФК.

Полученные данные позволяют сделать важное, с нашей точки зрения, заключение: безвредной пыли нет. Гибель кониофага может произойти под влиянием любых практически нерастворимых пылевых частиц. Для этого требуются только различные уровни запыленности воздуха и различная длительность пребывания в запыленной атмосфере.

4. Роль АФК в формировании клиничко-морфологических особенностей пылевых заболеваний

Если при контакте лейкоцита с высокоцитотоксичными пылевыми частицами избыточное образование АФК наблюдается сразу, начиная уже с первичной активации, то при фагоцитозе низкоцитотоксичной пыли этот процесс отсрочен и развивается только в терминальном периоде жизни гипертрофированного кониофага. Указанное обстоятельство определяет различные пути удаления осевших в органах дыхания высоко- и низкоцитотоксичных пылевых частиц и не одинаковую локализацию вызываемых ими патологических изменений. Вследствие быстрого разрушения кониофагов эвакуация из легких частиц кремнезема и других разновидностей высокоцитотоксической пыли

осуществляется преимущественно внеклеточно по внутри-тканевым лимфатическим путям, а развивающийся патологический процесс локализуется в легочной ткани. Угольная пыль, напротив, удаляется из легких главным образом внутри кониофагов по мукоцилиарному эскалатору респираторного тракта, что прежде всего приводит к развитию хронического пылевого бронхита. Возникновение этого заболевания обусловлено именно процессом выведения угольной пыли, а не задержкой ее в дыхательных путях, так как мелкодисперсные нерастворимые пылинки респираторных фракций практически не оказывают непосредственного механического или иного повреждающего влияния на мукоцилиарный транспорт и слизистую дыхательных путей, в отличие от чрезмерно гипертрофированных кониофагов, продуцирующих агрессивные АФК.

АФК имеют непосредственное отношение и к возникновению иммунологических сдвигов при пылевой патологии. Частицами кварца можно стимулировать выработку в культуре макрофагов интерлейкина-1 — регулятора роста и дифференцировки лимфоцитов [8]. В этой связи представляет интерес установленный в лаборатории факт, что внесение в такую культуру веществ, ингибирующих АФК, — СОД, каталазы, практически полностью подавляет выработку интерлейкина-1. Таким образом, частицы кремнезема обладают свойствами активировать иммунную систему без участия иммунных комплексов, подобно адьюванту, и указанная способность опосредована генерацией АФК.

Но еще важнее, на наш взгляд, что АФК могут играть роль и в формировании специфического ответа иммунной системы. В наибольшей степени черты аутоиммунного заболевания с гиперчувствительностью замедленного типа характерны для узелковой формы силикоза. При активации макрофагов кварцевой пылью, как показано выше, характерна усиленная индукция такой формы активного кислорода, как пероксид водорода. Последний относительно устойчив, способен к длительной диффузии и окислительной модификации эндогенных макромолекул [1]. В результате в легких, по-видимому, могут появиться тканевые структуры со свойствами аутоантигенов. Указанный механизм аутоиммунных изменений в первую очередь характерен именно для силикоза, обуславливая развитие как гиперчувствительности замедленного типа, так и формирование силикотической эпителиоидноклеточной гранулемы, а также возникновение часто сопутствующих силикозу различных системных коллагенозов. Представление о пероксиде водорода как о причине окислительной модификации эндогенных макромолекул в аутоантигены пока еще гипотеза. Высокая привлекательность ее, однако, заключается в том, что поскольку АФК являются обязательными медиаторами воспалительной реакции, подобный механизм образования аутоантигенов может быть ведущим при формировании многих, если не всех, аутоиммунных процессов.

Обратимся теперь к выяснению роли АФК в развитии обструктивных изменений воздухопроводящих путей и перибронхиальной эмфиземы легких под воздействием фиброгенной пыли. Повышение сопротив-

ления дыхательных путей является одним из ранних проявлений пылевой патологии.

Подобные изменения длительное время могут оставаться единственным симптомом заболевания. Усиление процессов свободнорадикального окисления, наблюдающееся в легких под воздействием фиброгенной пыли, имеет прямое отношение к развитию обструктивных изменений бронхолегочной системы. Пероксид водорода и свободные радикалы кислорода угнетают активность ингибиторов протеаз в результате окислительной модификации их активного центра, в частности, альфа-1-антитрипсина (тип ZZ). Так, активность окислительного ингибитора по отношению к нейтрофильной эластазе снижается почти в 2 тысячи раз [14]. Это приводит к усилению деструкции коллагенового и эластического каркаса легких. Повышенное выделение оксипролина с мочой в период префиброза многократно описано в клинике и эксперименте. Оксипролин обнаруживается не только в моче, но и в бронхоальвеолярных смывах (БАС). И то, и другое служит прямым доказательством усиления процессов деструкции легочной ткани, предшествующей развитию фиброза.

Патофизиологической основой обструктивных изменений дыхательных путей может быть не только бронхоспазм, но и пассивное сужение их просвета вследствие нарушения коллагеново-эластического каркаса легких. При абсолютном или относительном дефиците ингибиторов протеаз тонкие эластические волокна межальвеолярных перегородок разрушаются быстрее, чем их пучки в стенке бронхов. Поэтому изменяется равновесие в эластическом натяжении паренхимы и дыхательных путей, что ведет к сужению последних, наиболее четко выраженному в бронхиолах, не имеющих хрящевого остова (рис. 4). Мышечный тонус бронхов при этом может оставаться практически неизменным и не принимать активного участия в развитии обструктивного синдрома. При спокойном дыхании и, соответственно, небольших объемах вдоха и выдоха сопротивление дыхательных путей может быть нормальным. При нагрузках из-за невозможности заметно увеличить объемы вдоха и выдоха быстро развивается дыхательная недостаточность. Подобные лица, несомненно, нуждаются в целенаправленной лечебной помощи.

Одним из частых проявлений пневмокониоза горнорабочих рудных и угольных шахт является хронический бронхит. Несколько лет назад в нашей лаборатории впервые было установлено угнетение кислород-зависимой бактерицидной системы лейкоцитов у таких больных. Коэффициент активации лейкоцитов крови, представляющий собой отношение максимальной интенсивности ХЛ активированных клеток к уровню их спонтанного свечения, при хроническом "пылевом" бронхите у 90% больных оказался менее 2,5 ($K_{ХЛ} < 2,5$), напротив, при силикозе или антракозе у 80—75% больных соответственно он был более 3,5 ($K_{ХЛ} > 3,5$) [6, 13].

Позднее супрессия свободнорадикального окисления фагоцитирующих лейкоцитов респираторного тракта у больных хроническим бронхитом не пылевой этиологии была показана другими авторами. При этом оказалось, что подавление свободнорадикального окисления лейко-

цитов бронхоальвеолярного смыва тем выраженнее, чем распространеннее атрофические изменения слизистой бронхов [17].

Угнетение свободнорадикального окисления лейкоцитов крови, а также альвеолярных макрофагов и нейтрофилов играет важную роль в развитии необратимой стадии течения хронического бронхита. В легких концентрация аскорбиновой кислоты в 16 раз выше, чем в крови [18]. Она является единственным внеклеточным водорастворимым антиоксидантом нашего организма, защищающим поверхность воздухопроводящих путей от окислительного стресса. При пылевом бронхите роль аскорбиновой кислоты заключается в предохранении легочной ткани от разрушительного влияния АФК, выделяемых гипертрофированными кониофагами, удаляемыми мукоцилиарным эскалатором респираторного тракта. Когда система антиоксидантной защиты (АОЗ) истощается и развиваются атрофические изменения слизистой бронхов, в организме происходит изменение функционального состояния лейкоцитов с целью предотвращения свободнорадикального разрушения легочной паренхимы и формирования шокового легкого в процессе элиминации осевших в органах дыхания пылевых частиц и микробов. Это, однако, ослабляет защиту воздухопроводящих путей от проникновения воздушной инфекции, так как АФК являются основным цитотоксическим и бактерицидным "оружием" клетки. Секретируемые при фагоцитозе лизосомальные гидролазы обладают весьма слабой бактерицидностью и осуществляют в

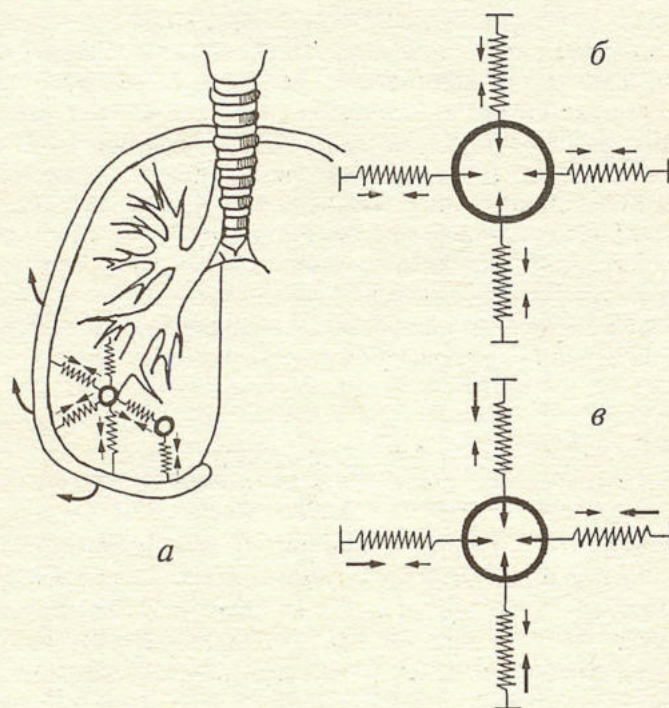


Рис. 4. Возникновение обструкции дыхательных путей при нарушении эластического каркаса легких (по В. Ульмеру).

а — схема эластического натяжения легких, б — просвет бронхиолы в норме, в — сужение просвета бронхиолы вследствие нарушения эластического каркаса легких при пылевой перибронхиальной эмфиземе с обструктивным синдромом.

Современный подход к лечению бронхиальной астмы

Компания Файсонс Фармасьютикалс разработала ряд высокоэффективных и хорошо переносимых препаратов для лечения бронхиальной астмы. Международный Консенсус по бронхиальной астме рекомендует применять Интал™ как препарат первого ряда для лечения астмы у детей, в то время как Тайлед™ является средством первого ряда для лечения бронхиальной астмы легкого и средне-тяжелого течения в юношеском и зрелом возрасте.



улучшение качества жизни

FISON'S
Pharmaceuticals

Для получения дополнительной информации, а также бесплатных учебных пособий для Вашей больницы или поликлиники просим обращаться по адресу:

В России:

Представительство Файсонс Фармасьютикалс
Российская Федерация, 107078 Москва,
Большая Спасская ул. 4, гостиница "Волга",
этаж 12, офикс: 1287
Тел: (095) 2808810 Факс: (095) 2808810

**УЧЕБНЫЕ
ПОСОБИЯ
БЕСПЛАТНО**

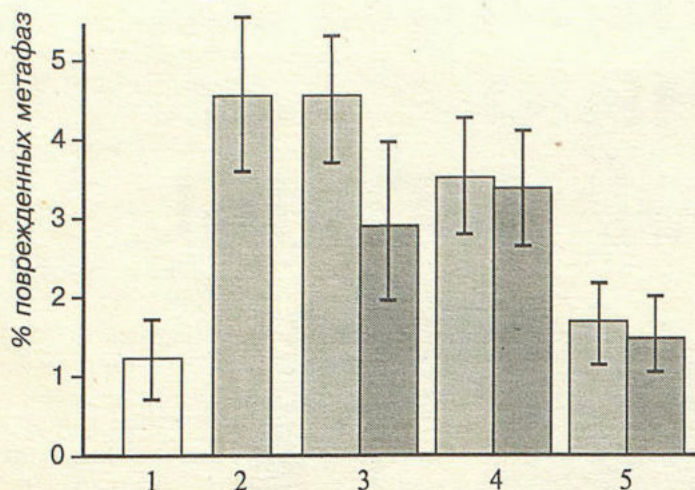


Рис.5. Влияние различных препаратов на уровень хромосомных aberrаций в клетках костного мозга линейных мышей А57В1/6, интактных и запыленных хризотил-асбестом.

1 — интактный контроль, 2 — асбест, 3 — асбест + аскорбат и один аскорбат, 4 — асбест + рутин и один рутин, 5 — асбест + бемитил и один бемитил.

основном деградацию нежизнеспособных объектов. Таким образом, замыкается порочный круг, лежащий в основе развития хронического бронхита: открываются "входные ворота" респираторной инфекции и процесс становится необратимым.

В заключение рассмотрим механизм мутагенного влияния фиброгенной пыли и связь указанных эффектов с АФК. В последнее время по этому поводу получены важные данные. Показано, что частицы хризотил-асбеста, цеолита, кремнезема и ряда других материалов, в частности латекса, индуцируют хромосомные aberrации в культуре цельной крови человека. СОД предупреждает эффект хризотил-асбеста, кварца и латекса, каталаза — цеолитов. Это позволяет заключить, что мутагенный эффект пылевых частиц опосредован через образование АФК. В эксперименте на линейных мышах (А57В1/6) установлено, что внутрибрюшинное введение хризотил-асбеста и цеолитов приводит к зависимому от времени экспозиции увеличению уровня клеток с хромосомными aberrациями в перитонеальном экссудате и клетках мозга мышей. Таким образом, в организме хризотил-асбест и цеолиты оказывают не только местное, но и дистанционное мутагенное воздействие, то есть указанный эффект носит генерализованный характер. По-видимому, мутагенные изменения в организме реализуются через индукцию пылевыми частицами АФК и ПОЛ клеточных мембран, в результате чего образуются и накапливаются эндогенные мутагены — малоновый диальдегид и гидроперекиси липидов. В культуре цельной крови человека препараты, обладающие способностью инaktivировать АФК, отчетливо снижают или полностью устраняют мутагенное действие фиброгенной пыли. Однако возможностью предупреждать мутагенный эффект хризотил-асбеста *in vitro* из всех испытанных нами препаратов обладает только бемитил (рис.5). Это было показано методом учета хромосомных aberrаций в клетках костного мозга линейных мышей

[7,15]. Таким образом, не только по-новому встает вопрос о генерализованном мутагенном, а, значит, и канцерогенном эффекте фиброгенных видов пыли, но и найден препарат, способный предупреждать действие присутствующих корпускулярных загрязнителей на генетические структуры целого организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И. Оксигеназы биологических мембран. — М.: Наука, 1983. — С.55.
2. Бейлина В.Б., Шевелев В.И., Андросов В.В., Вешкина А.И. Роль супрессии фагоцитирующих лейкоцитов респираторного тракта в патогенезе хронического бронхита // Пульмонология. — 1992. — № 1. — С.49—52.
3. Величковский Б.Т., Владимиров Ю.А., Коркина Л.Г., Суслова Т.Б. Физико-химический механизм взаимодействия фагоцитирующих клеток с фиброгенными пылями // Вестн. АМН СССР. — 1982. — № 10. — С.45—51.
4. Величковский Б.Т., Коркина Л.Г., Черемисина З.П., Суслова Т.Б. Механизм иницирования и роль свободных радикалов в цитологическом воздействии фиброгенных пылей на макрофаги // Борьба с силикозом. — М.: Наука, 1986. — Т.12. — С.174—187.
5. Величковский Б.Т., Коркина Л.Г., Суслова Т.Б. и др. Основные молекулярные механизмы цитотоксического действия фиброгенных пылей // Там же. — 1988. — № 1. — С.7—14.
6. Величковский Б.Т., Черемисина З.П., Коркина Л.Г. и др. Хемилюминесцентный анализ функционального состояния фагоцитов крови при силикозе и хроническом пылевом бронхите // Сов. мед. — 1990. — № 4. — С.14—16.
7. Даугель-Дауге Н.О. Исследование мутагенеза, индуцированного минеральными пылями: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1992.
8. Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н. Иммунорегуляторная роль моноцитов в норме и при иммунопатологии. (Итоги науки и техники. Иммунология. Т.27.) — М., 1991.
9. Коркина Л.Г., Ильинская О.П., Величковский Б.Т. Биологическое определение АТФ в перитонеальных макрофагах, фагоцитирующих пылевые частицы // Гиг. труда. — 1983. — № 3. — С.22—26.
10. Кругликов Г.Г., Величковский Б.Т. Структурно-функциональные изменения макрофагов при фагоцитозе частиц каменного угля // Гиг. труда. — 1986. — № 10. — С.720—724.
11. Свободные радикалы в живых системах / Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. (итоги науки и техники. Биофизика Т.29.) — М.: ВИНТИ, 1991.
12. Соодаева С.К., Коркина Л.Г., Величковский Б.Т., Клегерис А.И. Образование активных форм кислорода перитонеальными макрофагами крыс под влиянием цитотоксических пылей // Бюл. exper. биол. — 1991. — № 9. — С.252—254.
13. Черемисова З.П., Суслова Т.Б., Коркина Л.Г. и др. Хемилюминесцентное исследование окислительного метаболизма лейкоцитов крови при пылевых заболеваниях органов дыхания // Гиг. и сан. — 1992. — № 2. — С.25—27.
14. Beatty K., Bieth I., Travis I. // J. Biol. Chem. — 1980. — Vol.259, № 9. — P.3931—3934.
15. Durnev A.D., Daugel-Dauge N.O., Korkina L.G. et al. Distant effects of a clastogenic action of zeolite particles and chrysotile-asbestos fibers // European Environmental Mutagen Society. Annual Meeting, 23-rd: Abstracts. — Barcelona, 1993. — P.247.
16. Gusev V.A., Dandovskaja Ye.V., Votolkina O.Y. Effect of quartz and alumina dust on generation of superoxide radicals and hydrogen peroxide by alveolar macrophages, granulocytes and monocytes // Br. J. Industr. Med. — 1993. — Vol.50. — P.732—735.
17. Korkina L.G., Suslova T.B., Cheremisina L.P., Valichkovski B.T. Catalytic properties of asbestos fibers and their biological activity // Stud. Biophys. — 1988. — Vol.126, № 2. — P.99—104.
18. Levin S.A., Kidd P.M. Antioxidant Adaptation its Role in Free Radical Pathologies. — San Leandro, 1986.
19. Weitzmann S.A., Graceffa P. Asbestos catalyzes hydroxyl and superoxide radical generation from hydrogen peroxide // Arch. Biochem. Biophys. — 1984. — Vol.228. — P.373—376.

РОВАМИЦИН® 3,0 млн МЕ

СПИРАМИЦИН



R 3,0

Устраняет инфекцию дыхательных путей - быстро и полностью

**сильное продолжительное
действие в месте
инфекционного поражения**

**великолепные
клинические результаты**

безопасность пациента



RHÔNE-POULENC RORER

117049, Москва, ул. Покровка, д. 45

Тел: (095) 926-57-03, 926-57-11, 926-57-12, 926-57-13, 926-57-14

СОСТАВ: 1 таблетка содержит 3 млн МЕ спирамицина. **ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА:** РОВАМИЦИН принадлежит к антибиотикам семейства макролидов. К РОВАМИЦИНУ чувствительны следующие микроорганизмы: Streptococcus, Meningococcus, Bordetella pertussis, Corynebacterium diphtheriae, Listeria monocytogenes, Clostridium, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia trachomatis, Legionella pneumophila, Treponema, Leptospira, Campylobacter и Toxoplasma gondii. Умеренно чувствительны: Haemophilus influenzae, Bacteroides fragilis, V. cholerae, Staphylococcus aureus. Устойчивы к РОВАМИЦИНУ Enterobacteriaceae, Pseudomonas. Всасывание препарата происходит быстро (период полувсасывания составляет 20 минут). После приема внутрь 6 млн МЕ препарата пик его концентрации в крови наблюдается через 1,5-3 ч; период полувыведения составляет приблизительно 8 ч. РОВАМИЦИН не проникает в спинномозговую жидкость, однако хорошо диффундирует в слюну и ткани, а также в молоко матери, в связи с чем применение его кормящими женщинами не рекомендуется. Связывание с белками плазмы слабое и не превышает 10%. Препарат метаболизируется в печени и выводится через желчные протоки, кишечник и почки (10-14%). **ПОКАЗАНИЯ:** Применение РОВАМИЦИНА рекомендовано в оториноларингологии, бронхопульмонологии, стоматологии, гинекологии, при кожных и костных заболеваниях и для лечения простатита, а также для лечения токсоплазмоза, в том числе у беременных женщин. РОВАМИЦИН применяется для профилактики менингококкового менингита среди лиц, контактировавших с больным за 10 дней до его госпитализации, для химиопрофилактики острого суставного ревматизма. **ПРОТИВПОКАЗАНИЯ:** Аллергия к спирамицину. **ПОБОЧНЫЕ ЯВЛЕНИЯ:** В отдельных случаях отмечается тошнота, диарея, рвота. В редких случаях возможны кожные аллергические реакции, парестезии конечностей, возникающие в процессе инфузии препарата и самопроизвольно исчезающие, редко - флебиты, в исключительных случаях - средней тяжести, требующие отмены терапии. **ОСОБЫЕ ОТМЕТКИ:** У больных с почечной недостаточностью можно не изменять дозировку, так как препарат практически не выводится через почки. Поскольку РОВАМИЦИН проникает в грудное молоко, необходимо прервать кормление грудью. РОВАМИЦИН можно без опасения применять беременным женщинам. **ПРИМЕНЕНИЕ И ДОЗИРОВКА:** Для взрослых дневная доза РОВАМИЦИНА внутрь составляет 6-9 млн МЕ в день за 2-3 приема. **ФОРМА ВЫПУСКА:** Таблетки 1,5 млн МЕ по 16 шт. в упаковке; таблетки 3 млн МЕ по 10 шт. в упаковке; флаконы с лиофилизированным порошком 1,5 млн МЕ для внутривенного введения.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.248-092:616-008.939.15

С.Болевич, И.Г.Даниляк, А.Х.Коган, А.А.Стремоухов, Са.Болевич

РОЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Кафедра внутренних болезней № 2 1-го лечебного факультета и кафедра патофизиологии ММА
им. И.М.Сеченова

THE ROLE OF FREE RADICAL PROCESSES IN BRONCHIAL ASTHMA PATHOGENESIS

S.Bolevich, I.G.Daniliack, A.H.Kogan, A.A.Stremoukhov, Sa.Bolevich

Summary

46 patients with bronchial asthma (BA) were examined to evaluate the features of the bronchial asthma pathogenesis free radical component including the increased generation of reactive oxygen species by leukocytes (GROSL) on the background of inhibiting influence of trombocytes, CO₂ and histamine. GROSL was tested by the luminol dependent chemiluminescent method. It was found that the ketotifen block in mast cells induced the increase of GROSL on the background of the inhibiting influence decrease of trombocytes, CO₂, and histamine in 42% of patients with allergic BA. The analogic results were obtained in patients with nonallergic BA. Thus, the obtained data testify about the essential role of free radical processes in pathogenesis of both allergic and nonallergic BA. Apparently, the free radical component may be the basis of the BA development in some patients.

Резюме

Для выяснения особенностей свободнорадикального компонента патогенеза бронхиальной астмы (БА), включающего увеличение генерации активных форм кислорода лейкоцитами (ГАФКЛ) на фоне снижения ингибирующего влияния тромбоцитов, СО₂ и гистамина на ГАФКЛ, было обследовано 46 больных БА. ГАФКЛ тестировалась лиминолзависимым хемилюминесцентным методом. Выявлено, что у 42% больных аллергической БА блокирование тучных клеток кетотифеном вызывало увеличение ГАФКЛ на фоне снижения ингибирующего влияния тромбоцитов, СО₂ и гистамина на ГАФКЛ. Аналогичные результаты были получены у больных неаллергической БА. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о существенном месте свободнорадикальных процессов в патогенезе как аллергической, так и неаллергической БА. По-видимому, у некоторых больных свободнорадикальный компонент может быть основным в развитии БА.

Бронхиальная астма (БА) — хроническое воспаление воздухоносных путей [9], которое вызывается комплексом взаимодействий между нейтрофилами, эозинофилами, моноцитами, альвеолярными макрофагами, тучными клетками, тромбоцитами и освобождаемыми ими медиаторами. Среди последних важную роль играют активные формы кислорода (АФК), генерируемые фагоцитами [18]. Выявлено усиление генерации АФК лейкоцитами (ГАФКЛ) в фазе обострения БА и ее связь с тяжестью БА [1—4,16,17]. Обнаружено снижение присущего здоровым ингибирующего влияния тромбоцитов, СО₂ и гистамина на ГАФКЛ [1,5,6,10,14], что вызывает увеличение АФК, приводящее к выбросу гистамина тучными клетками [15], образованию лейкотриенов, а

также потенцированию и пролонгированию приступа удушья [18].

В связи с этим нами была принята рабочая гипотеза о возможном существовании свободнорадикального компонента патогенеза как аллергической, так и неаллергической БА, включающего увеличение ГАФКЛ на фоне снижения ингибирующего влияния тромбоцитов, СО₂ и гистамина на ГАФКЛ.

Целью настоящего исследования было выявление особенностей свободнорадикальных процессов у больных БА и определение их участия в патогенезе этого заболевания.

Было обследовано 46 больных БА (31 женщина и 15 мужчин) в возрасте 18—57 лет. Диагноз ставился

на основании общепринятых критериев [11,12] в результате общеклинического, лабораторного, инструментального и аллергологического исследований. По содержанию IgE в сыворотке все больные были разделены на две группы: с повышенным IgE — 37 больных (у всех диагностирована atopическая БА) и с нормальным IgE — 9 больных (у 5 была аспириновая, у 2 atopическая инфекционно-зависимая, у 1 профессиональная и у 1 БА, вызванная холодом). В соответствии с Международным Консенсусом по проблемам диагностики и лечения астмы [9] у всех пациентов отмечена средняя тяжесть БА на момент исследования. Больные получали бронхорасширяющую терапию. Кроме того, 5 больных получали интал, 7 — ингаляционно глюкокортикоиды, 26 — кетотифен. Пятерым больным на 15—20-й день лечения кетотифеном дополнительно назначался аевит. Контрольную группу составили 20 здоровых доноров.

Лейкоциты выделяли из венозной крови по уже известной методике [7,8] и взвешивали их в забуференном изотоническом растворе хлорида натрия, состоящем из изотонического раствора хлорида натрия и фосфатно-щелочного буферного раствора (7,5 мл + 2,5 мл, pH=7,35) в конечной концентрации 2500 клеток в 1 мкл. ГАФКЛ определяли методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ) [7,8] на хемилюминометре ЛКБ, "Валлак" (Швеция) при 36,9°C. Рассчитывали показатель интенсивности ХЛ лейкоцитов (базальный — ПИХЛб и стимулированный опсонизированным зимозаном — ПИХЛс), как уже описано [7,8]. Влияние тромбоцитов на ГАФКЛ исследовали по уже известной методике [2]. Рассчитывали коэффициент ингибирующего влияния (КИВ) тромбоцитов на ГАФКЛ по формуле:

$$\text{КИВ тромбоцитов на ГАФКЛ} = \frac{\text{дельта ПИХЛ под влиянием ПБТ}}{\text{дельта ПИХЛ под влиянием ПОТ}}$$

где ПБТ — плазма бедная тромбоцитами, ПОТ — плазма обогащенная тромбоцитами.

Определяли влияние гистамина на ГАФКЛ по уже описанной методике [10]. Рассчитывали КИВ гистамина в концентрации 10^{-5} М на ГАФКЛ по формуле:

$$\text{КИВ гистамина на ГАФКЛ} = \frac{\text{ПИХЛ до воздействия гистамина}}{\text{ПИХЛ после воздействия гистамина}}$$

Влияние CO₂ на ГАФКЛ исследовали по методике, описанной А.Х.Коганом. 0,2 мл полученной взвеси лейкоцитов концентрацией 2500 клеток в 1 мкл помещали в минибарокамеру, находившуюся в термостате с температурой 36,9°C. Из минибарокамеры под контролем манометра откачивали воздух на 67,5 мм рт. ст. (т.е. до 692,5 мм рт. ст.) и вводили CO₂ (+37,5 мм рт. ст.), повышая общее давление до 730 мм рт. ст. При этом в минибарокамере оставляли разрежение 30 мм рт. ст., необходимое для обеспечения ее герметичности. Таким образом, в минибарокамере создавалась газовая смесь: воздух Р=692,5 мм рт. ст. (94,9%) + CO₂ Р=37,5 мм рт. ст. (5,1%). Учитывая, что проведенные специальные исследования показали, что pH забуференного изотонического раствора хлорида натрия под влиянием 5,1% CO₂ снижается с 7,35 до 7,32, то для контроля лейкоциты взвешивали в забуференном изотоническом растворе хлорида натрия с pH=7,32, помещали их в минибарокамеру и точно так же, как в опыте под контролем манометра, на такие же величины Р откачивали воздух, однако вместо CO₂ опять вводили воздух на величину равную РCO₂ в опыте (37,5 мм рт. ст.). Опытные и контрольные пробы инкубировали 20 минут, после чего их извлекали и определяли ПИХЛб и ПИХЛс (см. выше). Об интенсивности влияния CO₂ на ГАФКЛ судили по КИВ CO₂ на ГАФКЛ, рассчитанного по формуле:

$$\text{КИВ CO}_2 \text{ на ГАФКЛ} = \frac{\text{ПИХЛ до воздействия CO}_2 \text{ (pH=7,32)}}{\text{ПИХЛ после воздействия CO}_2 \text{ (pH=7,32+5,1\% CO}_2 \text{)}}$$

Таблица 1

Динамика хемилюминесцентных показателей ГАФКЛ (ПИХЛб и ПИХЛс), КИВ тромбоцитов на ГАФКЛ, КИВ CO₂ на ГАФКЛ и КИВ гистамина на ГАФКЛ до и после блокирования тучных клеток кетотифеном у больных бронхиальной астмой

Исследуемые группы	n	ПИХЛб, мВ/сек·10 ⁶ лейкоцитов	ПИХЛс, мВ/сек·10 ⁶ лейкоцитов	КИВ на ГАФКЛ				
				тромбоцитов	CO ₂		гистамина	
					по ПИХЛб	по ПИХЛс	по ПИХЛб	по ПИХЛс
Доноры	20	285,5±44,2	433,9±64,1	1,70±0,18	5,85±0,40	4,66±0,36	2,00±0,40	1,26±0,07
1-я группа	15	591,7±87,3*	859,4±161,6*	1,23±0,12*	4,73±0,30*	4,54±0,28	1,04±0,24*	0,97±0,04*
		545,4±66,2*	598,7±97,4*	1,61±0,15**	5,73±0,41**	4,84±0,31	1,49±0,60	1,03±0,05*
2-я группа	11	667,5±69,9*	2026,5±204,8***	0,86±0,15***	3,64±0,24***	3,43±0,30***	0,84±0,05*	1,02±0,06*
		2219,3±69,8***	4572,0±390,7***	0,75±0,15***	3,03±0,18***	2,58±0,22***	0,78±0,12***	0,88±0,07***

Примечание. В числителе — показатели до лечения, в знаменателе — показатели после лечения.

* — p<0,05 по сравнению с донорами; ** — p<0,05 между показателями до и после лечения; *** — p<0,05 между соответствующими показателями 1-й и 2-й групп больных.

РАЗРАБОТКА И КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФЛЮТИКАЗОНА ПРОПИОНАТА

Классификация ринита

Выделяют три основных вида ринита: аллергический, инфекционный и третий малоизученный и аморфный тип. Острый инфекционный ринит обычно имеет вирусное происхождение и проходит самостоятельно. Однако он может осложниться вторичной бактериальной инфекцией, которая иногда приводит к тяжелому острому синуситу. Ринит третьего типа называют "вазомоторным"; механизмы его развития до конца не изучены. Причиной вазомоторного ринита часто являются различные факторы, в том числе пищевые, гормональные, эмоциональные, факторы окружающей среды. Выделить какой-либо один этиологический фактор часто невозможно.

Изучение и разработка Фликсоназе

В изучении химии стероидов можно выделить четыре четко очерченных этапа, длительность каждого из них составляла около 10 лет.

В 50-х годах были произведены различные изменения молекулы кортизона, что привело к снижению или полной утрате его минералокортикоидной активности и усилению противовоспалительных и глюкокортикоидных свойств. Одним из результатов подобных изменений стало создание дексаметазона, который в 25 раз сильнее кортизола, но при системном применении дает нежелательные побочные эффекты.

Следующим крупным шагом вперед было увеличение растворимости стероидов в жирах, что позволило использовать препараты этой группы местно для лечения заболеваний кожи и устранить нежелательные побочные эффекты. Первым препаратом для местного применения стал фторцинолона ацетонид (синтезирован в 1959 году), позднее был разработан бетаметазона валерат (в 1964 году). Частью той же программы было осуществление синтеза беклометазона дипропионата в том же году и позднее клобетазола пропионата, который является наиболее мощным стероидом для местного применения, который используется в дерматологии. Основой всех перечисленных выше препаратов является Pregnановое ядро, как у кортизола. Позднее было установлено, что местное применение таких препаратов другими путями (например, ингаляционно) позволяет добиться желательных терапевтических эффектов и снизить частоту побочных реакций, наблюдающихся при системном введении стероидов. Улучшение переносимости стало результатом уменьшения требуемой дозы при прямом попадании препарата к месту действия и биотрансформации некоторых стероидов в печени со снижением их системной биодоступности. Беклометазона дипропионат для ингаляций появился на рынке в 1971 году, будезонид — в 1981 году. Позднее внимание исследователей было сосредоточено на создании стероида с идеальными свойствами, который можно было вводить через легкие, носовую полость или кожу.

Важным условием является этерификация. Она повышает растворимость в жирах и, следовательно, всасывание стероидов, предназначенных для местного применения; способствует биотрансформации в печени пролонгированной части дозы интраназальных и ингаляционных стероидов. Важное значение имеет также высокая местная активность, в то время как биодоступность при приеме внутрь в идеале должна быть равной нулю. И наконец, еще одним требованием является полная неактивность образующихся метаболитов.

Поиски подобной молекулы начались в 70-х годах. Основное внимание было уделено андростановому, а не Pregnановому ядру, так как предполагалось, что деэтерификация подобного вещества приведет к исчезновению глюкокортикоидной активности. В первых исследованиях изучалось вазоконстрикторное действие 17-бета-карбокисильных производных, а после дальнейших превращений был получен флютиказон пропионат. Было обнаружено, что по сосудосуживающей активности он в 9,5 раза превосходит фторцинолона ацетонид и в 2 раза — беклометазона дипропионат. Для дальнейших исследований был выбран именно флютиказон пропионат, а не другие вещества с более высокой вазоконстрикторной активностью, так как он оказывал наименее выраженное системное действие, но обладал высокой местной активностью. Было также показано, что он имеет хорошие противовоспалительные свойства и при местном применении минимально подавляет уровни кортизола в плазме. Это было главной причиной выбора препарата для наружного применения.

В исследованиях на животных было установлено, что при подкожном введении флютиказона пропионата не уступает по активности бетаметазону, но оказывает очень слабое действие при приеме внутрь, что указывало на низкую биодоступность препарата.

Исследования у человека подтвердили результаты экспериментов на животных. Системная биодоступность флютиказона пропионата при приеме внутрь 5–40 мг препарата составила около 1%. При интраназальном применении флютиказона пропионата едва определялся в плазме.

Клинический опыт применения Фликсоназе

Клинические исследования показали, что флютиказон пропионат при интраназальном применении в дозе 200 мкг один раз в день является эффективным и безопасным средством лечения круглогодичного ринита. По

сравнению с антигистаминными средствами флютиказон пропионат оказывал более выраженное действие на все симптомы аллергического ринита, включая заложенность носа.

Эффективность водного назального спрея флютиказона пропионата в лечении сезонного аллергического ринита была показана в крупном двойном слепом многоцентровом исследовании в США. Это исследование также продемонстрировало, что флютиказон, который вводили один или два раза в день, превосходил беклометазон с введением два раза в день по влиянию на заложенность носа и ринорею и скорости достижения эффекта.

В многоцентровом двойном слепом исследовании, проведенном в США у 466 больных, водный назальный спрей флютиказона пропионата, который применяли один раз в день утром, оказался эффективным и безопасным средством лечения круглогодичного аллергического ринита, не уступавшим по эффективности бетаметазона дипропионату, который назначали два раза в день.

Результаты многоцентрового исследования, проведенного во Франции, продемонстрировали значительное более выраженное снижение общего индекса клинической симптоматики у больных, получавших флютиказон пропионат в виде водного спрея по 200 мкг два раза в день, чем у больных, которым проводилась терапия антигистаминным препаратом цетризином по 10 мг один раз в день. Два других сравнительных исследования интраназального водного спрея флютиказона пропионата (200 мкг один раз в день) и лоратадина (один раз в день) показали более выраженное влияние флютиказона пропионата на симптомы со стороны носа. В обоих исследованиях действие антигистаминных средств и флютиказона пропионата, который вводили интраназально, начиналось одинаково быстро уже в второй день лечения.

Переносимость антигистаминных препаратов и интраназальных стероидов хорошая. По возможности монотерапию следует проводить интраназальными стероидами, так как они оказывают более выраженное влияние на все симптомы ринита, включая заложенность носа, чем антигистаминные средства.

Эффективность интраназального флютиказона пропионата, интраназального беклометазона дипропионата и плацебо была сопоставлена в ряде двойных слепых плацебоконтролируемых исследований, которые проводились у больных круглогодичным ринитом (как взрослых, так и более молодых пациентов). Исследования показали, что флютиказон пропионат (один раз в день) является эффективным и безопасным средством лечения детей и взрослых, страдающих хроническим круглогодичным ринитом. Однократная схема применения препарата более удобна, чем двукратная схема, что может способствовать повышению приверженности больных к лечению и его эффективности.

В Европе и США были проведены три исследования у 642 детей с аллергическим ринитом с целью оценки эффективности интраназального флютиказона пропионата.

В этих исследованиях у больных, получавших флютиказон пропионат в дозе 100 или 200 мкг один раз в день, наблюдалось значительно более выраженное улучшение индексов назальных и всех других симптомов по сравнению с таковыми у больных, получавших плацебо. Характер побочных эффектов был одинаковым у больных трех групп сравнения; побочные реакции в целом были легкими и связанными с ринитом. Доктор Boner прокомментировал полученные результаты следующим образом: "Это исследование четко продемонстрировало хорошую переносимость, безопасность и эффективность интраназального флютиказона пропионата в симптоматическом лечении сезонного аллергического ринита у детей".

Ранние симптомы аллергического ринита являются следствием дегрануляции тучных клеток, индуцированной аллергеном, и местного высвобождения воспалительных медиаторов. Аллергический ринит характеризуется эозинофильной инфильтрацией и увеличением числа тучных клеток, которые повышают восприимчивость слизистой оболочки к последующему воздействию аллергена.

Флютиказон пропионат, как и другие интраназальные кортикостероиды, ингибирует ранние и поздние реакции на провокацию аллергеном. В недавнем исследовании доктор Durham показал, что предварительное введение водного назального спрея флютиказона пропионата в дозе 200 мкг/сут примерно на 50% снижало выраженность ранних реакций и практически полностью подавляло поздние симптомы ринита, возникавшие после воздействия аллергена.

Таким образом, флютиказон пропионат — это новый стероид, в основе которого лежат изменения андростанового, а не Pregnанового стероидного ядра. По сосудосуживающей активности он по крайней мере в два раза превосходит беклометазон дипропионат и будезонид, что позволяет предположить и соответствующие различия выраженности основного действия. Препарат биотрансформируется с образованием неактивных метаболитов и практически не обладает биодоступностью при приеме внутрь. После интраназального применения в плазме почти не определяется. При интраназальном введении флютиказона пропионата в дозах, которые в 10 раз превышали рекомендуемые для терапевтического применения, какие-либо системные эффекты не наблюдались.



Фликсоназе

водный назальный спрей

Форма выпуска

Водная суспензия микронизированного флутиказона пропионата для топического применения на слизистую оболочку носа путем распыления. Каждые 100 мг спрея, выделяемых назальным адаптером, содержат 50 микрограммов флутиказона пропионата.

Показания к применению

Предназначен для профилактики и лечения сезонных аллергических ринитов, сенной лихорадки. Оказывает противовоспалительное действие, но не обнаруживает системных действий при введении интраназально.

Дозировка и введение

Назначается для интраназального применения. Взрослым и детям старше 12 лет: по 2 дозы в день в каждую половину носа, предпочтительно по утрам. В некоторых случаях, если это необходимо, допустимо 2 дозы 2 раза в день. Максимальная суточная доза не должна превышать 4 дозы в каждую половину носа. У пожилых лиц допустима нормальная взрослая доза. Детям до 12 лет: нет достаточных данных для рекомендации употребления спрея. Однако маловероятно, что коэффициент риска и эффективности у детей сильно превышает таковой у взрослых. Для достижения наибольшей терапевтической эффективности очень важно регулярное употребление препарата. Отсутствие немедленного эффекта объясняет, что максимальное облегчение наблюдается только на 3-4-й день лечения.

Противопоказания

Гиперчувствительность к каким-либо из компонентов препарата является противопоказанием к применению. При беременности возможен небольшой риск аномалий развития плода, аналогичных наблюдаемым у животных (волчья пасть, замедленное внутриутробное развитие). При назначении матерям, кормящим грудью, требуется взвесить терапевтические преимущества и возможные последствия для матери и ребенка. Инфекции носовых ходов и придаточных пазух носа не являются специфическим противопоказанием к применению препарата. Следует помнить, что в случае нерегулярного использования полная эффективность от приема препарата не будет достигнута. Следует проявлять осторожность при переводе больных со стероидов общего действия на препарат флутиказона пропионат, если есть основание полагать, что у них нарушена функция надпочечников. Несмотря на то, что препарат достаточно эффективен при обострении сезонной аллергии, может потребоваться дополнительная терапия, в особенности при поражении глаз. Сообщалось о чрезвычайно редких случаях перфорации носовой перегородки после использования интраназальных стероидных препаратов, в особенности у пациентов, имеющих в анамнезе хирургические операции в полости носа.

Побочные эффекты

Сведений о серьезных побочных эффектах нет. Сухость и раздражение носоглотки, неприятный привкус и запах отмечались крайне редко.

Передозировка

Данных об острой и хронической передозировке при использовании интраназального спрея получено не было. Однако при комбинированном использовании вместе с ингаляционными или системными стероидами следует помнить, что длительно применяемые высокие дозы кортикостероидов могут подавлять гипоталамо-гипофизарно-адреналовую активность.

Фармацевтические предосторожности

Хорошо встряхнуть перед использованием. Хранить при температуре не ниже 30°C.

Фликсоназе - торговая марка.

Glaxo Export Ltd

Представительство в Москве:

Россия, 109017, Москва, Кадашевская наб., 6/1, подъезд 5, этаж 6. Тел.: (095) 230-23-14, 238-85-97. Факс: (095) 238-39-35.

Представительство в Санкт-Петербурге:

Россия, 199053, Санкт-Петербург, Большой проспект В.О., 9/6. Тел./факс: (812) 119-62-73.

Для того, чтобы определить особенности свободно-радикальных процессов у больных аллергической БА, блокировали тучные клетки кетотифеном. Известно, что кетотифен обладает антианафилактической активностью, связанной со способностью тормозить высвобождение биологически активных веществ, в том числе и хемотаксического фактора [11], способного вызвать возбуждение лейкоцитов и, соответственно, увеличение генерации ими АФК.

Динамика ХЛ показателей ГАФКЛ и КИВ тромбоцитов, CO_2 и гистамина на ГАФКЛ до и после блокирования тучных клеток кетотифеном у больных БА представлена в табл.1. До начала лечения у всех больных БА независимо от последующей эффективности кетотифена по сравнению со здоровыми донорами отмечено увеличение ХЛ показателей ГАФКЛ (ПИХЛ6 и ПИХЛс) и снижение ингибирующего влияния тромбоцитов, CO_2 и гистамина на ГАФКЛ. Это подтверждает патогенетическую роль свободнорадикальных кислородных процессов в развитии БА и включение в ее патогенез тромбоцитов, CO_2 и гистамина через снижение их свободнорадикально-ингибирующего влияния [14]. Однако после распределения больных БА в зависимости от терапевтической эффективности кетотифена на 1-ю группу (с высокой эффективностью) и 2-ю группу (с низкой эффективностью) оказалось, что у больных 2-й группы до начала лечения показатели ПИХЛ6 и ПИХЛс были более высокие по сравнению с больными 1-й группы (соответственно в 1,13 и 2,36 раза; $p > 0,05$ и $p < 0,001$). Одновременно у этих же больных по сравнению с больными 1-й группы был снижен КИВ тромбоцитов на ГАФКЛ (в 1,43 раза; $p < 0,05$), КИВ CO_2 на ГАФКЛ (ПИХЛ6 в 1,30 раза; $p < 0,05$; ПИХЛс в 1,32 раза, $p < 0,05$) и КИВ гистамина на ГАФКЛ (ПИХЛ6 в 1,24 раза, $p > 0,05$). Таким образом, у больных 2-й группы выявлено более выраженное увеличение свободнорадикальных кислородных процессов на фоне большего снижения свободнорадикально-ингибирующего влияния тромбоцитов, CO_2 и гистамина. В процессе лечения кетотифеном у больных 1-й и 2-й групп происходили разнонаправленные изменения ГАФКЛ и факторов, влияющих на нее. У больных 1-й группы снижались как ПИХЛ6 (в 1,09 раза, $p > 0,05$), так и ПИХЛс (в 1,44 раза, $p > 0,05$) и увеличивался КИВ тромбоцитов на ГАФКЛ (в 1,31 раза, $p < 0,05$), КИВ CO_2 на ГАФКЛ (ПИХЛ6 в 1,21 раза, $p < 0,05$; ПИХЛс в 1,07 раза, $p > 0,05$), КИВ гистамина на ГАФКЛ (ПИХЛ6 в 1,43 раза, $p < 0,05$; ПИХЛс в 1,06 раза, $p > 0,05$). Таким образом, у больных 1-й группы кетотифен вызывал снижение обоих ХЛ-показателей ГАФКЛ и увеличение ингибирующего влияния тромбоцитов, CO_2 и гистамина на ГАФКЛ, приближающегося к норме, однако не достигающего ее. У больных 2-й группы в отличие от больных 1-й группы после лечения кетотифеном по сравнению с периодом до лечения увеличивались как ПИХЛ6 (в 3,33 раза, $p < 0,001$), так и ПИХЛс (в 2,26 раза, $p < 0,001$) и в несколько меньшей степени снижались КИВ тромбоцитов на ГАФКЛ (в 1,15 раза, $p > 0,05$), КИВ CO_2 на ГАФКЛ (ПИХЛ6 в 1,20 раза, $p < 0,05$; ПИХЛс в 1,34 раза, $p < 0,05$) и КИВ

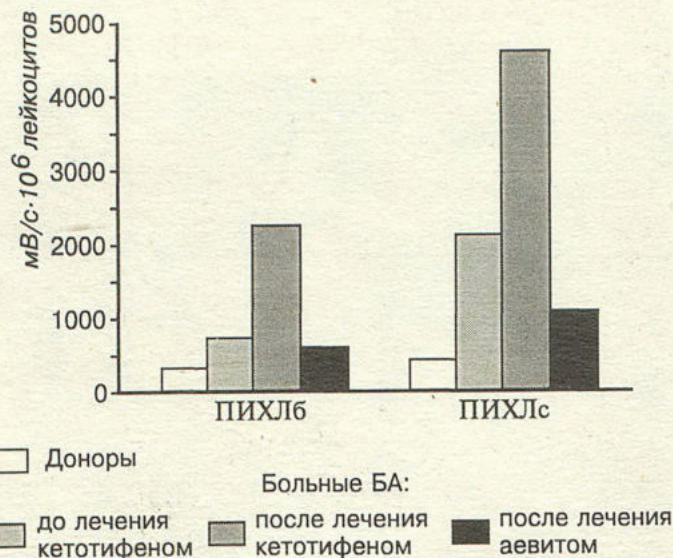


Рис. Влияние аевита на хемилюминесцентные показатели генерации активных форм кислорода лейкоцитами у больных бронхиальной астмой с низкой эффективностью кетотифена.

гистамина на ГАФКЛ (ПИХЛ6 в 1,08 раза, $p > 0,05$; ПИХЛс в 1,16 раза, $p > 0,05$). Таким образом, у больных с низкой терапевтической эффективностью кетотифена после лечения происходило дальнейшее увеличение обоих ХЛ-показателей ГАФКЛ и снижение ингибирующего влияния тромбоцитов, CO_2 и гистамина на ГАФКЛ. В конце лечения у больных 2-й группы по сравнению с больными 1-й группы ПИХЛ6 был увеличен в 4,07 раза ($p < 0,001$), ПИХЛс — в 7,64 раза ($p < 0,001$), КИВ тромбоцитов на ГАФКЛ меньший в 2,15 раза ($p < 0,001$), КИВ CO_2 на ГАФКЛ по ПИХЛ6 — в 1,89 раза ($p < 0,001$), по ПИХЛс — в 1,88 раза ($p < 0,001$), КИВ гистамина на ГАФКЛ по ПИХЛ6 — в 1,91 раза ($p < 0,05$), по ПИХЛс — в 1,17 раза ($p > 0,05$). Пяти больным 2-й группы дополнительно был назначен аевит, после лечения которым по сравнению с периодом после лечения кетотифеном улучшилась клиническая картина и снизились оба ХЛ-показателя ГАФКЛ: ПИХЛ6 — до $505,5 \pm 33,5$ мВ/сек·10⁶ лейкоцитов (в 4,39 раза, $p < 0,001$), ПИХЛс — до $1144,0 \pm 131,2$ мВ/сек·10⁶ лейкоцитов (в 4,00 раза, $p < 0,001$). Таким образом, у больных БА, у которых на фоне лечения кетотифеном увеличивались свободнорадикальные кислородные процессы, антиоксидант (аевит) вызывал их снижение (рисунок).

Для того чтобы выявить аналогичную группу среди больных неаллергической БА нами проведено сравнительное исследование ХЛ-показателей ГАФКЛ у двух групп больных с нормальным IgE (табл.2): 1-я группа с нормальным ингибирующим влиянием тромбоцитов, CO_2 и гистамина на ГАФКЛ и 2-я группа со сниженным ингибирующим влиянием тромбоцитов, CO_2 и гистамина на ГАФКЛ. Для сравнения аналогичное исследование было проведено и у больных с повышенным IgE. Выявлено, что у больных с нормальным IgE и сниженным ингибирующим влиянием тромбоцитов, CO_2 и гистамина на ГАФКЛ по сравнению с аналогичным больным с нормальным ингибирующим

Таблица 2

Хемилюминесцентные показатели ГАФКЛ (ПИХЛ6 и ПИХЛс) у больных бронхиальной астмой с нормальным и повышенным уровнем IgE в сыворотке

Исследуемые группы	n	ПИХЛ6, мВ/сек·10 ⁶ лейкоцитов	ПИХЛс, мВ/сек·10 ⁶ лейкоцитов
Доноры	20	285,5±44,2	433,9±64,1
Больные БА			
с повышенным IgE	11	836,7±155,5* 1863,7±187,3***	1177,8±130,2* 3030,7±350,2***
с нормальным IgE	9	516,7±55,3**** 2495,0±233,8****	615,3±57,4**** 2830,0±254,7****

Примечания. В числителе — показатели больных с нормальным КИВ на ГАФКЛ тромбоцитов, СО₂ и гистамина; в знаменателе — показатели больных со сниженным КИВ на ГАФКЛ тромбоцитов, СО₂ и гистамина.

* — $p < 0,05$ по сравнению с донорами; ** — $p < 0,05$ между показателями в числителе и знаменателе; *** — $p < 0,05$ между соответствующими показателями исследуемых групп БА.

влиянием тромбоцитов, СО₂ и гистамина на ГАФКЛ оба ХЛ-показателя ГАФКЛ были значительно больше (ПИХЛ6 в 4,83 раза, $p < 0,001$; ПИХЛс в 4,60 раза, $p < 0,001$). Аналогичная группа была выявлена и среди больных БА с повышенным IgE, у которых снижение ингибирующего влияния тромбоцитов, СО₂ и гистамина на ГАФКЛ сопровождалось увеличением ПИХЛ6 (в 2,23 раза, $p < 0,001$) и ПИХЛс (в 2,57 раза, $p < 0,001$).

Таким образом, у большинства больных аллергической БА кетотифен, наряду с клиническим эффектом, снижал свободнорадикальные кислородные процессы, что согласуется с литературными данными [13]. Одна-

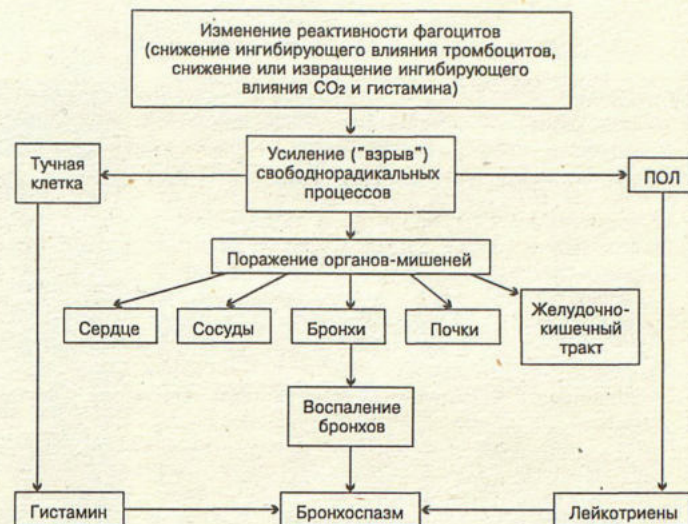


Схема 2. Патогенез неаллергической бронхиальной астмы.

ко у определенной группы больных на фоне лечения кетотифеном происходило усиление ГАФКЛ. У этих больных, несмотря на блокирование тучных клеток кетотифеном, не купировалось воспаление и не исчезали приступы удушья, что, вероятно, связано с АФК, уровень которых повышался вследствие изменения реактивности фагоцитов и снижения ингибирующего влияния тромбоцитов, СО₂ и гистамина на ГАФКЛ (схема 1). В пользу такого допущения свидетельствует снижение свободнорадикальных кислородных процессов под влиянием включения в терапию этим больным аевита.

Аналогичные результаты были получены и у больных неаллергической БА, у которых, по-видимому (схема 2), происходит первичное изменение реактивности фагоцитов (снижение ингибирующего влияния тромбоцитов, СО₂ и гистамина), что вызывает усиление ('взрыв') свободнорадикальных процессов. АФК, повреждая орган-мишень, вызывают воспаление в бронхах и приступы удушья. Кроме того, увеличение АФК приводит к выбросу тучными клетками гистамина, а через усиление перекисного окисления липидов — к повышенному образованию лейкотриенов.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о существенном месте свободнорадикальных процессов в патогенезе как аллергической, так и неаллергической БА. По-видимому, у некоторых больных свободнорадикальный компонент может быть основным в развитии БА. В связи с этим следует отметить возможность существования свободнорадикального клинко-патогенетического варианта БА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болевич С. Свободнорадикальные кислородные и липидные процессы и возможность их коррекции у больных бронхиальной астмой: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1991.
2. Болевич С. Свободнорадикальные кислородные и липидные процессы и возможность их коррекции у больных бронхиальной астмой // Свободнорадикальные процессы и перекисное окисление липидов при заболеваниях внутренних органов. — М., 1993. — С.62—66.

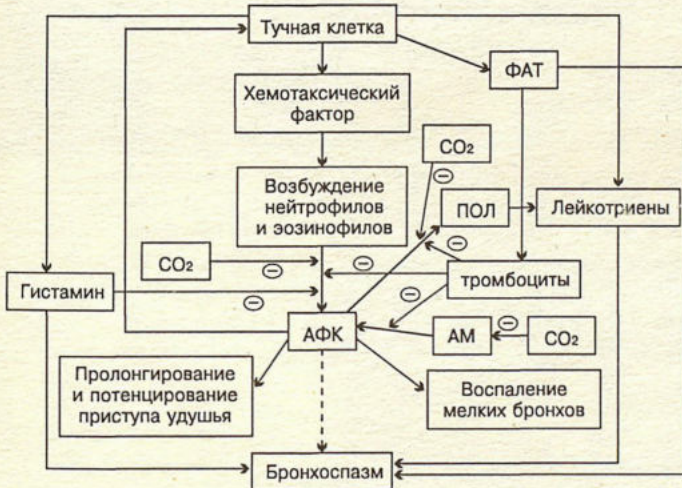


Схема 1. Включение свободнорадикальных процессов и факторов, влияющих на них, в патогенез аллергической бронхиальной астмы.

3. Даниляк И.Г., Коган А.Х., Болевич С. Генерация активных форм кислорода лейкоцитами у больных бронхиальной астмой // Пульмонология.— 1991.— № 1.— С.39—42.
4. Даниляк И.Г., Коган А.Х., Болевич С. Генерация активных форм кислорода лейкоцитами крови, перекисное окисление липидов и антиперекисная защита у больных бронхиальной астмой // Тер. арх.— 1992.— № 3.— С.54—57.
5. Даниляк И.Г., Коган А.Х., Болевич С. Влияние повышенной концентрации CO₂ in vitro и гиперкапнии на генерацию активных форм кислорода лейкоцитами крови у больных бронхиальной астмой // Национальный конгресс по болезням органов дыхания, 4-й: Сборник резюме.— М., 1994.— № 35.
6. Даниляк И.Г., Коган А.Х., Болевич С. О влиянии тромбоцитов на генерацию активных форм кислорода лейкоцитами крови у больных бронхиальной астмой // Свободнорадикальные процессы и перекисное окисление липидов при заболеваниях внутренних органов.— М., 1993.— С.67—71.
7. Коган А.Х., Лосев Н.И., Цыпин А.Б. и др. Генерация активных микробицидных форм кислорода лейкоцитами через сосудистое русло легких // Бюл. exper. биол.— 1989.— № 6.— С.688—690.
8. Коган А.Х., Цыпин А.Б., Мануйлов Б.М. О роли легких в регуляции генерации активных форм кислорода лейкоцитами в норме и патологии // Пат. физиол.— 1991.— № 1.— С.46—50.
9. Международный консенсус по проблемам диагностики и лечения астмы: Резюме докладов.— СПб., 1992.
10. Стремоухов А.А. Хемилюминесцентное исследование особенностей гистаминреактограммы лейкоцитов при бронхиальной астме в зависимости от тяжести обострения // Свободно-радикальные процессы и перекисное окисление липидов при заболеваниях внутренних органов.— М., 1993.— С.72—77.
11. Федосеев Г.Б., Хлопотова Г.П. Бронхиальная астма.— Л., 1988.
12. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма.— М., 1985.
13. Godard P., Damon M., Cluzel M. et al. Oxygen free radicals and bronchial asthma // Allerg. Immunol.— 1987.— Vol.19, № 8.— Suppl.— P.15—18.
14. Kogan A. Kh., Bolevich S., Daniliak I.G. et al. The chemiluminescence examination of free radical component of brochial asthma // Clinical Chemiluminescence: Abstract book.— Berlin, 1994.— P.P—019.
15. Mannaioni P.F., Palmerani B., Pistolly A. et al. Histamine release by platelet aggregation // Agents and Actions.— 1990.— Vol.30.— P.44—48.
16. Meltzer S., Goldberg B., Lad P. et al. Superoxide generation and its modulation by adenosine in the neutrophils of subjects with asthma // J. Allergy.— 1989.— Vol.83.— P.960—966.
17. Sustiel A.M., Joseph B., Rocklin R.E. et al. Asthmatic patients have neutrophils that exhibit diminished responsiveness to the adenosine // Am. Rev. Respir. Dis.— 1989.— Vol.140.— P.1556—1561.
18. Wasserman S.I. The lung mast cell: its physiology and potential relevance to defense of the lung // Environ. Hlth Persp.— 1980.— Vol.35.— P.153—164.

Поступила 07.11.94.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.248-07/08

*Н.А.Дидковский, Ю.А.Владимиров, Н.В.Решетова, В.К.Трескунов,
И.К.Малашенкова, В.А.Путвинский, В.С.Малинин*

ЛЮМИНОЛЗАВИСИМАЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ И КОНТРОЛЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ АСПИРИНОВОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

НИИ физико-химической медицины МЗ РФ,
кафедра биофизики РГМУ им. Н.И.Пирогова, Москва

LUMINOL DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE IN DIAGNOSTICS AND CONTROL OF ASPIRINIC BRONCHIAL ASTHMA TREATMENT EFFECTIVITY

N.A.Didkovsky, Y.A.Vladimirov, N.V.Reshetova, V.K.Treskunov, I.K.Malashenkova, V.A.Putvinsky, V.S.Malinin

Summary

The intensity of stimulated with non-specific activators luminol dependent blood hemiluminescence (ChL) was estimated with the presence of non-steroid antiinflammatory drugs (NAID) analgin and aspisol in 52 patients with aspirinic bronchial asthma. The control group contained 10 persons without pathology evidence and 11 patients with atopic bronchial asthma. The ChL coefficient was 0.59 ± 0.01 in patients with clinical signs of intolerance to NAID during the peroral analgin test and was 1.33 ± 0.02 in the control group. The positive clinical desensitisation effect was accompanied with the ChL coefficient increase. Thus, blood predincubation with NAID in patients with aspirinic bronchial asthma decreases the stimulated ChL intensity. The ChL test with NAID can be used to control the desensitisation effectivity.

Резюме

Исследовали интенсивность стимулированной неспецифическими активаторами люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ) цельной крови 52 больных аспириновой бронхиальной астмой в

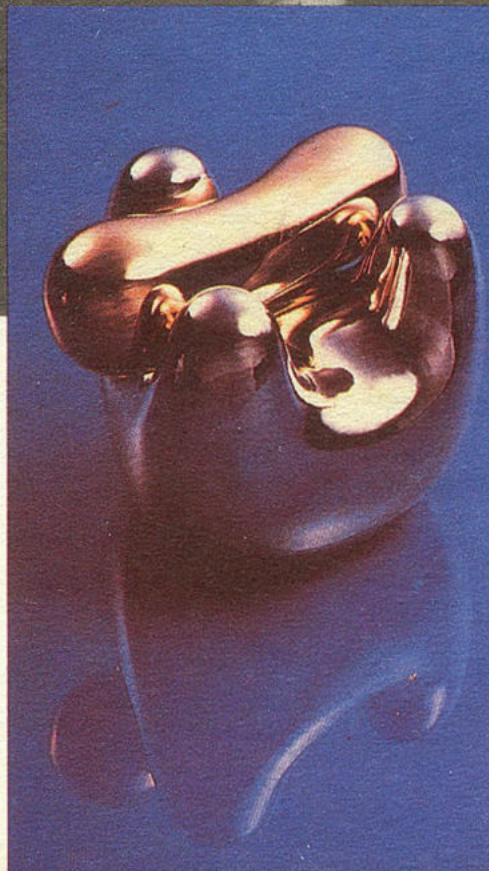
РИБОМУНИЛ ЗАЩИТА ОТ БОЛЕЗНЕЙ НИКОГДА НЕ БЫВАЕТ ИЗЛИШНЕЙ

Даже незначительное снижение активности иммунной системы несет угрозу возникновения рецидивирующих инфекций ЛОР-органов и бронхолегочной системы. Ринофарингиты, частые бронхиты и отиты ставят под угрозу слух и состояние дыхательных органов. Но уже сегодня иммунология, наука будущего, предлагает нам свои средства защиты от этих инфекций. Рибомунил обладает двойным эффектом защиты от инфекций, активизируя непосредственный иммунный ответ и долгосрочный иммунитет. Рибомунил стимулирует выделение плазмócитами миндалин и бронхов специфических антител, направленных против респираторных инфекций, и таким образом обеспечивает непосредственную защиту. Рибомунил активизирует Т-лимфоциты, основу иммунной памяти. Стимулируя весь комплекс иммунных реакций, рибомунил обеспечивает двойную защиту и надежное предупреждение рецидивирующих инфекций ЛОР-органов и бронхолегочной системы у детей, взрослых и людей пожилого возраста.

РИБОМУНИЛ

СОЕДИНЕНИЕ РИБОСОМ БАКТЕРИЙ
И МЕМБРАННЫХ ПРОТЕОГЛИКАНОВ.

**СОХРАНЯЕТ ВАШ СЛУХОВОЙ
И ДЫХАТЕЛЬНЫЙ КАПИТАЛ.**



Пьер Фабр Медикамент

119034, Москва, ул. Остоженка, д. 22, кв. 2
Тел.: (095) 203.29.51 Факс: (095) 230.63.57

присутствии нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) — анальгина и аспизола. Контрольную группу составили 10 практически здоровых лиц и 12 больных atopической бронхиальной астмой. У больных с клиническими признаками непереносимости НПВС и положительной пероральной пробой с анальгином коэффициент ХЛ в пробе с этим препаратом составил $0,59 \pm 0,01$, а в контрольной группе — $1,33 \pm 0,02$. Положительный клинический эффект десенсилизации сопровождался повышением коэффициента ХЛ. Таким образом, у больных аспириновой бронхиальной астмой предынкубация крови с НПВС снижает интенсивность стимулированной ХЛ. Хемилюминесцентный тест с НПВС может быть использован для контроля эффективности десенсилизации.

Проблема эффективности лечения бронхиальной астмы (БА) тесно связана с дифференциальной диагностикой различных клинко-патогенетических форм этого заболевания. Известную трудность представляет диагностика аспириновой бронхиальной астмы (АсБА). Такие больные на прием нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) реагируют удушьем, риноконъюнктивитом или кожными высыпаниями. Как правило, такая форма заболевания характеризуется наиболее тяжелым течением, нередко формированием глюкокортикоидной зависимости и резистентности.

В последнее время для выявления непереносимости НПВС у больных БА используют пероральную пробу с аспирином, ингаляционный тест с аспиринлизином, тест торможения эмиграции лейкоцитов *in vivo*. Однако необходимость введения больному НПВС, которые могут вызвать развитие приступа удушья, является отрицательным моментом в проведении этих тестов, делая невозможным использование их у больных с обострением БА. Кроме того, НПВС обладают раздражающим действием на слизистую желудочно-кишечного тракта, что является противопоказанием к назначению энтеральной пробы больным с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. За последние годы для диагностики лекарственной непереносимости разработаны пробы *in vitro* (определение показателя повреждения нейтрофилов, тест Шелли и др.). Однако эти тесты не удовлетворяют клиницистов в связи с их недостаточной информативностью, значительной трудоемкостью выполнения и высоким процентом как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов [4,5].

По мнению большинства исследователей, идиосинкразия к НПВС является следствием не иммунных реакций, а связана с повышением чувствительности тромбоцитов к блокаторам циклооксигеназы, что в конечном итоге приводит к выбросу тромбоцитарного фактора в ответ на контакт с НПВС [6,7]. По-видимому, этим объясняется невысокая результативность диагностики АсБА с помощью иммунологических тестов.

Целью настоящей работы явилось исследование хемилюминесценции (ХЛ) цельной крови больных АсБА в присутствии препаратов группы НПВС — анальгина и аспизола. На основании этой работы был предложен тест диагностики непереносимости НПВС [2].

При взаимодействии фагоцитирующей клетки с внешними факторами (например, микромолекулами, микроорганизмами, иммунными комплексами и т.д.) происходит запуск реакций дыхательного взрыва,

который сопровождается вспышкой ХЛ [8,9]. В связи с этим ХЛ в настоящее время широко используют для оценки функционального состояния нейтрофилов [3]. За люминолзависимую хемилюминесценцию (Л—ХЛ) цельной крови практически ответственны нейтрофилы [1]. Измерение ХЛ цельной крови позволяет исключить неблагоприятные воздействия на клетки в процессе их выделения. В нашей работе в качестве неспецифического стимула использованы частицы кварца с

Т а б л и ц а 1

Индивидуальные показатели стимулированной частицами кварца Л—ХЛ цельной крови в тесте с анальгином

Группа обследованных	Исходная интенсивность Л—ХЛ: ХЛ—1 (усл. ед.)	Интенсивность Л—ХЛ: пробы с анальгином ХЛ—2 (усл. ед.)	Коэффициент ХЛ: $K_{ХЛ} = \frac{(ХЛ-2)}{(ХЛ-1)}$
----------------------	--	--	--

1. Больные с непереносимостью НПВС

1	359	114	0,32
2	101	18	0,18
3	60	27	0,45
4	273	139	0,51
5	161	18	0,11
6	25	18	0,72
7	116	45	0,39
8	41	24	0,59
9	97	36	0,37
10	72	59	0,82
$M \pm m$			$0,446 \pm 0,07$

2. Контрольная группа

А. Больные БА без непереносимости НПВС

1	365	673	1,84
2	23	24	1,04
3	30	43	1,43
4	65	59	0,91
5	58	50	0,86
6	35	30	0,86
7	34	35	1,03

Б. Доноры

1	33	35	1,06
2	23	21	0,91
3	127	128	1,01
$M \pm m$			$1,1 \pm 0,11^*$

П р и м е ч а н и е. Звездочка — $p < 0,01$.

диаметром 1 мкм или электрический разряд 4 кВ/см. О способности клеток генерировать активные формы кислорода судили по амплитуде максимального уровня ХЛ в ответ на действие стимула.

В работе использован хемилюминиметр ХЛМ-3, созданный МП БИКАП на основе лабораторного образца кафедры биофизики РГМУ и ИРЭ РАН.

Исследовали Л-ХЛ цельной крови у 52 больных БА с клиническими признаками непереносимости НПВС. Контрольную группу составили 10 практически здоровых лиц и 12 больных с атопической формой БА. Вычисляли коэффициент хемилюминесценции ($K_{хл}$) по соотношению максимума активированной кварцем или электрическим разрядом Л-ХЛ в присутствии анальгина (или аспизола) к максимуму люминесценции пробы крови в тех же условиях без НПВС.

Десяти больным АсБА и 10 лицам контрольной группы (7 больных атопической БА и 3 донора) параллельно с ХЛ-тестом провели пероральную пробу с анальгином. Как было показано ранее, у лиц без лекарственной непереносимости $K_{хл}$ составлял — $1,1 \pm 0,11$ [2]. Снижение $K_{хл}$ менее 0,85 отмечалось только у лиц с положительной пероральной пробой. У 9 больных АсБА во время проведения перорального теста наблюдалось снижение бронхиальной проходимости более чем на 15%. У одной больной имела место отсроченная реакция — ухудшение бронхиальной проходимости наступало через 6—8 часов после приема анальгина (тест повторяли неоднократно). В контрольной группе прием анальгина не сопровождался бронхоспазмом. $K_{хл}$ в этой группе статистически значимо превышал этот показатель у больных АсБА (табл.1).

Эти результаты послужили основанием для подбора оптимальных условий стимулирования клеток электрическим разрядом. Была подобрана величина напряжения, воздействие которой на пробы крови одного и того же больного вызывало сходную с воздействием кварца интенсивность вспышки Л-ХЛ. Поскольку применение электропорации в качестве стимула ХЛ легко стандартизируется, упрощает тест и сокращает время проведения исследования, в дальнейшей работе использовали электрический разряд (4 кВ/см).

В табл.2 представлены результаты исследования Л-ХЛ цельной крови в пробе с НПВС у 29 больных АсБА и у 22 лиц контрольной группы, которую составили 10 практически здоровых индивидуумов и 12 больных атопической БА.

В ХЛ-тесте на непереносимость НПВС были использованы другие препараты этой фармакологической группы. На небольшой группе пациентов — 9 больных АсБА и 6 лиц контрольной группы предынкубацию крови проводили с аспизолом. $K_{хл}$ у этих больных АсБА снижался как в пробе с анальгином, так и в пробе с аспизолом. В дальнейшей работе было выявлено двое больных с анамнестическими указаниями и клиническими признаками непереносимости аспирина, у которых ХЛ-тест с анальгином оказался положительным, а предынкубация с аспизолом не снижала максимума ХЛ. Пероральный тест с аспирином у этих

Т а б л и ц а 2

Л—ХЛ цельной крови, стимулированной электрическим разрядом, в тесте с НПВС

Группы обследованных	Используемый в пробе препарат	Число наблюдений	Коэффициент хемилюминесценции
Больные АсБА	анальгин	29	$0,59 \pm 0,01^*$
	аспизол	9	$0,56 \pm 0,024^*$
Контрольная группа	анальгин	22	$1,33 \pm 0,02$
	аспизол	6	$1,49 \pm 0,1$

П р и м е ч а н и е. Звездочка — $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

больных сопровождался снижением бронхиальной проходимости. Присутствие в аспизоле аминогруппы может снижать или отменять повреждающее действие аспирина на клетки, чем, по-видимому, объясняются приведенные ложноотрицательные результаты ХЛ-теста. Поэтому высокий $K_{хл}$ в пробе с аспизолом может говорить о переносимости именно этой лекарственной формы и не выявлять имеющуюся у больного непереносимость других НПВС. Так, у одной из наблюдаемых нами пациенток — больной К., 52 лет, с диагнозом: бронхиальная астма с непереносимостью НПВС среднетяжелого течения с рецидивирующим полипозом носа, энтеральная проба с аспирином была положительна. Коэффициент бронхоспазма после приема 0,05 г аспирина — 32%, ХЛ-проба с анальгином дала также положительный результат ($K_{хл} = 0,39$), в то время как ХЛ-проба с аспизолом выявила пограничные значения пробы ($K_{хл} = 0,83$).

В подавляющем большинстве случаев клинические данные и пероральная проба с анальгином совпадали с данными ХЛ-теста с тем же препаратом. Однако встречались единичные случаи расхождений. Особенно интересными нам представляются следующие два наблюдения.

Больная З., 62 лет, наблюдалась с диагнозом: БА среднетяжелого течения, инфекционно-зависимая форма. Обструктивная эмфизема легких. Аллергическая ринопатия.

В анамнезе указания на непереносимость НПВС отсутствуют. Больная периодически принимала теофедрин, после которого отмечала резко выраженное сердцебиение и затруднение дыхания через 1,5—2 часа после приема препарата. Препараты, используемые от головной боли, как правило, облегчения не приносили. Пероральные тесты с аспирином и анальгином отрицательные. Максимальный поток форсированного выдоха через мелкие бронхи (P_{25}) практически не изменился через час и через два часа после приема 0,25 г аспирина (исходно — 1,38 л/с, через час — 1,30 л/с, через 2 часа — 1,28 л/с). Однако ХЛ-тест с анальгином оказался положительным (максимум ХЛ исходной пробы — 60 усл. ед., в пробе с анальгином — 27 усл. ед.; $K_{хл}$ в пробе с анальгином $27/60 = 0,45$). Через два месяца наблюдения за больной были отмечены приступы удушья, возникающие после приема НПВС. Пероральный тест с аспирином стал положительным.

Под нашим наблюдением находится также больной Т., 44 лет, который вначале являлся одним из кандидатов в контрольную группу. При клиническом обследовании — практически здоров. В анамнезе указания на непереносимость лекарственных средств

отсутствуют. Однако ХЛ-проба с анальгином оказалась резко положительна ($K_{\text{хл}}=0,18$). Через несколько дней после обследования прием таблетки реопирин (для купирования головной боли) вызвал лекарственную токсикодермию.

Таким образом, снижение $K_{\text{хл}}$ в пробе с анальгином даже при отсутствии клинических данных должно насторожить лечащего врача и требует повторного обследования пациента.

Под наблюдением находились двое больных БА, которым для исключения аспириновой формы заболевания была проведена пероральная проба с анальгином, вызвавшая не бронхоконстрикцию, а бронходилатирующий эффект. Однако ХЛ-проба с анальгином была положительна. Через 1,5—2 года наблюдения у обоих пациентов развилась типичная АсБА, что было подтверждено пероральным тестом с аспирином.

ХЛ-тест был использован нами в динамике при проведении курса специфического лечения — десенситизации аспирином. В случаях наступления положительного клинического эффекта, как правило, $K_{\text{хл}}$ повышался, нередко достигая нормальных значений ($K_{\text{хл}}=0,85$). Так, у приведенной выше больной З., 62 лет, $K_{\text{хл}}$ до десенситизации составил 0,45. При исследовании через 8 месяцев на фоне десенситизации аспирином с хорошим клиническим эффектом $K_{\text{хл}}$ возрос до 0,92, т.е. ХЛ-тест стал отрицательным. У больного В., 42 лет, находившегося на десенситизации аспирином, $K_{\text{хл}}$ с 0,72 повысился через месяц лечения до 0,86. В дальнейшем больной прекратил прием поддерживающей дозы аспирина, что сопровождалось обострением заболевания и снижением $K_{\text{хл}}$ до 0,75.

Таким образом, хемилюминесцентный метод диагностики непереносимости НПВС является специфичным, высокочувствительным и может быть широко применен в пульмонологической практике не только

для диагностики, но и для контроля эффективности десенситизации.

В ы в о д ы

1. У больных с непереносимостью НПВС предынкубация крови с анальгином снижает интенсивность стимулированной Л-ХЛ.

2. ХЛ-тест с НПВС выявляет готовность клеток неадекватно реагировать на контакт с лекарственным препаратом до развития клинических признаков заболевания.

3. ХЛ-тест с НПВС может служить контролем эффективности десенситизации у больных АсБА.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Владимиров Ю.А., Шестернев М.П. Хемилюминесценция клеток животных. (Итоги науки и техники. Биофизика. Т.24.) — М., 1989. — С.95—99.
2. Дидковский Н.А., Решетова Н.В., Трескунов В.К., Шерстнев М.П. Диагностика непереносимости нестероидных противовоспалительных препаратов хемилюминесцентным методом: Метод. рекомендации. — М., 1992. — С.5—8.
3. Маянский А.Н., Невмятулин А.Л., Чеботарь И.В. // Тер. арх. — 1987. — № 1. — С.109—114.
4. Самойлова Л.Н., Табакова Т.В. // Там же. — 1992. — № 10. — С.17—24.
5. Фрадкин В.А. // Диагностика аллергии реакциями нейтрофилов крови. — М.: Медицина, 1985. — С.152—160.
6. Ameison I.C. et al. // PAF in Asthma. Proceedings of a Symposium. — Toronto, 1986. — P.169—189.
7. Ameison I.C. et al. // Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. — 1985. — Vol.78. — P.438—448.
8. Malinin V.S., Schmidt H. et al. // Phys. Chem. Biol. Med. — 1993. — № 1. — P.17—22.
9. Vladimirov Y.A., Putvinsky A.V. // Ibid. — P.7—15.

Поступила 31.10.94.



Taema

ПРЕДСТАВЛЯЕТ

Кислородный концентратор ЗЕФИР, предназначенный для проведения оксигенотерапии на дому

СОВЕРШЕНСТВО

объемный выход кислорода может достигать 5 л/мин.

НАДЕЖНОСТЬ

концентрация кислорода 94% $\pm$ 2% при объемном выходе ниже 4 л/мин

КАЧЕСТВО

несколько тысяч коммерческих организаций в Европе отдают предпочтение по качеству проведения кислородотерапии на дому прибору ЗЕФИР



CP90 и DP90 используются для лечения синдрома ночного апноэ.

БЕСШУМНОСТЬ

уровень шума ниже 38 дБ

КОМПАКТНОСТЬ И ЛЕГКОСТЬ

масса менее 3 кг. масса менее 3 кг.

УДОБСТВО ДЛЯ ПАЦИЕНТА



DP90/VP90 и MONNAL DCC используются для проведения вспомогательной вентиляции

ПРОСТОТА И ТОЧНОСТЬ РЕГУЛИРОВКИ

возможность проведения спирометрии

АВТОНОМНОСТЬ

встроенные батареи обеспечивают трехчасовую вентиляцию при объемном выходе 12 л/мин в случае перебоев электроснабжения

ПРОСТОТА В ЭКСПЛУАТАЦИИ И ОБСЛУЖИВАНИИ



За дополнительной информацией просим обращаться:

во Франции: г-н Иссам Бенайед тел: 8-1033-1-40-96-66-00 факс: 8-1033-1-40-96-67-00

в России: г-н Оливье Карли (Москва) тел: (095)-280-03-40 факс: (095)-288-95-16

А.Х.Коган, И.Г.Даниляк, А.А.Стремоухов

РЕАКЦИЯ ГЕНЕРАЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ЛЕЙКОЦИТАМИ НА ГИСТАМИН ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ И ТЯЖЕСТИ ОБОСТРЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Кафедра патофизиологии и кафедра внутренних болезней № 2
1-го лечебного факультета ММА им.И.М.Сеченова

THE HISTAMINE EFFECT ON LEUKOCYTAL GENERATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES DURING BRONCHIAL ASTHMA OF VARIOUS FORMS AND THE SEVERITY DEGREE

A.H.Kohan, I.G.Daniliack, A.A.Stremoukhov

Summary

The histamine effect on leukocytal generation of reactive oxygen species (LGROS) with SiO_2 stimulation was investigated by the luminol dependent chemiluminescence (ChL) method in 65 patients with bronchial asthma and in 19 donors. Histamine decreased LGROS in most of the donors, while in most of patients it increased LGROS. The reaction increase degree and the reaction frequency depended on form, stage, severity degree and duration of the disease. It was concluded that histamine can be included into the bronchial asthma pathogenesis not only by the way of direct bronchoconstriction stimulation, but with of the increase of LGROS. The supposition was made about possibility of the certain reaction use as an additional test for estimating the exacerbation degree and prognosis of the bronchial asthma course.

Резюме

У 65 больных бронхиальной астмой и 19 доноров методом люминолзависимой хемилюминесценции исследовано влияние гистамина на реакцию генерации активных форм кислорода лейкоцитами (ГАФКЛ), стимулированных SiO_2 . У большинства доноров гистамин снижал ГАФКЛ, тогда как у большинства больных гистамин увеличивал ГАФКЛ. Степень увеличения этой реакции и ее частота зависели от формы, фазы, тяжести обострения и длительности заболевания. Авторами был сделан вывод о включении гистамина в патогенез бронхиальной астмы не только путем прямой стимуляции бронхоспазма, но также посредством усиления ГАФКЛ. Высказано предположение о возможности использования данной реакции в качестве дополнительного теста для оценки тяжести обострения и прогноза течения бронхиальной астмы.

Гистамин является одним из наиболее важных медиаторов воспалительных и аллергических реакций [8,9,12]. Выделяясь в процессе взаимодействия тучных клеток (ТК) с аллергеном, гистамин присутствует как в раннюю, так и позднюю фазу аллергических реакций. Он модулирует функции клеток воспаления через имеющиеся на них специфические рецепторы [8—14]. Гистамин вызывает развитие бронхоспазма, стимулирует хемотаксис эозинофилов, угнетает высвобождение лизосомальных ферментов [5,8—11]. В последние годы интенсивно изучается роль активных форм кислорода (АФК), генерируемых лейкоцитами, в патогенезе бронхиальной астмы (БА). АФК вызывают повреждение клеточных мембран, увеличивают их проницаемость, потенцируют воспаление бронхов [1,3,4]. Кроме того, АФК усиливают высвобождение гистамина из ТК [12]. Не исключено, что гистамин в свою очередь моделирует генерацию АФК лейкоцитами (ГАФКЛ), образуя таким образом замкнутый "порочный" круг. Однако этот

вопрос в литературе не освещен. Целью данного исследования явилось определение чувствительности к гистамину реакции ГАФКЛ при различных формах и тяжести обострения БА.

Обследовано 65 больных БА (19 мужчин и 46 женщин) в возрасте 17—67 лет. Всем больным проведено общеклиническое, аллергологическое и лабораторное обследование, а также исследование показателей функции внешнего дыхания (ФВД) на спирометре "Микролаб 3300" с регистрацией жизненной емкости легких (ЖЕЛ), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), объема форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ₁), индекса Тиффно (ИТ). Диагноз ставился на основании общепринятых критериев [8,9]. 48 пациентов страдали атопической БА, 8 — аспириновой, 9 — стероидзависимой. 13 больных находились в фазе легкого обострения, 49 — среднетяжелого, 3 — в фазе тяжелого обострения. К началу обследования 40 пациентов лечились бронхорасширяющими препара-

тами (теофиллины, ингаляционные симпатомиметики), 9 — глюкокортикоидными препаратами (оральными — 6, ингаляционными — 3). 65 больных обследовано в фазе обострения, 62 — в ремиссию. Контрольную группу составили 19 практически здоровых доноров, не имеющих никаких гематологических, соматических и аллергических заболеваний и отягощенной наследственности по аллергическим заболеваниям в анамнезе.

ГАФКЛ определяли методом люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) люминометром LKB "Wallac" (Швеция). Лейкоциты выделяли из гепаринизированной венозной крови по технике, описанной А.Х.Коганом и соавт. [4], и взвешивали их в 1—2 мл 0,85 % раствора NaCl, забуференного карбонатным буфером до pH=7,35; подсчитывали в камере Горяева исходную общую концентрацию гранулоцитов и доводили до 2500/мкл. К 0,3 мл приготовленной взвеси лейкоцитов добавляли 0,04 мл раствора гистамина в дозе 10^{-5} М (конечная концентрация $1,17 \cdot 10^{-6}$ М). Выбор дозы мотивирован литературными данными, согласно которым у здоровых доноров 10^{-5} М раствор гистамина, как правило, вызывает ингибирование ХЛ лейкоцитов на 30—50 % [13—15]. Полученную систему инкубировали в течение 2 минут при комнатной температуре, добавляли 0,04 мл насыщенного изосолярного водного раствора люминола pH=7,35, измеряли ХЛ до выхода на первый максимум, после чего вводили фагоцитируемые частицы, стимулирующие ХЛ, — 0,2 мл 1 % взвеси SiO₂ (размер частиц 4—15 мкм) и продолжали измерение ХЛ до установления второго максимума. Результаты оценивались по второму максимуму, отражающему стимулированную ГАФКЛ. Присутствие лимфоцитов в лейкоцитарной массе не мешало измерению ХЛ фагоцитов, т.к. в покое при обычных условиях они практически не хемилюминесцируют, а при контакте с твердыми частицами не фагоцитируют [7]. Для контроля ставили точно такой же опыт, как описано выше, но отличающийся от него тем, что вместо гистамина к взвеси добавляли равный объем забуференного 0,85 % раствора NaCl. После измерения ХЛ рассчитывали: а) показатель интенсивности стимулированной ХЛ лейкоцитов (ПИХЛс) отдельно для опыта с гистамином и для контрольного опыта без гистамина по формуле [4]:

$$\text{ПИХЛс} = \frac{\text{Максимальная ХЛ (кВ/с)} \cdot 10^6}{\text{Общ. кол-во гранулоцитов моноцитов в иссл. объеме}}$$

б) величину реакции лейкоцитов на гистамин (ВРЛ, %) по формуле:

$$\text{ВРЛ} = \frac{\text{ПИХЛс (конт.)} - \text{ПИХЛс (гист.)}}{\text{ПИХЛс (конт.)}} \times 100\%$$

У 14 (73,7 %) из 19 доноров гистамин снижал ГАФКЛ, у остальных (26,3 %) повышал. Напротив, суммарно лишь у 40 % больных БА наблюдалось снижение ГАФКЛ под влиянием гистамина, в то время как у большинства (60 %) гистамин в указанной концентрации увеличивал ГАФКЛ в 4 раза по сравнению с донорами ($p < 0,001$) (табл.1).

Таблица 1

Влияние гистамина на стимулированную генерацию АФК лейкоцитами доноров и больных БА в разные фазы ее развития, независимо от формы и тяжести обострения

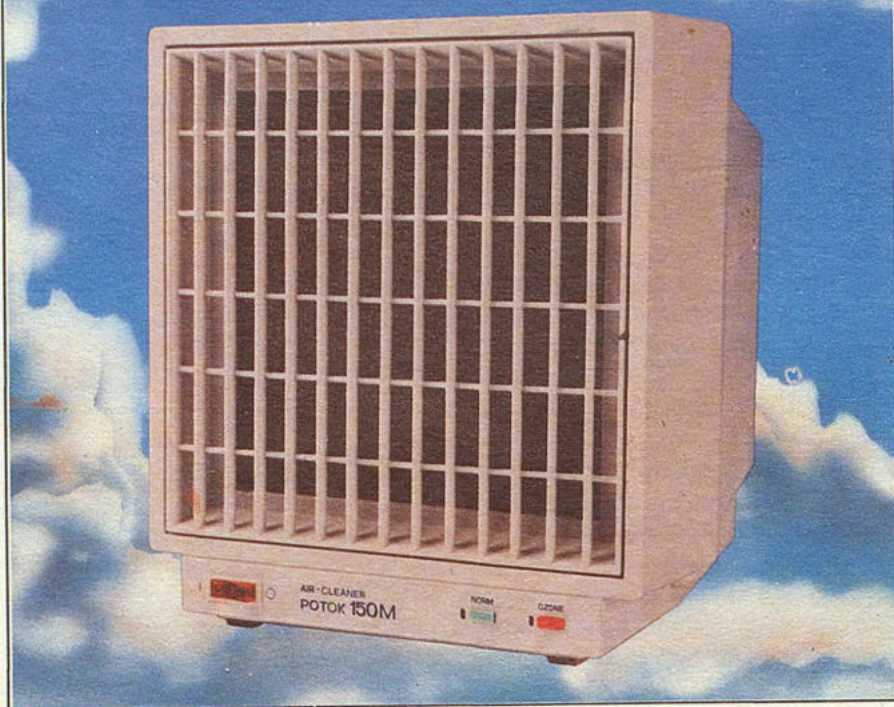
Группа больных	Изменение величины реакции ГАФКЛ под влиянием гистамина, %	
	снижение	увеличение
Доноры $n=19$	$15,9 \pm 2,8$ $n=14$ (73,7%)	$5,7 \pm 1,9^*$ $n=5$ (26,3%)
Больные БА		
обострение $n=65$	$12,7 \pm 2,0$ $n=26$ (40,0%)	$22,9 \pm 2,1^*$ $n=39$ (60,0%)
ремиссия $n=62$	$16,5 \pm 2,3$ $n=34$ (54,8%)	А $11,4 \pm 2,2^{**}$ $n=12$ (19,3%) Б $24,9 \pm 6,0^{***}$ $n=16$ (25,9%)

Примечание. * — достоверные различия между донорами и больными БА ($p < 0,001$), ** — достоверные различия между больными БА в фазе обострения и ремиссии ($p < 0,001$), *** — достоверные различия между подгруппами А и Б ($p < 0,01$)
А — больные БА с уменьшением стимулирующего влияния гистамина на ГАФКЛ,
Б — больные БА с увеличением стимулирующего влияния гистамина на ГАФКЛ.

Наряду с этим отмечался ряд особенностей изменения ГАФКЛ на воздействие гистамина в зависимости от формы и тяжести обострения БА. По особенностям реакции ГАФКЛ на гистамин больные atopической БА в фазе легкого и среднетяжелого обострения могут быть разделены на две подгруппы: а) с увеличением ГАФКЛ на воздействие гистамина (у 46,1—48,6 % больных), значимо большим, чем у аналогичной подгруппы доноров, — в 1,63—3,17 раза; б) со снижением ГАФКЛ на воздействие гистамина (у 51,4—53,8 % больных), но по величине меньшим (только у пациентов с обострением средней тяжести), чем в аналогичной группе доноров, в 1,74 раза. Следовательно, в обеих подгруппах atopической БА (а и б) происходит нарастание ГАФКЛ на воздействие гистамина, но в б-подгруппе за счет прямого увеличения эффекта нарастания, а в а-подгруппе за счет снижения тормозного влияния гистамина ("растормощения" его); при этом реакция на гистамин по величине больше при среднетяжелом, чем при легком обострении atopической БА (табл.2). Реакция ГАФКЛ на гистамин у больных с другими формами БА также отличается своими определенными особенностями. Как у больных аспириновой БА в фазе среднетяжелого обострения, так и у больных стероидзависимой БА в фазе среднетяжелого и тяжелого обострения (суммарно 17 случаев), в отличие от atopической БА, ни разу не наблюдалось снижения ГАФКЛ на воздействие гистамина (см. табл.2). У всех этих больных гистамин вызывал только нарастание ГАФКЛ, но большее, чем аналогичный эффект у доноров (26,3 %, см. табл.2) в 4,4—4,5—7,9 раза, а также больше, чем в подгруппе больных



**Поток 150М — уникальная установка
для обеззараживания воздуха помещений!**



**Комбинированный электрофильтр, при сравнительно низком
напряжении, обеспечивает как 100% инактивацию,
так и тонкую фильтрацию воздуха.**

**При разработке установки удалось решить практически все
проблемы, с которыми сталкиваются производители
и пользователи подобного оборудования.**

Поток 150М:

**не требует замены фильтрующего элемента;
не деионизирует воздух;
не использует в конструкции бактерицидных ламп и химических фильтров;
не пересушивает воздух озонем.**

Поток 150М:

**прост в обращении;
обеспечивает глубокую очистку воздуха
от мелкодисперсной пыли, аллергенов, микроорганизмов
(эффективность фильтрации частиц размером 0,01—100,0 мкм до 96%);
инактивирует любые микроорганизмы и вирусы (эффективность инактивации до 100%);
детоксицирует и дезодорирует воздух помещений.**

Технические характеристики:

**Производительность — до 150 куб.м/ч; потребляемая мощность — 45 Вт;
напряжение — 220 В (50 Гц); масса — 10 кг; габариты — 360/325/365мм**

**Предлагаемая установка — оригинальная разработка российской фирмы «ПОТОК Лтд.».
Защищена российскими и международными патентами.**

117330 Москва, а/я 664. Тел./факс: (095) 284-4456, 254-9823

Таблица 2

Влияние гистамина на стимулированную генерацию АФК лейкоцитами доноров и больных БА в зависимости от формы и тяжести обострения

№	Группа	Тяжесть обострения и количество обследованных	Изменение величины реакции ГАФКЛ под влиянием гистамина, %	
			снижение а	увеличение б
1	Доноры	n=19	15,9±2,8 n=14 (73,7%)	5,7±1,9 n=5 (26,3%)
2	Больные atopической БА	легкая n=13	17,3±3,2 n=7 (53,8%)	9,3±3,5 n=6 (46,1%)
3	— " —	средняя n=35	9,1±1,7 n=18 (51,4%)	18,1±3,0 n=17 (48,6%)
4	Больные аспириновой БА	средняя n=8	—	24,9±2,5 n=8 (100%)
5	Больные стероидзависимой БА	средняя n=6	—	25,6±2,0 n=6 (100%)
6	— " —	тяжелая n=3	—	45,0±10,5 n=3 (100%)

Примечание. Статистическая достоверность различий:
а) $p_{1/2}>0,05$; $p_{1/3}<0,05$; $p_{2/3}<0,05$;
б) $p_{1/3}<0,01$; $p_{1/4}<0,01$; $p_{1/5}<0,01$; $p_{1/6}<0,05$; $p_{3/5}<0,05$.

атопической БА средней тяжести с аналогичным эффектом нарастания ГАФКЛ на гистамин в 1,37—1,46—2,49 раза.

У 20 больных стероиднезависимой БА в фазе обострения средней тяжести проведен сравнительный анализ изменений ГАФКЛ и экспираторных показателей ФВД. Как видно из табл.3, у больных с повышением ГАФКЛ на гистамин, по сравнению с больными, у которых гистамин снижал ГАФКЛ, экспираторные показатели бронхиальной проходимости ниже на 19—31 % ($p<0,05$).

Кроме того, выявлена зависимость реакции ГАФКЛ на гистамин от длительности заболевания (4,9±1,1 года для а-подгруппы и 8,9±1,3 года для б-подгруппы ($p<0,02$), (см. табл.2 и 3).

Таблица 3

Корреляция между реакцией ГАФКЛ на гистамин и показателями функции внешнего дыхания у больных БА

Изменение величины ГАФКЛ под влиянием гистамина	Показатели ФВД, % к должным величинам			
	ЖЕЛ	ФЖЕЛ	ОФВ ₁	ИТ
Увеличение ГАФКЛ n=9	60,6±6,0	46,8±6,7	46,8±6,8	56,1±4,8
Снижение ГАФКЛ n=11	75,2±2,2	67,0±2,6	67,9±3,2	70,6±3,1

Примечание. Различия между группами больных достоверны ($p<0,05$).

В фазе ремиссии (см. табл.1) у 34 (54,8 %) из 62 больных отмечена тенденция к нормализации реакции ГАФКЛ на гистамин. У одной части (12) больных (подгруппа А) сохранилась реакция увеличения ГАФКЛ на гистамин, однако выраженная в 2 раза меньше, чем при обострении ($p<0,001$). У другой части (16) больных (подгруппа Б) не отмечено уменьшения стимулирующего влияния гистамина на ГАФКЛ. ВРЛ в этой подгруппе практически осталась такой же, как в фазе обострения (см. табл.1), и была в 4,4 раза выше, чем у доноров ($p<0,001$), и в 2,2 раза выше, чем в подгруппе А ($p<0,01$). Анализ результатов в подгруппе Б выявил несколько более высокий средний возраст пациентов (47,8±3,0 и 42,6±1,6 года, соответственно). Кроме того, в нее вошли более тяжелые больные. В 2 случаях исходно отмечалось тяжелое обострение заболевания, в 4 — стероидзависимая астма, в 2 — астматическая триада, у 3 больных обострение на фоне ОРВИ, у 2 — на фоне обострения хронического бронхита, у 1 — пневмонии, у 1 — хронического фарингита.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что при БА гистамин в концентрации 10^{-6} М у большинства больных (60 %) увеличивает стимулированную генерацию АФК лейкоцитами. Степень увеличения этой реакции и ее частота зависят от формы, фазы и тяжести обострения заболевания. В ремиссии БА у большинства (74,1 %) больных отмечается выраженная тенденция к уменьшению реакции ГАФКЛ на гистамин по сравнению с обострением. Однако в клинически более тяжелых случаях, а также у части больных с присоединением бактериальной и вирусной инфекции этого не происходит. Вероятно, несовпадение сроков клинической ремиссии с клеточной (по генерации АФК лейкоцитами) ремиссией может потенциально способствовать возникновению более частых рецидивов в данной группе больных. Полученные данные свидетельствуют о включении гистамина в патогенез БА не только путем прямой стимуляции развития бронхоспазма, но также и опосредованно, через усиление генерации АФК лейкоцитами. Реакция стимулированной генерации АФК фагоцитами на гистамин может служить дополнительным тестом для оценки тяжести обострения и прогноза течения БА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болевич С. Свободнорадикальные кислородные и липидные процессы и возможность их коррекции у больных бронхиальной астмой: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1991.
2. Генес В.С. Некоторые простые методы кибернетической обработки данных диагностических и физиологических исследований. — М., 1967.
3. Даниляк И.Г., Коган А.Х., Болевич С. Генерация активных форм кислорода лейкоцитами крови, перекисное окисление липидов и антиперекисная защита у больных бронхиальной астмой // Тер. арх. — 1992. — № 3. — С.54—57.
4. Коган А.Х., Лосев Н.И., Цыпин А.Б., Мануйлов Б.М. Генерация активных микробных форм кислорода лейкоцитами при прохождении через сосудистое русло легких // Бюл. экпер. биол. — 1989. — № 6. — С.688—690.

5. Норрис А.А. Современные представления о патофизиологии бронхиальной астмы // Национальный конгресс по болезням органов дыхания, 3-й.— СПб., 1992.— С.4—5.
6. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Пат. физиол.— 1960.— № 4.— С.76—85.
7. Смирнов А.Н. Функциональные особенности нейтрофилов // Руководство по гематологии / Под ред. А.И.Воробьева.— М., 1985.— Т.1.— С.78—83.
8. Федосеев Г.Б., Хлопова Г.П. Бронхиальная астма.— Л., Медицина, 1988.
9. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма.— М., Медицина, 1985.
10. Bellavite P. The superoxide-forming enzymatic system of phagocytes // Free Radical Biol. Med.— 1988.— Vol.4.— P.225—261.
11. Leino L., Lilius E.M. Histamine receptors on leukocytes are expressed differently in vitro and ex vivo // Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.— 1990.— Vol.91, № 1.— P.30—35.
12. Mannaioni P.F. et al. Free radicals as endogenous histamine releasers // Agents and Actions.— 1988.— Vol.23, № 3—4.— P.129—142.
13. Meretey K. et al. Action of histamine on PHA chemiluminescence response of blood mononuclear cells in autoimmune patients // Ibid.— 1986.— Vol.18, № 1—2.— P.254—257.
14. Meretey K. et al. Effect of H1 and H2 agonists on the chemiluminescence of human blood mononuclear cells induced by phytohemagglutinin // Immunopharmacology.— 1985.— Vol.9, № 3.— P.175—180.
15. Ozaki Y. et al. Effect of histamine agonists and antagonists on luminol-dependent chemiluminescence of granulocytes // Agents and Actions.— 1984.— Vol.15, № 3—4.— P.182—188.

Поступила 31.10.95.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.248-053.2-085.835.52-07

Р.А.Даирова, Н.А.Геппе, С.Болевич, А.Х.Коган

ПОКАЗАТЕЛИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, ПОЛУЧАВШИХ ИНГАЛЯЦИИ ГИПЕРКАПНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГАЗОВОЙ СМЕСИ

Московская медицинская академия им.И.М.Сеченова

LEUKOCYTAL HEMILUMINESCENCE PARAMETERS IN BRONCHIAL ASTHMA INFANTS OBTAINING HYPERCAPNIC HYPOXIC MIXTURE INHALATION

R.A.Dairova, N.A.Heppe, S.Bolevich, A.H.Kohan

Summary

The CO₂ effect on phagocytal generation of reactive oxygen species was studied in 40 bronchial asthma infants obtaining therapy with hypercapnic hypoxic gas mixture (HHGM) inhalations. It was found that chemiluminescence intensity parameters were greater in that patients during the postattack period than in healthy infants. During the intermedia period, the parameters decreased but were significantly higher than in controls. The satisfactory leucocyte sensitivity to CO₂ was found in 37.5% of patients, that well correlates with positive clinical effect. The lower effect from HHGM was noted in 62.5% of infants with the decreased reaction to CO₂. The role of leukocytes in bronchoconstriction was shown.

Резюме

Изучено влияние CO₂ на генерацию активных форм кислорода фагоцитами у больных бронхиальной астмой 40 детей, в лечении которых использовали ингаляции гиперкапнической гипоксической газовой смеси (ГГС). Выявлено, что в послеприступном периоде показатели интенсивности хемилюминесценции были выше по сравнению с контрольной группой (здоровые дети). В межприступном периоде они снижаются, но превышают контрольные значения. Выявлена у 37,5% больных хорошая чувствительность лейкоцитов к CO₂, что хорошо коррелировало с клиническим положительным эффектом. У 62,5% детей со сниженной реакцией к CO₂ отмечен меньший эффект от ГГС. Показана роль лейкоцитов в развитии бронхоконстрикции при бронхиальной астме у детей.

В последние 10—15 лет отмечен значительный рост бронхиальной астмы (БА) среди детского населения [4]. Разработано множество теорий механизмов развития бронхоконстрикции при БА, которые определяют

патогенетические подходы к выбору метода терапии. Важнейшим компонентом бронхообструктивного синдрома является воспалительный процесс в дыхательных путях [4]. Механизм возникновения приступа БА охватывает

ряд клеточных взаимодействий, включающих стимуляцию клеточных элементов воспаления, таких как тучные клетки, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы. Все эти клетки обладают способностью генерировать активные формы кислорода, являющиеся медиаторами воспаления. А.Х.Коганом и сотр. [7] было выявлено ингибирующее влияние CO_2 на генерацию активных форм кислорода (АФК) фагоцитами у здоровых людей. Нарушение свободнорадикальных процессов отмечается при различных заболеваниях, протекающих с выраженными воспалительными реакциями [5,6,10]. Целью нашей работы явилось изучение влияния CO_2 на генерацию активных форм кислорода фагоцитами при БА у детей и влияния ингаляций гиперкапнической гипоксической газовой смеси (ГГС) на течение заболевания.

Ингаляции ГГС были использованы у 40 детей больных БА в возрасте 10—14 лет. 15 здоровых детей 10—14 лет составили контрольную группу. Среди больных было 17 девочек и 23 мальчика. БА диагностировали на основании общеклинических критериев и данных лабораторного, инструментального и аллергологического обследования. У 37 детей была atopическая БА среднетяжелого течения и у 3 легкого течения. 25 детей были в межприступном и 15 детей в послеприступном периоде заболевания. Всем больным назначили гипоаллергенную диету, массаж грудной клетки. Ряд больных (7 детей) в послеприступном периоде получали эуфиллин, интал, антигистаминные препараты в возрастных дозах.

ГГС проводили методом возвратного дыхания с помощью газонакопителя — полиэтиленового мешка емкостью 5 литров. Пациент надувал перед каждой ингаляцией газонакопитель и затем дышал из него через маску. Продолжительность ингаляции из газонакопителя от 3 до 5 минут 4 раза с 5-минутными перерывами 1—2 раза в день. К концу 5-минутного цикла концентрация CO_2 в газонакопителе составляла 3,0—3,5%, а концентрация O_2 снижалась до 16—18%. Курс продолжался 10—14 дней и повторялся через 3—6 месяцев. До начала и в конце курса ГГС у всех больных исследовали функцию внешнего дыхания, газы крови, кислотно-щелочное состояние, иммуноглобулины (Ig) A, M, G, E и определяли генерацию активных форм кислорода лейкоцитами (ГАФКЛ). Функцию внешнего дыхания определяли на спирографе "Pneumoscreeп II" фирмы "Jaeger". Оценивались показатели форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ — FVC) и максимальной скорости при выдыхании 50% ФЖЕЛ (МСВ₅₀ — FEV₅₀). КЩС и напряжение O_2 смешанной капиллярной крови определяли на аппарате Микро-Аstrup фирмы "Радиометр" (Дания). Ig A, M, G, определяли по методу Манчини, IgE определяли иммуноферментным методом.

ГАФКЛ определяли люминолзависимым хемилюминесцентным (ХЛ) методом. Влияние CO_2 на ГАФКЛ исследовали по модифицированной методике А.Х.Когана. Лейкоциты выделяли из венозной крови по уже известной методике [2,3], освобождали их от примеси эритроцитов осмоллизисом дистиллированной водой.

Взвешивали лейкоциты в забуферном 0,9% растворе натрия хлорида с рН=7,35 (ЗБФР), состоящем из 7,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида и 2,5 мл фосфатно-щелочного буфера рН=7,35, и в собственной плазме [1]. 0,2 мл полученной взвеси лейкоцитов концентрацией 2500 клеток в 1 мкл помещали в минибарокамеру (аппарат "Камовского"). Из минибарокамеры под контролем манометра откачивали воздух до давления 671,6 мм рт.ст. и вводили CO_2 (58,4 мм рт.ст.), повышая общее давление до 730 мм рт.ст. При этом в минибарокамере оставалось разрежение 30 мм рт.ст., необходимое для обеспечения ее герметичности. Таким образом в минибарокамере создавалась газовая смесь: воздух Р=678,6 мм рт.ст. (92%) + CO_2 Р=58,4 мм рт.ст. (8%). Содержание O_2 в смеси снижалось до 19,0%. По аналогичной технологии готовили другую газовую смесь: воздух Р=584 мм рт.ст. (80%) + CO_2 Р=146 мм рт.ст. (20%). В этой смеси концентрация O_2 снижалась до 16,8%. Для контроля в минибарокамеру помещали лейкоцитарные пробы рН=7,35, на такие же величины давления откачивали воздух, однако вместо CO_2 опять вводили воздух на величину давления, равную в опытах (соответственно 58,4 и 146 мм рт.ст.). Поскольку 8% и 20% CO_2 снижает рН ЗБФР с 7,35 до 7,30, что само по себе может изменить ХЛ лейкоцитов, то возникла необходимость внесения поправки на влияние сдвига рН на ХЛ-показатели: лейкоциты взвешивали в ЗБФР рН=7,30, помещали в минибарокамеру, откачивали воздух на величину давления, равную PCO_2 в опыте, и возвращали воздух в барокамеру на такую же величину. Опытные и контрольные пробы инкубировали в термостате при температуре 36,9°C 20 минут, после чего их извлекали, добавляли 0,02 мл насыщенного изосолярного водного раствора люминола рН=7,35, помещали в хемолюминесцентный ЛКБ, "Wallak" (Швеция) и при 36,9°C регистрировали ХЛ до выхода на плато-максимум. Это соответствовало базальному показателю ХЛ (ПИХЛб). Затем к клеточной взвеси добавляли 0,2 мл опсонизированного зимозана (исходная концентрация 500 мг зимозана + 50 мл ЗБФР) и продолжали измерение до второго плато-максимума, что соответствовало стимулированному показателю ХЛ (ПИХЛс).

Рассчитывали показатель базальной и стимулированной интенсивности ХЛ одного лейкоцита по формуле:

$$\text{ПИХЛ} = \frac{\text{максим. ХЛ} \cdot 10^6}{\text{количество гранулоцитов и моноцитов в исследуемом объеме}}$$

Изменение ПИХЛб и ПИХЛс в каждом случае под влиянием CO_2 оценивали в процентах по следующей схеме:

1 этап: рассчитывали изменение ПИХЛб и ПИХЛс под влиянием сдвига рН до 7,30 по формуле:

$$\frac{\text{ПИХЛ в ЗБФР рН} = 7,35 - \text{ПИХЛ в ЗБФР рН} = 7,30}{\text{ПИХЛ в ЗБФР рН} = 7,35} \times 100 \quad (1)$$

2 этап: рассчитывали изменение ПИХЛб и ПИХЛс при совместном влиянии молекул CO_2 и смещенного ими рН до 7,30 по формуле:

$$\frac{\text{ПИХЛ в ЗБФР рН} = 7,35 - \text{ПИХЛ в } \text{CO}_2 \text{ (8\% и 20\%)}}{\text{ПИХЛ в ЗБФР рН} = 7,35} \times 100 \quad (2)$$

3 этап: рассчитывали изменение ПИХЛб и ПИХЛс, отражающее влияние только CO_2 (8% и 20%) по формуле:

$$(3) = (2) - (1)$$

4 этап. В случае с лейкоцитами, взвешенными в собственной плазме, рассчитывали изменение ПИХЛб и ПИХЛс под влиянием 8% и 20% CO_2 по формуле:

$$\frac{\text{ПИХЛ до воздействия } \text{CO}_2 - \text{ПИХЛ после воздействия } \text{CO}_2}{\text{ПИХЛ до воздействия } \text{CO}_2} \times 100$$

Таким образом, рассчитывали 8 показателей:

1, 2 — ПИХЛб и ПИХЛс лейкоцитов, взвешенных в ЗБФР, до и после воздействия 8% CO_2 ; 3, 4 — ПИХЛб и ПИХЛс лейкоцитов, взвешенных в ЗБФР, до и после воздействия 20% CO_2 ; 5, 6 — ПИХЛб и ПИХЛс лейкоцитов, взвешенных в собственной плазме, до и после воздействия 8% CO_2 ; 7, 8 — ПИХЛб и ПИХЛс лейкоцитов, взвешенных в собственной плазме, до и после воздействия 20% CO_2 .

Каждое изменение ПИХЛб и ПИХЛс под влиянием CO_2 оценивали по следующей системе: снижение ПИХЛб и ПИХЛс до 30% принимали за 1 балл, от 30 до 60% — за 2 балла и больше 60% — за 3 балла. Общая их сумма от 22 до 24 баллов расценивалась как показатель хорошей чувствительности лейкоцитов к CO_2 . При сумме 19 и менее баллов или при повышении одного из показателей под влиянием CO_2 результат расценивался как низкая чувствительность лейкоцитов к CO_2 .

Исследования ГАФКЛ у детей в послеприступном и в межприступном периодах показало, что ПИХЛб и ПИХЛс в послеприступном периоде были существенно выше, чем в межприступном периоде и в контроле (табл.1).

В послеприступном периоде, когда сохраняются клинические проявления бронхообструктивного синдрома (единичные хрипы, умеренная одышка), снижение функций дыхания, гипоксемия, генерация АФК усилена. В межприступном периоде, т.е. клинко-лабораторной ремиссии, эти показатели снижались, но к норме не приходили.

Генерация АФК лейкоцитами в приступном периоде БА по данным Masahiko Kato et al. [8] тесно коррелирует с бронхиальной гиперреактивностью. Длительно сохраняющаяся продукция повышенного уровня АФК не только в приступном, но и в послеприступном и межприступном периоде может быть фактором, поддерживающим бронхиальную гиперреактивность, и соответственно предрасполагать к возникновению обострения. Отмечена также высокая чувствительность лейкоцитов к стимулирующим факторам у детей больных БА. При инфильтрации бронхиальной ткани лейкоцитами и сохраняющейся высокой активности незначительная стимуляция, по-видимому, может приводить к повторному выбросу медиаторов. Полученные данные подтверждают точку зрения S. Wasserman [9] о наличии при БА воспаления дыхательных путей. Показатели ГАФКЛ в собственной плазме были несколько ниже, чем в ЗБФР, что, возможно, связано с наличием плазменных факторов, которые ингибируют процесс образования АФК.

Лейкоциты больных БА по разному реагировали на воздействие 8% и 20% CO_2 в минибарокамере. У части больных (30%) происходило ингибирование ГАФКЛ практически как в контроле, у других наоборот снижалось ингибирующее влияние CO_2 и усиливалась ГАФКЛ.

Все больные были разделены на две группы с учетом чувствительности лейкоцитов к гиперкапнической газовой смеси. Выявлена хорошая чувствительность к CO_2 (22—24 балла) у 15 (37,5%) больных. У 25 (62,5%) больных — низкая чувствительность (сумма баллов составляла 19 и меньше). В эту группу вошли 4 детей, у которых сумма баллов составила 20—21.

Из 15 больных, чувствительных к CO_2 , у 10 детей наблюдался хороший клинический эффект (табл.2). Приступов астмы не отмечено в течении 1,5 года, дети меньше болели ОРВИ, физически становились крепче, активнее. У 5 детей, несмотря на хорошую чувствительность к CO_2 , отмечен меньший клинический эффект от ингаляции ГГС — урежение частоты приступов в год, удлинение ремиссии, уменьшение количества и доз применяемых лекарств в 2—3 раза. Дети реже болели ОРВИ, однако приступы сохранялись. Из 25 больных с низкой чувствительностью к CO_2 у 13 детей

Таблица 1

Хемолюминесцентные показатели генерации активных форм кислорода лейкоцитами ($\text{мВ} \cdot \text{с} \cdot 10^6$ лейкоцитов), взвешенными в ЗБФР и собственной плазме, у детей больных БА в послеприступном и межприступном периодах ($M \pm m$)

Период БА	Лейкоциты, взвешенные в ЗБФР		Лейкоциты, взвешенные в плазме	
	ПИХЛб	ПИХЛс	ПИХЛб	ПИХЛс
Межприступный n=25	271,1±23,4	540,0±73,4	211,7±19,6	470,8±63,2
Послеприступный n=15	370,8±18,3**	860,2±81,2**	305,6±104,2	725,7±114,7*
Контроль n=20	285,5±44,2	433,9±64,1	171,2±28,1	716,1±160,7

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем; # — $p < 0,05$ между периодами БА, ## — $p < 0,001$ между периодами БА.

Таблица 2

Изменение ХЛ-показателей генерации активных форм кислорода лейкоцитами ($\text{мВ} \cdot \text{с} \cdot 10^6$ лейкоцитов) у детей больных БА до и после лечения ГГС *in vivo* с учетом чувствительности лейкоцитов к CO_2

Группа	ПИХЛб		ПИХЛс	
	до лечения ГГС	после лечения ГГС	до лечения ГГС	после лечения ГГС
1-я	300,8±52,3	164,2±19,2*	522,1±2,1	356,3±40,6*
2-я	229,1±49,5	474,2±24,2**	544,4±56,0	710,6±131*

Примечание. * — $p < 0,05$ между показателями до и после лечения ГГС; ** — $p < 0,001$ между показателями до и после лечения ГГС; # — $p < 0,05$ между соответствующими показателями 1-й и 2-й группы больных; ## — $p < 0,001$ между соответствующими показателями 1-й и 2-й группы больных.

Динамика функциональных показателей у детей больных БА в зависимости от чувствительности лейкоцитов к CO_2 до и после курса лечения ГГС

Группа больных	МОС ₅₀ , % от должн.		рН		рСО ₂ , мм рт.ст.		рО ₂ , мм рт.ст.	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
1-я	87,75±8,57	88,87±9,9	7,477±0,263	7,415±0,355	33,86±2,81	39,44±2,77*	73,95±3,78	77,95±3,75
2-я	91,66±4,72	84,0±7,6	7,452±0,211	7,434±0,341	31,7±3,5	33,6±4,1	75,15±3,15	77,84±4,2

Примечание. * — $p < 0,05$.

ингаляции ГГС оказали незначительное влияние на течение БА: количество приступов урежалось, соответственно удлинялась ремиссия, но по тяжести приступы оставались прежними, купировались разнообразными лекарственными препаратами. У части больных отмечено увеличение физической активности, большинство стали посещать уроки физкультуры, реже болели ОРВИ. У 12 больных не отмечено клинического эффекта от немедикаментозного метода ГГС. Течение болезни оставалось прежним, либо прогрессировало (4 детей).

Лечение детей больных БА показало (см. табл. 2), что в 1-й группе детей с хорошей чувствительностью к CO_2 и исходно высокими ХЛ-показателями ГАФКЛ ПИХЛб и ПИХЛс после курса ГГС уменьшились соответственно в 1,8 и 1,5 раза ($p < 0,05$ для обоих показателей). Во 2-й группе (нечувствительных к CO_2) начальные показатели ПИХЛб и ПИХЛс превышали данные в контрольной группе. После лечения ГГС значения ПИХЛб и ПИХЛс возрастали соответственно в 2,1 и 1,3 раза ($p < 0,05$ и $p > 0,05$). Таким образом, в 1-й группе больных CO_2 снижало, во 2-й группе усиливало ГАФКЛ лейкоцитами.

Мы сопоставили полученные данные с исследованиями ФВД, КЩС и газами крови (табл. 3), с Ig A, M, G, E.

Спирографические данные у детей как в 1-й, так и во 2-й группах (ФЖЕЛ, МОС₅₀) до начала лечения были в пределах нормы. После курса ГГС в 1-й группе ФВД оставалась нормальной, во 2-й группе больных отмечалась тенденция к снижению показателей МОС₅₀. Необходимо отметить, что в этой группе больных почти все дети получали помимо ГГС и традиционную бронхолитическую терапию. В 1-й группе больных отмечен рост рСО₂ в крови в 1,2 раза ($p < 0,05$). Во 2-й группе детей рост рСО₂ был незначительным. Показатели рО₂ у большинства больных приходили к норме.

Исследование иммуноглобулинов показало рост IgA от 158,75±34,62 до 195,1±41,66 мг% и IgG от 1396,2±118,04 до 1431,2±208,6 мг% в 1-й группе и отсутствие изменений показателей во 2-й группе. IgM в обеих группах оставался без изменений. Демонстративные изменения выявлены со стороны показателей общего IgE. У 65% из общего числа больных после курса

ГГС отмечено снижение в 2 и более раз уровня IgE. После курса ГГС показатели приближались к нормальным цифрам у детей только в 1-й группе. Во 2-й группе показатели IgE на фоне комплексной терапии также снижались, но были значительно выше и после лечения.

Таким образом, бронхиальная астма представляет воспалительное заболевание, при котором лейкоцитам отводится важная роль в развитии бронхоконстрикции путем генерации АФК, которые выступают как медиаторы воспаления. Различие в реагировании лейкоцитов на воздействие CO_2 может быть критерием отбора больных для лечения ГГС, так как в этом случае CO_2 оказывает ингибирующее влияние на генерацию ими АФК и способствует уменьшению воспаления в бронхах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болевич С. Свободнорадикальные кислородные и липидные процессы и возможность их коррекции у больных бронхиальной астмой: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 1991.
2. Коган А.Х., Лосев Н.И., Цыпин А.Б. и др. Генерация активных микробицидных форм кислорода лейкоцитами при прохождении через сосудистое русло легких // Бюл. exper. биол. — 1989. — № 6. — С. 688—690.
3. Коган А.Х., Цыпин А.Б., Мануйлов Б.М. О роли легких в регуляции генерации активных форм кислорода лейкоцитами в норме и патологии // Пат. физиол. — 1991. — № 1. — С. 46—50.
4. Международный консенсус по проблемам диагностики и лечения астмы: Резюме докладов. — СПб, 1992.
5. Fantane J.C., Ward P.A. Role oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions // Am. J. Pathol. — 1982. — Vol. 107. — P. 396—418.
6. Hertz F., Cloarec A. Pharmacology of free radicals: recent views on their relation to inflammatory mechanism // Life Sci. — 1984. — Vol. 34. — P. 713—720.
7. Kogan A.Kh., Manuilov B.M., Tsylin A.B. The of active-oxygen forms generation by leucocytes and their accumulation in lungs together with the increasing of phagocytic activity // International Conference on Critical Aspects of Free Radicals: Abstracts. — Vienna, 1993. — P. 122.
8. Masahiko K., Nakano M., Torikawa A. Ability of polymorphonuclear leucocytes to generate active oxygen species in children with bronchial asthma. Use of chemiluminescence probes with a cypridina luciferin analog and luminol // Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. — 1991. — Vol. 95. — P. 14—22.
9. Wasserman S.I. The lung mast cell: its physiology and potential relevance to defense of the lung // Environ. Hlth Persp. — 1980. — Vol. 35. — P. 153—164.

Поступила 17.06.94.

А.Н.Кокосов, Ю.М.Гольденберг, В.П.Мищенко

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ГЕМОСТАЗ НА ЭТАПАХ ФОРМИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО БРОНХИТА И БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Государственный научный центр пульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург; Государственный
медицинский стоматологический институт, Полтава

PEROXIDE LIPID OXIDATION AND HEMOSTASIS DURING CHRONIC BRONCHITIS AND BRONCHIAL ASTHMA FORMATION

A.N.Kokosov, Y.M.Goldenberg, V.P.Mishenko

S u m m a r y

Functional levels of hemostasis and peroxide lipid oxidation (PLO) were observed in the article in dependence on COPD formation stage and on season. There were examined 417 patients, aged 18—65 years, which were distributed between groups according to formation stage of chronic bronchitis (CB) and bronchial asthma (BA). The group of the disease threat contained 103 patients, the predisease stage one — 122 patients, the nosological manifestation one — 123 patients, and the group of obligate complications — 69 patients. The comparison group contained 52 healthy volunteers. The result analysis showed that CB and BA formation is accompanied by growing activation of blood coagulation system. The activation achieved its maximum during summer and autumn. PLO processes also changed accordingly to season increasing during the disease formation threat and declining a few in predisease stages. The disease formation was accompanied certainly by the maximal PLO activation and the antioxidant enzyme activity decrease.

Р е з ю м е

В данной работе изучались функциональные уровни гемостаза и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в зависимости от этапа формирования ХНЗЛ и от сезона года. Было обследовано 417 пациентов в возрасте 18—65 лет, которые были распределены по группам в зависимости от этапа формирования и развития ХБ и БА. 103 человека были отнесены к этапу угрозы заболевания, 122 — к этапу предболезни, 123 — к этапу нозологической манифестации и 69 — к этапу облигатных осложнений. В качестве группы сравнения были обследованы 52 здоровых добровольца. Анализ результатов показал, что формирование ХБ и БА сопровождается нарастающей активацией свертывающей системы крови, достигающей максимума в летне—осенний период года. При этом процессы ПОЛ изменяются фазно с сезоном года, усиливаясь при возникновении угрозы развития заболевания и несколько уменьшаясь на этапах предболезни. Развитие обострения заболеваний однозначно сопровождается максимальной активацией ПОЛ и уменьшением активности антиоксидантных ферментов.

Проблема болезней органов дыхания, в частности хронических неспецифических заболеваний легких (ХНЗЛ), приобрела во всем мире, особенно в промышленно развитых странах, важное научное и социальное значение, что мотивируется их распространенностью и сравнительно ранней инвалидизацией больных этими заболеваниями [1,2,25].

Необходимо отметить, что в большинстве случаев ХНЗЛ диагностируется поздно — на этапе развернутой клинической картины и осложнений, иногда приостановить их неуклонно прогрессирующее течение не представляется возможным [5,8,9]. Наиболее перспективным путем снижения заболеваемости ХНЗЛ является внедрение в практику здравоохранения мероприятий

по первичной или сравнительно ранней вторичной профилактике [4,5,23]. В этом плане заслуживает внимания концепция четырехэтапного развития ХНЗЛ, наиболее подробно разработанная по отношению к хроническому бронхиту (ХБ) [5,8,9] и бронхиальной астме (БА) [20]. В соответствии с ней на I этапе имеет место контакт с патогенными факторами, создающий ситуацию угрозы развития болезни. На II этапе формируется неустойчивое переходное состояние от здоровья к болезни — предболезнь: предбронхит (ПБ) и предастма (ПА). На III этапе имеют место уже клинически манифестированные нозологические формы ХНЗЛ, а на завершающем IV этапе на первый план в клинической картине выступают облигатные осложнения: обс-

структивная эмфизема легких, хроническое легочное сердце, легочно-сердечная недостаточность и формируется хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) [2,4,8,9].

В последнее время заметно возрос интерес к изучению метаболических функций легких, в частности у больных ХНЗЛ [3,5,7,10]. Значительное внимание в этом плане уделяется состоянию свертывающей системы крови и активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [5,11,12,18,21,22] как важнейшим системам, характеризующим функциональное состояние биологических мембран [12,18,19], наиболее крупную из которых и представляют собой легкие [3,13,18]. Однако имеющиеся сведения о состоянии этих систем при

ХНЗЛ касаются в основном III и IV этапов. Практически отсутствуют данные, характеризующие их динамику на различных этапах формирования и развития ХНЗЛ, особенности их функционального состояния в зимне-весенний и летне-осенний периоды года, различающиеся уровнем антиоксидантной обеспеченности организма [14,16,17,27], их взаимосвязи и взаимозависимости [15,24,26].

Целью настоящей работы явилось изучение функционального уровня гемостаза и ПОЛ в зависимости от этапа формирования ХНЗЛ и сезона года. Для этого нами проведены комплексные исследования свертывающей системы крови и уровня ПОЛ у 52 практически здоровых людей и у 417 больных с различными эта-

Т а б л и ц а 1

Состояние гемостаза у практически здоровых людей и лиц на этапах формирования ХБ и БА в различные сезоны года

Изучаемые показатели	Здоровые	Этапы формирования ХНЗЛ					
		I	II		III		IV
			ПБ	ПА	ХБ	БА	
ВР, с	154,5±6,36	131,2±3,95 ^у	136,7±4,44	137,7±8,30	136,0±4,34	153,3±14,40	151,0±6,06 ^у
	170,6±5,80 ^у	145,7±4,21 ^{ху}	151,6±6,82	134,6±0,72	127,6±4,47 ^у	136,9±6,34	143,7±8,04
КВ, с	64,5±2,21	53,9±2,94 ^у	52,7±3,03	56,4±7,29	53,9±3,08	52,5±9,80	56,8±3,16
	68,2±3,97	68,5±2,84 ^х	60,0±2,27	72,9±8,91 ^х	44,2±3,04 ^у	58,9±4,50 ^у	50,3±5,39
КеВ, с	63,6±3,93	55,4±2,15	58,0±3,31	56,1±3,90	54,0±1,81	73,2±7,31 ^у	63,7±4,55 ^у
	65,7±3,92	64,7±6,61	57,0±3,43	76,1±9,78 ^{ху}	51,6±1,86	65,9±6,18	65,0±5,72
ПВ, с	25,4±0,87	26,0±1,18	23,2±0,80	24,9±1,45	23,3±0,99	21,0±2,17 ^у	23,0±1,25
	40,4±3,09 ^х	28,5±1,20 ^у	26,4±2,22	24,9±2,06	21,3±0,69 ^у	22,7±0,67	24,4±1,44
АПТВ, с	55,6±2,27	47,5±1,47 ^у	48,4±1,08	49,7±3,56	46,3±1,89	42,5±6,08	45,4±2,12
	60,1±3,19	52,5±1,81 ^{ху}	55,4±4,76	56,6±5,10 ^х	47,2±2,26	52,1±3,80	48,8±3,61
ТВ, с	13,3±0,69	13,6±0,43	12,0±0,41 ^у	11,9±1,06	13,4±0,78	11,6±0,90	16,1±1,04 ^у
	17,4±1,12 ^х	13,7±0,59 ^у	11,8±0,76	12,0±0,79 ^у	11,2±0,34 ^х	11,8±0,93	13,5±1,17
АТ III, %	93,0±2,06	74,5±2,26 ^у	76,0±3,32	74,5±3,85	70,7±2,97	65,4±5,17 ^у	51,5±2,25 ^у
	89,4±3,07	84,5±2,37 ^х	77,4±4,83	75,7±9,64	62,2±2,29 ^у	66,7±2,03	52,1±3,43 ^у
ЭТ, ±	0	0,14±0,07	0,30±0,09	0,50±0,24	1,9±0,18	1,0±0,29 ^у	2,4±0,15 ^у
	0	0,06±0,03	0,2±0,09 ^у	0,4±0,18	0,6±0,01 ^{ху}	0,7±0,08	1,4±0,31 ^х
ПТ, %	0	0,20±0,03	0,4±0,09	0,6±0,28 ^у	2,2±1,15	1,5±0,38 ^у	2,6±0,18 ^у
	0	0,20±0,06	0,2±0,01	0,7±0,28	0,8±0,03 ^у	1,2±0,03 ^у	1,7±0,34 ^х
ПДФ, г/л	2,7±0,63	2,5±0,13	2,8±0,18	3,6±0,44 ^у	3,6±0,26 ^у	4,8±0,50 ^у	7,0±0,38 ^у
	2,1±0,28	3,1±0,27 ^у	3,1±0,39	4,3±0,69 ^х	3,8±0,37 ^у	4,5±0,35	6,8±0,48 ^у
ФГ, г/л	3,3±0,14	3,8±0,13 ^у	3,7±0,13	3,8±0,34	4,1±0,23	4,2±0,53	4,2±0,22
	3,0±0,24	3,3±0,11 ^х	3,9±0,21 ^у	3,8±0,64	4,2±0,20	4,0±0,22	5,0±0,22 ^х
ЛЭ, мин	147,9±9,04	182,7±7,46 ^у	223,2±7,49 ^{ху}	194,4±2,52	210,2±8,92	169,2±11,46	230,4±10,12 ^у
	152,1±4,85	153,2±7,47 ^х	178,6±13,51	169,3±5,43	223,0±9,59 ^у	229,9±12,0 ^у	226,7±13,42

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл.2. в числителе — показатели гемостаза зимне-весеннего сезона года, в знаменателе — летне-осеннего. х — межсезонные различия показателей достоверны ($p<0,05$); у — межэтапные различия показателей достоверны ($p<0,05$).

пами формирования и развития ХБ и БА. Из них к I этапу формирования бронхолегочной патологии относилось 103 человека, ко II — 122 (из них лиц с ПБ — 56, ПА — 66), к III — 123 (из них больных ХБ — 63, БА — 60), к IV — 69 человек. Возраст обследуемых — от 18 до 65 лет.

Система ПОЛ — антиоксиданты изучалась по следующим показателям: спонтанному перекисному гемолизу эритроцитов — ПГЭ (Jagar, 1968), содержанию диеновых конъюгатов — ДК (Воскресенский О.Н., 1972), кинетике накопления малонового диальдегида в эритроцитах — МДА (Андреев Г.В. и др., 1981), активности каталазы — АК (Пушкина Н.В. и др., 1963), церулоплазмينا — ЦП (Колб В.Г., 1982), супероксиддисмутазы СОД (Брусос О.С. и др., 1976). Антиоксидантная обеспеченность оценивалась коэффициентами соотношений СОД и ЦП к МДА (Федосеев Г.Б. и др., 1991). Свертывающая активность крови оценивалась по следующим показателям: времени рекальцификации — ВР (Bergerhof, Roka, 1954), каолиновому времени — КВ (Баянская Г.З., 1964), кефалиновому времени — КеВ (Баркаган З.С., 1975), активированному парциальному тромбопластиновому времени — АПТВ (Biggs R.M., 1962), протромбиновому времени — ПВ (Quick A.J., 1966), тромбиновому времени — ТВ (Szirnai F., 1957), этаноловому тесту — ЭТ (Breen F.A., 1968), протаминсульфатному тесту — ПТ (Wiewiarowski S., 1971), продуктам деградации фибриногена — ПДФ (Балуда В.П. и др., 1982), концентрации антитромбина III — АТ III (Hensen A., 1963), фибриногена — ФГ (Рутберг Р.А., 1961), лизису эуглобулинов — ЛЭ (Kewarzik H., Buluk K., 1954).

Результаты исследования обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента-Фишера и корреляционного анализа результатов.

Как следует из полученных нами данных (табл.1,2) системы ПОЛ, гемостаза и антиоксидантная обеспеченность организма в большинстве обследуемых групп

были функционально дифференцированы в зависимости от этапа формирования патологии и от сезона года. У практически здоровых людей в летне-осенний период отмечена меньшая активность свертывающей системы крови, чем в зимне-весенний. Слабее были выражены и процессы ПОЛ. Это может обуславливаться особенностями питания (относительный гиповитаминоз и повышенная калорийность пищи в холодное время года), различиями в физической активности, уровнях потребления кислорода, ультрафиолетового облучения и т.д. [3,5,27].

При возникновении ситуации угрозы развития заболевания (I этап) нами были отмечены гиперкоагуляционные сдвиги, особенно выраженные в холодное время года. У части наблюдаемых в крови выявлялись маркеры ДВС-синдрома, что свидетельствует о формировании тромбов в микрососудах, в частности, легких [5,11,26].

ПОЛ на изучаемом этапе развития ХНЗЛ было усилено в течение всего года, а антиоксидантная обеспеченность сохранялась более высокой в летне-осенний период.

Из литературных источников [3,5,23] известно, что продукты ПОЛ являются одними из пусковых механизмов активации системы гемостаза, особенно его тромботического звена с их мембранотропным повреждающим действием, что способствует тромбообразованию.

Эти процессы принимают участие в формировании синдрома гиперреактивности бронхов [12,19,23], нару-

Т а б л и ц а 2

Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система у практически здоровых людей и лиц на этапах формирования ХБ и БА в различные сезоны года

Изучаемые показатели	Здоровые	Этапы формирования ХНЗЛ					
		I	II		III		IV
			ПБ	ПА	ХБ	БА	
ПГЭ, %	4,8±0,43	4,3±0,24 ^у	5,4±0,23 ^у	4,1±0,58	3,9±0,29 ^у	4,4±0,39	6,7±0,45
	3,8±0,33 ^х	3,4±0,19 ^у	4,8±0,31 ^у	2,5±0,42 ^х	3,7±0,35 ^у	4,7±0,35 ^у	6,4±0,56 ^у
МДА, мкм/л	1,5±0,16	2,7±0,16 ^у	2,9±0,24 ^у	2,0±0,39	2,4±0,16	2,1±0,17	4,1±0,37
	0,4±0,03 ^х	2,2±0,19 ^{ху}	2,2±0,32 ^х	1,5±0,42 ^у	2,0±0,14 ^х	1,2±0,27 ^{ху}	4,6±0,58 ^у
ДК, мкм/л	51,3±1,48	65,3±1,38 ^у	70,6±1,01	64,5±7,11	66,4±2,01	69,3±5,69	87,3±3,36
	57,1±7,35	62,1±1,39 ^у	68,2±3,81	62,5±4,32	69,0±1,25	69,0±3,45	81,2±4,38 ^у
АК, ед.	2,6±0,23	2,4±0,14	2,2±0,16	2,5±0,26	2,0±0,12	2,7±0,11	1,6±0,18
	2,6±0,26	2,8±0,12	2,2±0,20	2,8±0,21	2,1±0,22	2,2±0,18 ^х	1,7±0,19 ^у
СОД, ед.	1,1±0,17	1,2±0,08	0,9±0,06 ^у	1,2±0,24	1,1±0,08	1,2±0,14	0,8±0,08
	1,5±0,19 ^х	1,2±0,11	1,1±0,13	1,2±0,31	1,1±0,08	1,0±0,08	0,8±0,14 ^у
ЦП, мг/л	120,7±9,59	127,2±4,75	120,8±6,71	144,7±23,24	144,6±9,95	148,2±11,29	106,8±8,49
	137,6±6,35	124,8±7,07	141,4±12,23	154,±11,3 ^у	122,2±12,02	123,7±13,5	95,1±5,61 ^у
СОД/МДА	0,7	0,4	0,3	0,6	0,5	0,6	0,2
	3,8	0,5	0,5	0,8	0,6	0,8	0,2
ЦП/МДА	80,53	47,1	41,7	72,4	60,2	70,6	26,0
	34,0	56,7	64,3	102,9	61,1	103,1	20,7

шают соотношения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования [15] и таким образом создают предпосылки для формирования II этапа развития ХБ и БА — предболезни (ПБ и ПА).

У лиц с ПБ нами установлено отсутствие сезонных различий в функционировании системы гемостаза, тогда как активность ПОЛ была относительно снижена в теплое время года, а антиоксидантная обеспеченность — повышена. При сопоставлении активности изучаемых систем у лиц, относящихся к I и II этапам формирования ХБ и БА, нами было установлено, что в зимне-весенний период в группе лиц с ПБ и ПА нарастает относительный дефицит антикоагулянтов (см. табл.1), а летне-осенний — активность прокоагулянтного звена свертывающей системы крови. При рассмотрении динамики изменений в системе ПОЛ—антиоксиданты (см.табл.2) нами отмечалось в зимне-весенний период года увеличение синтеза диеновых конъюгатов и уровня ПГЭ, что свидетельствовало об активации ПОЛ, и снижение активности СОД. В летне-осенний период различия в антиоксидантной обеспеченности между группами риска и ПБ были незначительными, а антиоксидантная система у наблюдаемых с ПБ даже проявляла тенденцию к усилению. Полученные данные позволяют полагать, что механизм формирования основных патофизиологических синдромов ПБ в различные сезоны года неоднороден: в летне-осенний сезон большую роль играют коагуляционные нарушения, а в зимне-весенний на фоне относительной антиоксидантной недостаточности развивается синдром гиперлипопероксидации. Это позволяет рекомендовать дифференцировать профилактические мероприятия в зависимости от времени года.

У лиц с ПА зафиксирована гиперкоагулемия, возрастающая в летне-осенний период, тогда как максимум активности ПОЛ приходился на холодное время года и развивался на фоне большей антиоксидантной недостаточности. Существенных различий в функционировании изучаемых систем в зависимости от инфекционного или атопического варианта ПА нами выявлено не было.

При сопоставлении систем ПОЛ и гемостаза в зависимости от этапа формирования патологии (I—IV) с группой риска (I) было установлено, что интенсивность ПОЛ у лиц с ПА (II) ниже, а антиоксидантная обеспеченность выше, что, однако, не замедляло прогрессирования коагуляционных расстройств, которые в этой ситуации, очевидно, приобретают самостоятельное патогенетическое значение.

Хроническое внутрисосудистое свертывание крови (ДВС-синдром) является облигатным признаком большинства хронически протекающих болезней человека.

На этапе развернутой клинической картины болезни (III) у обследованных нами больных ХБ независимо от сезона года выявлялась гиперкоагулемия, максимально выраженная в зимне-весенний период. Наличие синдрома бронхиальной обструкции и начальной дыхательной недостаточности способствовало прогрессированию ДВС-синдрома и снижению пула антикоагулянтов (см. табл.1). Функциональное состояние

системы ПОЛ—антиоксиданты изменялось аналогично (см. табл.2).

Для выяснения особенностей формирования патологических сдвигов в изучаемых системах мы, как и на предыдущих этапах, сопоставляли их активность с аналогичными показателями у лиц с ПБ (II). При этом было установлено, что в холодное время года свертывающая активность крови в этих группах была близка, тогда как в летне-осенний период преобладала у больных ХБ (III). Активность ПОЛ у этих больных не зависела от сезона года и была несколько ниже, чем у лиц с ПБ (II), а антиоксидантная обеспеченность — выше.

Таким образом, трансформация ПБ (II) в ХБ (III) сопровождается усилением активности свертывающей системы крови в летне-осенний период года, а повышение антиоксидантной обеспеченности является, вероятно, саногенетической реакцией. Близость параметров этих систем в холодное время года определяет в известной степени пути трансформации ПБ в ХБ.

Как и у больных ХБ, у больных БА выявлялось заметное повышение активности свертывающей системы крови. Различия в выраженности функционирования этой системы между здоровыми (I) и больными БА (III) были большими в летне-осенний период года, а межсезонные внутригрупповые сопоставления не выявляли существенных различий (см. табл.1). Интенсивность ПОЛ у больных БА, как и в остальных группах наблюдения, была ниже в летне-осенний период, а антиоксидантная обеспеченность — выше.

При сопоставлении активности свертывающей системы крови больных ПА (II) и БА (III) (все сопоставления выполнялись в зависимости от варианта течения процесса) нами было установлено, что развитие БА сопровождается гиперкоагулемией, преобладающей в холодный период года. Относительное усиление гемостаза было характерным для инфекционного варианта БА, а уровень ПОЛ больных с этим вариантом ПА (II) и БА (III) был близок. При обследовании больных с атопическим вариантом течения болезни (III) он преобладал у лиц с ПА (II).

На завершающем этапе (IV) при развитии ХОБЛ отмечалось независимое от времени года усиление активности свертывающей системы крови с наличием маркеров ДВС у всех обследованных больных (I—IV). Пул антикоагулянтов резко снижался, угнеталась и фибринолитическая активность крови. ПОЛ достигал максимума, а антиоксидантная обеспеченность была минимальной. Сезонная детерминированность этих изменений также отсутствовала.

При выполнении корреляционного анализа нами установлено, что у практически здоровых людей имели место корреляции между отдельными показателями изучаемых систем. (Все приведенные показатели достоверны при $p < 0,05$). Так, скорость ЛЭ коррелировала с ПГЭ ($r = 0,4$) и ЦП ($r = 0,4$). Величина ТВ связана с уровнем СОД ($r = 0,3$). Рост МДА отрицательно коррелировал с антикоагулянтными свойствами крови. Отмечалось укорочение ТВ ($r = 0,5$), ПВ ($r = 0,3$), тогда как активность каталазы сопровождала

лась удлинением КВ ($\chi=0,4$). Полученные данные позволяют считать, что у этой группы людей усиление процессов ПОЛ и снижение активности антиоксидантных ферментов сопровождаются ростом прокоагулянтных свойств крови и снижением пула антикоагулянтов. В ситуации угрозы (I) процесс носил компенсированный характер. Это подтверждалось обратной корреляцией между содержанием ДК и ПТ ($\chi=-0,4$) и прямой корреляцией между АК, СОД и КВ, КеВ ($\chi=0,4$, $\chi=0,5$ соответственно). Сохранялся этот характер патологического процесса на этапе ПБ (II). При этом рост концентрации ДК сопровождался удлинением АПТВ, ВР, ТВ ($\chi=0,3$), ЛЭ ($\chi=0,5$). Однако усиление ПГЭ сопровождалось ростом количества ЦДФ ($\chi=0,3$). Это свидетельствовало о том, что компенсация приобрела неустойчивый характер. У лиц с ПА (II) нами было отмечено определенное истощение компенсаторных механизмов независимо от генеза заболевания (атопического или инфекционного). Это подтверждалось тем, что рост МДА отрицательно коррелировал с продолжительностью КВ и ЛЭ ($\chi=-0,4$), а увеличение ДК — с продолжительностью ПВ ($\chi=-0,4$) и положительно — с количеством ПДФ ($\chi=0,3$) и показателями ПТ ($\chi=0,4$), концентрацией ФГ ($\chi=0,4$). В то же время сохранялись определенные компенсаторные реакции: рост активности каталазы и ЦП коррелировал с продолжительностью КВ ($\chi=0,4$), ПВ и АПТВ ($\chi=0,3$). Эта стадия формирования БА (III) соответствует субкомпенсированному патологическому процессу. У больных ХБ (III) отмечено дальнейшее истощение компенсации систем, выраженность этого зависела от наличия бронхиальной обструкции и проявлений дыхательной недостаточности (ДН). У больных необструктивной формой ХБ сохранялись некоторые компенсаторные механизмы, в частности рост МДА сопровождался увеличением активности СОД ($\chi=0,5$) и ускорением фибринолиза ($\chi=0,4$). При наличии синдрома бронхиальной обструкции и ДН исчезала корреляция между МДА и СОД и появлялась отрицательная с АК ($\chi=-0,3$). У больных БА независимо от генеза патологии изучаемые системы функционировали декомпенсированно. Рост МДА сопровождался уменьшением АК ($\chi=0,4$) и ЦП ($\chi=0,3$), а также усилением признаков коагулопатии: укорочением АПТВ ($\chi=-0,5$), КВ ($\chi=-0,4$), повышением концентрации ФГ ($\chi=0,4$) и показателя ЭТ ($\chi=0,8$). Финальный этап развития ХНЗЛ (IV) протекал на фоне декомпенсации адаптационно-компенсаторных механизмов в изучаемых системах. Рост МДА и ДК сопровождался угнетением ферментов антиоксидантной системы — АК ($\chi=-0,5$), СОД ($\chi=-0,7$), ЦП ($\chi=-0,6$), и развитием синдрома ДВС — удлинением ТВ ($\chi=0,6$), ростом ЭТ ($\chi=0,5$), ПТ ($\chi=0,6$) и концентрации ПДФ ($\chi=0,7$).

Полученные данные позволили сделать следующие выводы:

1. Формирование ХБ и БА сопровождается нарастающей активацией свертывающей системы крови, ослаблением ее антикоагуляционных свойств, достигающих максимума у больных с облигатными осложнениями этих заболеваний.

2. Процессы ПОЛ изменяются фазно, усиливаясь при возникновении ситуации угрозы развития заболевания и несколько уменьшаясь на этапах предболезни и болезни. Развитие ХОБЛ сопровождается максимальной активацией ПОЛ и уменьшением активности антиоксидантных ферментов.

3. Относительное ослабление процессов ПОЛ и рост антиоксидантной обеспеченности на этапах предболезни и клинически манифестированных этапах, являясь саногенетической реакцией, не сопровождаются адекватной реакцией коагуляционного гемостаза, что может обуславливать прогрессирование микроциркуляторных расстройств, играющих важную роль в генезе формирования хронической бронхолегочной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авилова О.М. Изучение первичной инвалидности населения по материалам г.Киева // Эпидемиология неспецифических заболеваний легких и организация пульмонологической помощи в СССР / Под ред. В.И.Тыщевского. — Л., 1980. — С.24.
2. Ашанина Е.Э. Клинико-биохимические особенности обструктивных заболеваний легких, осложненных дыхательной недостаточностью и их лечение с применением антиоксидантов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 1992.
3. Воскресенский О.Н. Витамины — антиоксиданты и системность биологического ингибирования перекисного окисления липидов и биополимеров // Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии. — М., 1981. — С.6—9.
4. Горбенко П.П., Дубинская А.В., Александрова Н.И. Диагностика хронического бронхита на начальном этапе его развития // Актуальные вопросы диагностики и лечения хронического бронхита. — Л., 1989. — С.8—15.
5. Гольденберг Ю.М. Перекисное окисление липидов и гемостаз на этапах формирования основных форм хронических неспецифических заболеваний легких и коррекция нарушений (клинико-экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 1993.
6. Гладков Ю.Г., Ефимов В.В., Ходош Э.М. и др. Оксидантно-антиоксидантная система и лейкотриены у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких в динамике лечения // Пульмонология. — 1992. — Приложение 4. — № 394.
7. Жигульская Е.С., Бурлачук В.Т., Орехова Т.В. и др. Оценка перекисного окисления липидов у больных с дыхательной недостаточностью, осложнившей хронический бронхит // Там же. — № 399.
8. Игнатьев В.А. Формирование дыхательной недостаточности при хронических обструктивных заболеваниях легких, пути и возможности лечения больных: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — СПб., 1993.
9. Кокосов А.Н. Хронический бронхит. Этапы развития, перспективы профилактики // Тер. арх. — 1986. — № 6. — С.80—83.
10. Коблашова Н.А., Кудерская М.М., Комов В.В. и др. Параметры свободнорадикального статуса у больных ХНЗЛ // Пульмонология. — 1992. — Приложение 4. — № 402.
11. Лактионова И.Н. Состояние структурной гемокоагуляции у больных хроническим бронхитом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 1992.
12. Масуев К.А., Чучалин А.Г. Липиды клеточных мембран и гиперреактивность бронхов // Национальный конгресс по болезням органов дыхания, 4-й. — М., 1994. — № 73.
13. Мензаль Д. Роль свободных радикалов в токсичности примесей (оксидов азота и озона), загрязняющих атмосферу // Свободные радикалы в биологии: Пер. с англ. — М.: Мир, 1976. — Т.2. — С.201—224.
14. Редчиц И.В., Селихова Л.Г., Гольденберг Ю.М. и др. Антиоксидантная обеспеченность организма и заболеваемость бронхолегочной патологией // Охрана окружающей среды и здоровья. — Полтава, 1986. — С.92—93.

15. Сейланов А.С., Попов Т.А., Конев В.В. Связь перекисного окисления липидов с дыханием и окислительным фосфорилированием // Журн. exper. и клин. мед.— 1983.— № 2.— С.108—112.
16. Селихова Л.Г. Антиоксидантная обеспеченность организма и свободнорадикальное окисление на этапах развития хронического бронхита и медикаментозная коррекция: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Л., 1988.
17. Субботина Т.Ф. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе и клиника бронхиальной астмы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Л., 1986.
18. Сыромятникова Н.В., Гончарова В.А., Котенко Т.В. Метаболическая активность легких.— Л.: Медицина, 1987.
19. Федосеев Г.Б., Жихарев С.С., Минеев В.В. Нарушения систем клеточной регуляции как основа изменений реактивности бронхов при бронхиальной астме // Тер. арх.— 1984.— № 12.— С.71—75.
20. Федосеев Г.Б., Хлопотова Г.П. Бронхиальная астма.— Л.: Медицина, 1988.
21. Франгулян Р.Р. Нарушения кислород транспортной функции эритроцитов у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких, осложненными дыхательной недостаточностью и их медикаментозная коррекция: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— СПб., 1992.
22. Agrawal D.K., Towley R.G. Effect of platelet-activating factor on beta-adrenoreceptors in human lung // Biochem. Biophys. Res. Commun.— 1987.— Vol.143, № 1.— P.1—6.
23. Greer Th.L. Psychological factor and death from asthma; Creations and critique of a myth // J. Asthma Res.— 1986.— Vol.23, № 5.— P.261—269.
24. Halliwell B. Free radicals and metalion in health and disease // Proc. Nutr. Soc.— 1987.— Vol.46, № 1.— P.13—16.
25. Fond R.N. Ethiology of Asthma: A continuing review (8071 cases seen from 1970—1980) // Ann. Allergy.— 1983.— Vol.50, № 1.— P.47—50.
26. Jablonska-Kasewska J., Krajewsska-Donaj B., Tyrankiewicz Z., Taskiewicz K. Wykrzepianie wewnatrznaczyniowe u chorych z zrzpoiem przewleklogo serca plucnego // Pol. Tyg. Lek.— 1976.— Vol.31, № 44.— P.1869—1871.
27. Suter T.F., Cheeseman K.N., Daries M.J., Proudfoot K., Xin W. Free radical mechanism in relation to tissue injury // Proc. Nutr. Soc.— 1987.— Vol.46, № 1.— P.1—12.

Поступила 18.10.93.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.233-002.2-085.272.4.015.2:546.23

С.А.Сюрин, А.А.Деревоедов, В.П.Петреян

АНТИОКСИДАНТНАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ БРОНХИТОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОЭЛЕМЕНТА СЕЛЕНА

Научная группа НИИ пульмонологии МЗ РФ при МСЧ комбината "Североникель",
г.Мончегорск

ANTIOXIDANT THERAPY WITH SELENIUM USE IN PATIENTS WITH CHRONIC BRONCHITIS

S.A.Surin, A.A.Derevoedov, V.P.Petreian

S u m m a r y

Parameters of peroxide lipid oxidation (PLO) and enzyme antioxidant defense were studied in 100 patients with chronic bronchitis (CB) and 35 healthy persons. The activation of PLO processes and the antioxidant defense enzyme activity decrease were found in CB patients in comparison with healthy persons. There was shown the correction possibility of the mentioned impairments by means of antioxidant treatment complex including sublingual medication of selenium in dose of 2—2.5 µg per one body weight kilogramm.

Р е з ю м е

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной ферментной защиты изучены у 100 больных хроническим бронхитом (ХБ) и 35 здоровых лиц. Выявлены активация процессов ПОЛ и снижение активности ферментов антиоксидантной защиты у больных ХБ по сравнению со здоровыми лицами. Показана возможность коррекции указанных нарушений с помощью комплекса антиоксидантов, включающего сублингвальный прием микроэлемента селена в дозе 2—2,5 мкг на килограмм массы тела.

Клинико-экспериментальными исследованиями показана важная патогенетическая роль процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в развитии бронхолегочных заболеваний [3,5,7]. Известно, что продукты ПОЛ способны провоцировать бронхоспастические реакции, поддерживать воспаление, усугублять функциональную недостаточность иммунокомпетентных клеток [2,8].

Приведенные данные служат основанием для включения в лечебный комплекс различных препаратов с антиоксидантным действием [9].

Интерес к возможности клинического использования селена, входящего в состав активного центра фермента глутатионпероксидазы, объясняется тем, что по экспериментальным данным его антиокисли-

Таблица 1

Клиническая характеристика обследованных больных

Характеристика больных	Группа 1 n=32	Группа 2 n=34	Группа 3 n=34
Пол			
М	14	14	19
Ж	18	20	15
Средний возраст, лет	42,9	47,9	48,2
Клинико-функциональная форма ХБ			
необструктивная	8	10	7
необструктивная, нестабильный вариант	15	14	20
обструктивная	9	10	7
Фаза заболевания			
неполная ремиссия	29	32	31
обострение	3	2	3
Степень вентиляционной недостаточности			
ВН ₀	8	12	9
ВН ₁	16	11	17
ВН ₂	7	10	7
ВН ₃	1	1	1

тельные свойства в 50—500 раз выше, чем у широко применяемого токоферола [4,6]. Перспективным представляется использование селена в сочетании с аскорбиновой кислотой и токоферолом за счет взаимного потенцирования их действия: аскорбиновая кислота предупреждает окисление и инактивацию в организме токоферола, который в свою очередь препятствует окислению селена [1]. Важно отметить, что в предлагаемой композиции сочетается также два механизма антиоксидантного действия: элиминация уже образовавшихся свободных радикалов селенсодержащей глутатионпероксидазой и предупреждение их появления токоферолом и аскорбиновой кислотой [10].

Цель данной работы заключалась в изучении влияния комплексов антиоксидантов, включая микроэлемент селен, на процессы ПОЛ у больных хроническим бронхитом (ХБ).

Проведено обследование 35 здоровых лиц (доноров) и 100 больных ХБ (всего 72 мужчины и 63 женщины), средний возраст которых составил 46,4 года. Необструктивная форма заболевания была у 25, необструктивная форма функционально нестабильный вариант — у 49 и обструктивная — у 26 больных. В фазе неполной ремиссии бронхолегочный процесс был у 92 и в фазе обострения — у 8 обследованных больных. Средняя длительность заболевания составила 7,9 года.

Для решения поставленной задачи методом рандомизации были выделены три группы больных ХБ, полностью сопоставимых по полу, возрасту, клинико-функциональной форме и тяжести заболевания (табл. 1).

В 1-й группе с целью коррекции нарушений процессов ПОЛ применялось сочетание аскорбиновой кислоты, токоферола и селена ("Способ лечения бронхита",

авторское свидетельство № 1780749 от 15 августа 1992 г.).

Во 2-й группе использовалось сочетание аскорбиновой кислоты и токоферола, в 3-й антиоксидантная терапия не проводилась. Аскорбиновая кислота и токоферол принимались ежедневно перорально соответственно в дозах 500 и 50 мг. Селен назначался сублингвально в виде капель 0,25% раствора селенисто-кислого натрия из расчета 2—2,5 мкг селена на 1 кг массы тела, что соответствует физиологической норме его потребления с пищей. Длительность приема антиоксидантов составляла 14—16 дней. Общий для всех трех групп лечебный комплекс включал ингаляционную терапию, физиотерапию, отхаркивающие, антибактериальные и биостимулирующие препараты по показаниям.

Состояние процессов ПОЛ до и после курса лечения оценивали по содержанию первичных продуктов окисления (диеновые конъюгаты и диеновые кетоны), определявшихся спектрофотометрически после экстракции гептаэтилопропанольной смесью при 232 и 273 нм соответственно. Количество вторичных продуктов окисления (гидроперекиси липидов) исследовали по методике Asakawa, Metsushita без добавления в инкубационную среду ионола. Результаты относили к 1 мл сыворотки или 1 мг общих липидов, определенных реакцией с фосфованилиновым реактивом. Содержание β-липопротеидов сыворотки крови определяли по методу Бурштейн и Самай. Активность церулоплазмينا сыворотки крови изучали методом Ревина в модификации Колб и Камышников.

Таблица 2

Показатели ПОЛ и антиоксидантной защиты у здоровых и больных ХБ ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые (доноры) n=35	Больные ХБ n=100	p
Общие липиды, л/г	6,40±0,20	7,67±0,27	<0,01
β-липопротеиды, усл.ед.	35,7±4,20	67,6±3,70	<0,001
Диеновые конъюгаты,			
Д 232/мл	1,33±0,09	2,54±0,15	<0,001
Д 232/мг	0,20±0,017	0,38±0,038	<0,001
Диеновые кетоны,			
Д 273/мл	0,20±0,03	0,35±0,03	<0,001
Д 273/мг	0,031±0,005	0,050±0,006	<0,02
Гидроперекиси липидов,			
нМ МДА/мл	264,±12,5	269,3±10,9	>0,5
нМ МДА/мг	39,9±1,6	36,3±2,0	>0,1
Церулоплазмин, мг/л	261,7±9,80	351,4±13,6	<0,001
Каталаза,			
мМ/л Н.с	148,8±3,90	141,9±4,70	>0,2
мМ/г Н.с	1,11±0,03	0,98±0,03	<0,02
Пероксидаза,			
мМ/л Н.с	0,40±0,03	0,43±0,03	>0,2
мМ/г Н.с	3,20±0,18	3,04±0,18	>0,2

Для оценки антиоксидантного статуса определяли активность каталазы (по Королюк) и пероксидазы в эритроцитах по уровню окисления индиготетрасульфоната калия. Обеспеченность организма аскорби-

Т а б л и ц а 3

Динамика показателей ПОЛ и антиоксидантной защиты у больных ХБ ($M \pm m$)

Показатели	1-я группа n=32	2-я группа n=34	3-я группа n=34
Общие липиды, г/л	$7,67 \pm 0,27$ $8,09 \pm 0,26$	$8,04 \pm 0,27$ $7,49 \pm 0,26$	$7,40 \pm 0,28$ $7,68 \pm 0,27$
β -липопротеиды, усл.ед.	$67,6 \pm 3,70$ $65,4 \pm 3,80$	$68,1 \pm 3,90$ $65,1 \pm 3,70$	$59,0 \pm 2,60$ $66,7 \pm 3,00$
Диеновые конъюгаты,			
Д 232/мл	$2,54 \pm 0,15$ $2,38 \pm 0,18$	$2,60 \pm 0,11$ $2,70 \pm 0,14$	$2,19 \pm 0,11$ $2,34 \pm 0,13$
Д 232/мг	$0,38 \pm 0,04^*$ $0,28 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,02^*$ $0,38 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,02$ $0,32 \pm 0,02$
Диеновые кетоны,			
Д 273/мл	$0,35 \pm 0,03$ $0,33 \pm 0,04$	$0,45 \pm 0,04$ $0,46 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,04$ $0,37 \pm 0,004$
Д 273/мг	$0,05 \pm 0,006$ $0,046 \pm 0,005$	$0,058 \pm 0,006$ $0,066 \pm 0,006$	$0,037 \pm 0,003$ $0,049 \pm 0,005$
Гидроперекиси липидов,			
нМ МДА/мл	$269,3 \pm 10,90$ $273,7 \pm 12,5$	$314,9 \pm 9,90$ $314,2 \pm 11,70$	$285,6 \pm 9,90$ $286,7 \pm 11,4$
нМ МДА/мг	$36,3 \pm 2,00$ $43,1 \pm 1,50$	$38,4 \pm 1,30^*$ $42,5 \pm 1,40$	$37,6 \pm 2,10$ $38,3 \pm 1,70$
Церулоплазмин, мг/л	$350,1 \pm 13,1$ $331,7 \pm 11,7$	$329,4 \pm 13,8$ $330,9 \pm 14,1$	$345,7 \pm 13,9$ $339,9 \pm 12,8$
Каталаза,			
мМ/л Н-с	$141,9 \pm 4,70$ $142,5 \pm 3,10$	$143,0 \pm 3,40$ $132,9 \pm 4,40$	$139,3 \pm 3,90$ $142,4 \pm 5,50$
мМ/г Н-с	$0,983 \pm 0,029$ $1,013 \pm 0,02$	$1,013 \pm 0,018$ $0,957 \pm 0,027$	$0,975 \pm 0,039$ $1,027 \pm 0,046$
Пероксидаза,			
мМ/л Н-с	$0,433 \pm 0,026$ $0,467 \pm 0,036$	$0,374 \pm 0,022$ $0,336 \pm 0,023$	$0,425 \pm 0,021$ $0,439 \pm 0,04$
мМ/г Н-с	$3,04 \pm 0,18$ $3,51 \pm 0,23$	$2,56 \pm 0,14$ $2,27 \pm 0,14$	$2,88 \pm 0,13$ $2,91 \pm 0,19$
Лингвальный тест, с	$36,4 \pm 4,2^*$ $26,0 \pm 3,1$	$32,1 \pm 3,1$ $29,7 \pm 2,8$	$35,5 \pm 3,3$ $32,2 \pm 3,6$

П р и м е ч а н и е. В числителе данные до лечения, в знаменателе — после лечения. * — достоверность различия показателей ($p < 0,05$).

Т а б л и ц а 4

Направленность сдвигов показателей ПОЛ и антиоксидантной защиты у больных ХБ на этапе восстановительного лечения (% от исходного уровня)

Показатели	1-я группа n=32	2-я группа n=34	3-я группа n=34	p_1	p_2	p_3
Диеновые конъюгаты, Д 232/мг	73,8	118,8	110,6	<0,01	<0,01	>0,2
Диеновые кетоны, Д 273/мг	92	113,8	132,4	<0,05	<0,01	<0,05
Гидроперекиси липидов, нМ МДА/мг	93,9	110,7	101,9	<0,05	>0,1	>0,2
Церулоплазмин, мг/л	94,7	100,5	98,3	>0,5	>0,5	>0,5
Каталаза, мМ/г Н-с	103,1	94,5	105,3	>0,1	>0,5	>0,5
Пероксидаза, мМ/г Н-с	115,4	88,7	101,0	<0,02	<0,05	>0,05
Лингвальный тест, с	71,4	89,5	92,7	<0,02	<0,05	>0,5

П р и м е ч а н и е. p_1 — достоверность различия между 1-й и 2-й группами, p_2 — между 1-й и 3-й группами, p_3 — между 2-й и 3-й группами.

новой кислотой оценивали по лингвальному тесту с краской Тильманса.

Исходное состояние процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты у больных ХБ, по сравнению со здоровыми лицами, характеризовалось повышением уровня общих липидов, β -липопротеидов и первичных продуктов ПОЛ на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты. Возрастала также активность церулоплазмينا, что соответствует его функции типичного острофазового белка (табл.2).

Изменения показателей ПОЛ, произошедшие в результате проведенного лечения, представлены в табл.3. У больных 1-й группы отмечалась тенденция к снижению активности ПОЛ, причем уровень диеновых конъюгатов (Д 232/мг) уменьшился достоверно. С другой стороны, выявлена тенденция к повышению активности ферментов антиоксидантной защиты и по данным лингвального теста существенно увеличилась обеспеченность организма аскорбинатом.

У больных 2-й и 3-й группы после проведенного лечения в целом выявилась тенденция к активации процессов ПОЛ, о чем свидетельствовало повышение уровней диеновых конъюгатов (Д 232/мг) и гидроперекисей липидов (нМ МДА/мг) во 2-й группе и диеновых кетонов (Д 273/мг) в 3-й. Существенной динамики активности антиоксидантных ферментов не отмечалось.

Направленность сдвигов основных показателей ПОЛ и антиоксидантной защиты в сравниваемых группах больных показаны в табл.4. В 1-й группе характер

изменения уровней диеновых конъюгатов и кетонов, активности пероксидазы и насыщенности организма аскорбинатом достоверно отличался от изменений во 2-й и 3-й группах. Включение в лечебный комплекс микроэлемента селена привело к снижению неадекватно активированных процессов ПОЛ, преимущественно на этапе образования первичных продуктов ПОЛ, и повышению исходно сниженной активности антиоксидантного фермента пероксидазы. Во 2-й и 3-й группах благоприятная динамика изучавшихся показателей отсутствовала.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об активации процессов ПОЛ и угнетении активности ферментов антиоксидантной защиты у больных ХБ по сравнению со здоровыми лицами. Применение физиологических доз микроэлемента селена в сочетании с традиционными антиоксидантами позволяет достигнуть снижения уровня свободнорадикального окисления и повышения активности антиоксидантных ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаев Г.Б., Мехтиев М.А., Садыков С.Т. и др. // Материалы по биохимии витамина Е и селена и их применению в медицине и животноводстве.— Киев, 1973.— С.4—5.
2. Александров О.В., Лурье Б.Л., Гноевых В.В. и др. // Пульмонология.— 1992.— № 3.— С.13—16.
3. Аматауни В.Г., Сафарян М.Д. // Журн. exper. и клин. мед.— 1982.— № 5.— С.414—418.
4. Губенко Г.А., Позрибный И.П. // Укр. биохим. журн.— 1985.— № 6.— С.51—55.
5. Клейнер А.И., Колодуб Ф.А., Кашкалда Д.А. // Врач. дело.— 1990.— № 6.— С.98—100.
6. Петрович Ю.Л., Подорожная Р.П. // Успехи соврем. биол.— 1987.— № 2.— С.323—325.
7. Пилипчук С.Н. // Врач. дело.— 1988.— № 8.— С.62—67.
8. Политова Л.Н., Ульянова Г.И., Аноненко А.А., Гранова Л.В. // Биоантиоксидант.— Черноголовка, 1986.— Т.2.— С.82—83.
9. Редчиц И.В., Селихова Л.Г., Гольденберг Ю.М. и др. // Укр. биохим. журн.— 1978.— № 5.— С.659—671.

Поступила 21.03.94.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616-008.92

А.В.Бизюкин, С.К.Соодаева

НОВЫЙ МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА ФАГОЦИТИРУЮЩИХ КЛЕТОК

НИИ пульмонологии, Москва

NEW TECHNIQUE FOR PHAGOCYTE OXYGEN METABOLISM STUDY

A.V.Bizukin, S.K.Sohodajeva

Summary

The use possibility of vital fluorochromes like 2,7-dichlorofluorescein acetate, dihydrorhodamine, and hydroethidine was discussed to study phagocyte oxygen metabolism. The sensitivity of the fluorochromes to reactive oxygen species (ROS) was studied in model radical producing systems. The data about interaction in molar ratio 1:1 between superoxide radical and hydroethidine were obtained. The fluorochrom sensitivity to proteins, phospholipids, DNA, and pH was studied to estimate the artefact probability. Correlation between extra- and intracellular productions of ROS in peritoneal and alveolar macrophages and polymorphonuclear leukocytes was evaluated. Possible mechanisms and the result valuability are discussed.

Резюме

Обсуждается возможность использования витальных флюорохромов 2,7-дихлорфлюоресциндацетата, дигидрородамина 123 и гидроэтидина для изучения окислительного метаболизма фагоцитирующих клеток. Изучена чувствительность данных красителей к активным формам кислорода (АФК) в модельных системах. Получены данные, что с супероксидными радикалами гидроэтидин взаимодействует в молярном соотношении 1:1. Для оценки вероятности получения ложноположительных результатов была исследована чувствительность флюорохромов к белкам, фосфолипидам, ДНК и изменению pH. Измерено соотношение вне- и внутриклеточной продукции АФК в перитонеальных, альвеолярных макрофагах и полиморфно-ядерных лейкоцитах. Обсуждаются возможные механизмы и значимость полученных результатов.

Фагоцитирующие клетки играют важную роль в патогенезе многих заболеваний. С изменением активности свободнорадикальных процессов этих клеток связаны такие патологии, как воспаление, пневмокониозы, фиброз, аутоиммунные состояния, канцерогенез и др. [4,5]. Поэтому интерес к изучению свободнорадикального статуса фагоцитов сегодня проявляют врачи самых разных специальностей. Это одно из перспективных направлений современной медицины.

Традиционно полагают, что основным источником активных форм кислорода (АФК) являются ферменты НАДФН-оксидаза, миелопероксидаза, циклокси- и липоксигеназы и дыхательная цепь митохондрий. Известно, что часть радикалов продуцируется внеклеточно, чем и объясняется цитотоксическая функция фагоцитов. Однако часть радикалов может продуцироваться и внутриклеточно за счет разобщения дыхательной цепи митохондрий или, возможно, ферментов эндоплазматического ретикулума (рис.1) [1].

Различные патологические состояния связаны как с гипо-, так и с гиперпродукцией АФК. Гипопродукция радикалов приводит к тому, что у пациента не развивается нормальный иммунный ответ. Гиперпродукция АФК может привести к повреждению ДНК, белков, липидов, а следовательно, и гибели самих клеток. Еще в 1991 г. у нас возник вопрос: какие АФК (продуцируемые внутри или наружу клетки) определяют развитие того или другого патологического состояния? В настоящее время большинство исследований окислительного метаболизма фагоцитов касается внеклеточной генерации АФК. Традиционные методы (спектрофотометрический по восстановлению цитохрома С или с помощью хемилюминесценции) позволяют изучать только внеклеточную продукцию АФК. Для измерения внутриклеточной генерации АФК используются флюоресцентные красители 2,7-дихлорфлюоресцин диацетат (ДХФН-ДА), дигидрорадамин 123 (ДГР-123) и гидроэтидин (ГЭ), способные проникать внутрь фагоцитов и окисляться там АФК, изменяя при этом свои флюоресцентные свойства [11,14] (рис.2).

Целью данного исследования явилась оценка возможностей использования флюорохромов ДХФН-ДА,

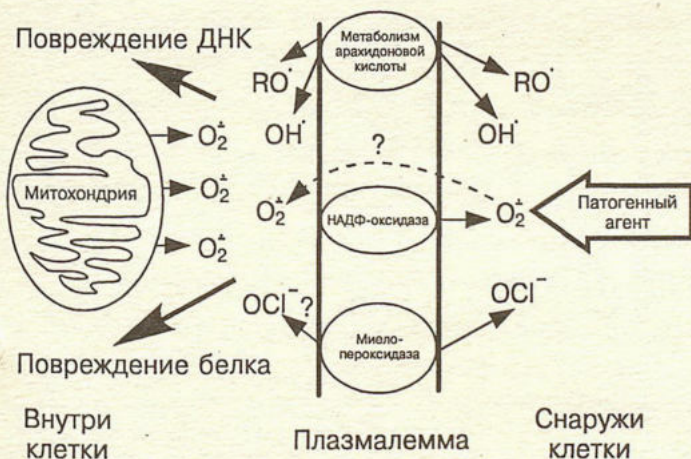


Рис.1. Продукция активных форм кислорода в фагоцитах.

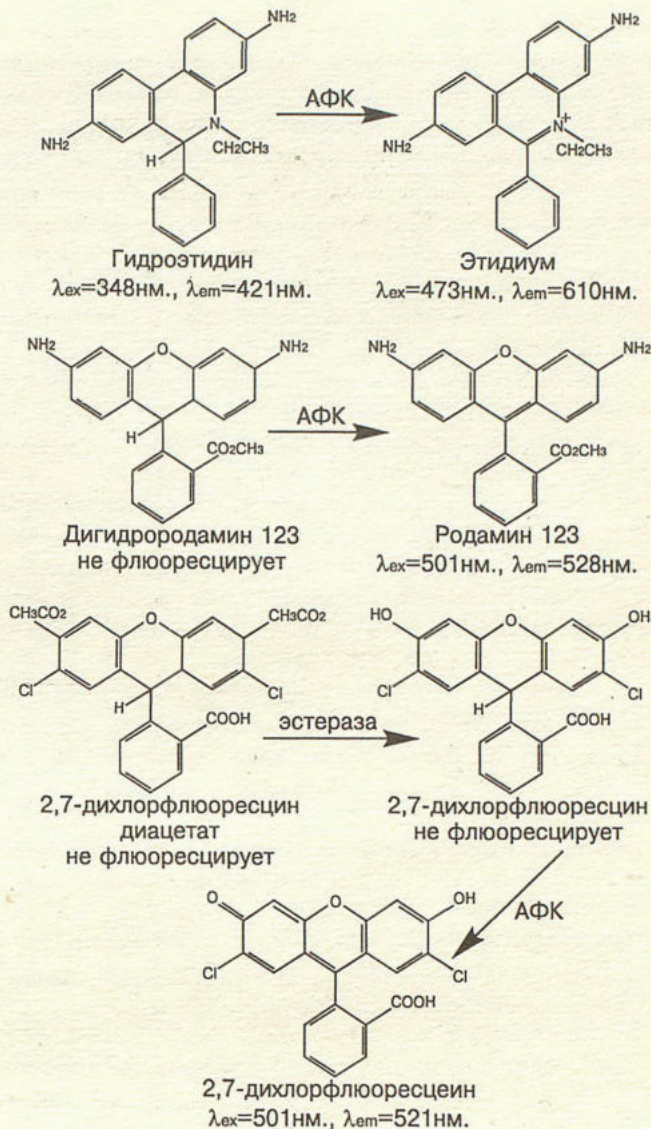


Рис.2. Схемы превращения флюоресцентных красителей после взаимодействия с активными формами кислорода.

ДГР-123 и ГЭ для сравнительного изучения роли вне- и внутриклеточной продукции АФК в окислительном метаболизме фагоцитирующих клеток.

Принцип метода измерения внутриклеточной продукции АФК основан на способности витальных флюорохромов ГЭ, ДХФН-ДА и ДГР-123 накапливаться внутри клеток и после взаимодействия с АФК превращаться, соответственно, в этидиум, 2,7-дихлорфлюоресцин (ДХФ) и родамин 123 (Р-123). Все красители были синтезированы и любезно предоставлены нам В.И.Алексеевой (НИИ органических полупродуктов и красителей). Маточные растворы флюорохромов были приготовлены в диметилформамиде и хранились при -18°C .

Превращение флюорохромов под воздействием свободных радикалов кислорода изучали в модельных системах: влияние гидроксильных радикалов ($\text{OH}^\cdot$) — в модифицированном реактиве Фентона [6], влияние супероксидных радикалов ($\text{O}_2^{\cdot-}$) — в ксантин-ксантинооксидазной реакции. Активность ксантинооксидазы определяли по образованию мочевиной кислоты [13]. В

контрольную пробу добавляли 20 мкг/мл супероксид-дисмутазы. Количество $O_2^{\cdot -}$ радикалов определяли по восстановлению цитохрома С из расчета, что одна молекула $O_2^{\cdot -}$ восстанавливает одну молекулу цитохрома С [12]. Источником синглетного кислорода служил раствор $NaOCl-H_2O_2$ [3]. Липосомы из суммарной фракции яичных фосфолипидов (0,1 мг/мл) получали по известной методике [8].

Перитонеальные, альвеолярные макрофаги и полиморфно-ядерные лейкоциты крови доноров выделяли общепринятым способом [9,10].

Для измерения внутриклеточной продукции АФК суспензию клеток в растворе Хенкса без фенолового красного (рН=7,4) инкубировали 15 минут с 10^{-4} М ГЭ, тщательно отмывали центрифугированием (5 мин. при 800 g и $+4^{\circ}C$) в 20-кратном избытке раствора Хенкса, окончательно ресуспендировали до концентрации 10^6 кл/мл и стимулировали форболиристат-ацетатом (ФМА). Образование этидиума из ГЭ в клетках регистрировали, измеряя интенсивность флюоресценции этидиума при длинах волн λ_{em} — 610 нм, λ_{ex} — 473 нм на спектрофлуориметре MPF-44 (Perkin-Elmer) в сантиметровых кварцевых кюветках, термостатированных при $37^{\circ}C$ и постоянном перемешивании [2].

Свойство ГЭ быстро проникать внутрь фагоцитов и очень медленно вытекать из них (только 4,5% красителя вытекает из клеток за один час инкубации) навело нас на мысль модифицировать этот метод и использовать ГЭ для измерения соотношения вне- и внутриклеточной продукции активных метаболитов кислорода в различных фагоцитирующих клетках.

Для сравнения вне- и внутриклеточной продукции АФК готовили две пробы клеток. Первая — нагруженные гидроэтидином фагоциты тщательно отмывали от избытка флюоресцентного красителя и затем стимулировали ФМА. Таким образом определяли только внутриклеточную генерацию АФК. Вторая проба содержала нагруженные ГЭ клетки, не отмывые от избытка красителя. Клетки активировали такой же концентрацией ФМА. При этом измеряли как внутри-, так и внеклеточную (т.е. суммарную) продукцию АФК. Величину внеклеточной продукции АФК получали вычитая из значения суммарной продукции величину внутриклеточной продукции радикалов [2].

На первом этапе работы требовалось выяснить, обладают ли исследуемые нами флюоресцентные красители специфической чувствительностью к какому-либо одному виду радикалов и возможно ли использовать их для количественного определения продукции АФК в клетках? Для того была изучена чувствительность флюорохромов: ГЭ, 2,7-ДХФ и ДГР-123 к АФК в модельных системах, продуцирующих только какой-либо один вид радикалов, а также к $NaOCl$. Определялось количество молекул красителя (в процентах), изменивших свои флюоресцентные свойства после взаимодействия с АФК. Начальная концентрация флюорохромов была 10^{-6} М. Концентрацию окисленной формы красителя определяли по калибровочной кривой, построенной по стандартным разведениям флюорохромов. Результаты представлены на

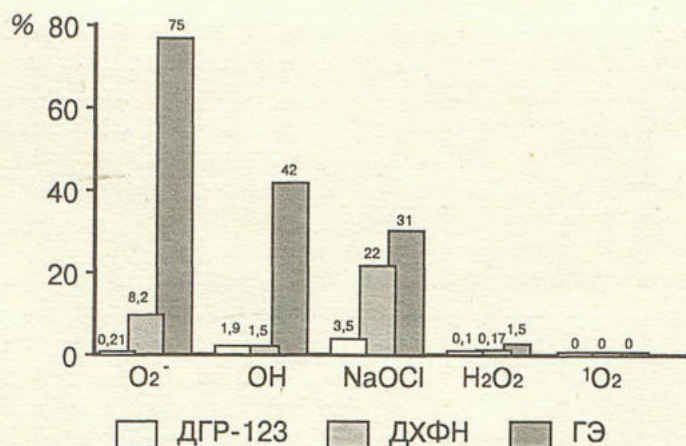


Рис.3. Сравнительная чувствительность 2,7-дихлорфлюоресцина, дигидрорамина-123 и гидроэтидина к активным формам кислорода, (ДГР-123 — дигидрорамина 123; ДХФН — 2,7-дихлорфлюоресцин; ГЭ — гидроэтидин; $O_2^{\cdot -}$ — супероксид анион-радикал; ОН — гидроксильный радикал; $NaOCl$ — гипохлорит Na; H_2O_2 — пероксид водорода; 1O_2 — синглетный кислород).

рис.3. Флюорохромы в использованных концентрациях не оказывали ингибирующего влияния на ксантиноксидазу.

Было также проанализировано сколько молекул $O_2^{\cdot -}$ превращает одну молекулу красителя во флюоресцирующую форму. Одну молекулу ДГР-123 превращает в родамин 370 молекул $O_2^{\cdot -}$, одну молекулу ДХФН в ДХФ — 15 молекул $O_2^{\cdot -}$, ГЭ взаимодействует с $O_2^{\cdot -}$ в молярном соотношении 1:1 (рис.4).

Чтобы оценить вероятность получения ложноположительных результатов было исследовано насколько специфичны использованные флюоресцентные зонды именно к АФК и не изменяют ли они свои люминесцентные свойства под влиянием каких-либо других клеточных факторов, отличных от АФК.

Установлено, что ДГР-123 может превращаться в Р-123 не только после контакта с АФК, но и при взаимодействии с полианионом — бычьим сыворо-



Рис.4. Соотношение между чувствительностью цит. С. к супероксидным радикалам и превращением гидроэтидина в этидиум в ксантин-ксантиноксидазной реакции: ксантиноксидаза — 2,5 ед. акт/мл; цит. С. окисл. — $5 \cdot 10^{-5}$ М; каталаза — 0,8 мг/мл; гидроэтидин — $3 \cdot 10^{-6}$ М; ксантин — $0,8 \cdot 10^{-6}$ М, $1,7 \cdot 10^{-6}$ М, $2,7 \cdot 10^{-6}$ М, $3,4 \cdot 10^{-6}$ М: в 50 мМ К-фосфатном буфере (рН=7,4).

Т а б л и ц а

Соотношение вне- и внутриклеточной продукции АФК в различных фагоцитирующих клетках, активированных ФМА

Фагоциты	Внутриклеточная генерация АФК, %	Внеклеточная генерация АФК, %
Перитонеальные макрофаги крыс	28±5	72±7
Альвеолярные макрофаги крыс	11±2	89±5
Нейтрофилы крови здоровых доноров	19±7	81±7

точным альбумином — БСА (0,5 мг/мл) и поликаатионом — протамин сульфатом (0,5 мг/мл). ДХФН способен превращаться в ДХФ в присутствии 0,1 мг/мл БСА. Протамин (0,5 мг/мл), ДНК (0,05 мг/мл) и липосомы не влияли на превращение ДХФН в ДХФ. Белки, ДНК, фосфолипиды и изменение рН от 4 до 8 не влияли на превращение ГЭ в этидиум. Таким образом, использование ДХФН-ДА и ДГР-123 может привести к получению ошибочных результатов. ГЭ лишен этих недостатков. Поэтому все дальнейшие исследования были сделаны с использованием именно этого люминофора.

Данные о соотношении вне- и внутриклеточной генерации активных метаболитов кислорода в альвеолярных и перитонеальных макрофагах крыс, а также в нейтрофилах крови здоровых доноров, полученные с использованием ГЭ, представлены в таблице. При активации различных типов лейкоцитов внутриклеточная генерация АФК составляет приблизительно 20% (11—28%). Внутриклеточная продукция АФК в фагоцитирующих клетках чувствительна к цианиду (NaCN). Так, в перитонеальных и альвеолярных макрофагах крыс, стимулированных ФМА, 3—5-минутное предварительное инкубирование клеток с 1 mM NaCN снижало внутриклеточную генерацию радикалов на 85±6% и 98±4%, соответственно. Аналогичная концентрация NaCN снижает внутриклеточную продукцию метаболитов кислорода в нейтрофилах, стимулированных ФМА, только на 47±5%. Неактивированные полиморфно-ядерные клетки на присутствие NaCN реагировали незначительным усилением спонтанной внутриклеточной генерации АФК. В перитонеальных макрофагах и нейтрофилах внеклеточная продукция АФК чувствительна к цианиду в меньшей степени, чем внутриклеточная. Так, предварительное инкубирование фагоцитов с 1 mM NaCN снижало внеклеточную генерацию радикалов в перитонеальных макрофагах на 20—40%, а в нейтрофилах крови здоровых доноров на 22±9%. Альвеолярные макрофаги в большей степени чувствительны к цианиду, внеклеточная генерация АФК снижается в них на 82—86%.

Среди использованных нами трех флуоресцентных красителей наиболее удобным для определения внутриклеточной генерации АФК оказался гидроэтидин.

Известно, что альвеолярные макрофаги являются наиболее выраженными аэробами с интенсивно работающими митохондриями, в то время как перитонеальные макрофаги — анаэробы с преобладанием гликолиза [7]. Разница в соотношении вне- и внутриклеточной продукции АФК в этих клетках, возможно, объясняется различиями в их окислительном метаболизме.

Значительная зависимость внутриклеточной генерации АФК от цианида подтверждает, что такие радикалы действительно образуются в цианидчувствительных системах, вероятнее всего, в митохондриях [1,5].

Реакция на цианид является также критерием качества данного метода. То обстоятельство, что внутриклеточная генерация АФК в большей степени чувствительна к NaCN, чем наружная, доказывает, что ГЭ проникает внутрь клеток, и превращение его в этидиум происходит внутри клетки.

Данный методический подход изучения соотношения вне- и внутриклеточной продукции АФК может быть полезным для более полного понимания механизмов генерации АФК при различных патологиях и найдет более широкое применение в клинической практике.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Афанасьев И.Б. Кислородные радикалы в биологических системах // Хим.—фарм. журн.—1985.— № 1.— С.11—23.
2. Бизюкин А.В., Ягмуров Б.Х., Тимофеев А.А., Соодаева С.К. Свободнорадикальные процессы на отдаленных сроках радиационного воздействия // Пульмонология.—1993.— № 3.— С.67—70.
3. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В., Осипов А.Н., Рошупкин Д.И. // Свободные радикалы в живых системах.— М., 1991.— С.9—19; 33—35; 168—172.
4. Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов.— М.: Высшая школа, 1989.— С.170—179.
5. Коркина Л.Г., Величковский Б.Т. Роль свободных радикалов кислорода в пылевой патологии легких // Кислородные радикалы в химии, биологии и медицине.— Рига: РМИ, 1988.— С.153—163.
6. Коркина Л.Г., Деева И.Б., Величковский Б.Т. Как поливинилпиридин-N-оксид уменьшает цитотоксический эффект SiO₂? // Гиг. труда.— 1988.— № 1.— С.8—10.
7. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов.— М.: Медицина, 1984.— С.74—90.
8. Arnchold J., Deev A.I. A simple procedure for preparing of REV-liposomes // Pharmacie.— 1985.— № 11.— P.808—809.
9. Bechard D.E., Fisher B.J., Kessler F.K., Carchman R.A., Fowler A.A. Macrophage spreading disparity: alveolar vs peritoneal // J. Clin. Lab. Immunol.— 1988.— Vol.26.— P.67—71.
10. Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood // Scand. J. Clin. Lab. Invest.— 1968.— Suppl.97.— P.77.
11. Kobzik L., Godleski J., Brain J. Oxidative metabolism in alveolar macrophages. Analysis by flow cytometry // J. Leukocyte Biol.— 1990.— Vol.47, № 4.— P.295—303.
12. McCord J.M. The superoxide free radicals: its biology and pathology // Surgery.— 1983.— Vol.24, № 3.— P.412—414.
13. Michelson A.M., McCord J.M., Fridovich I. Superoxide and superoxide dismutases.— London: Acad. Press, 1977.— P.15—164.
14. Rothe G., Oser A., Valet G. Dihydrorhodamine 123; a new flow cytometric indicator for respiratory burst activity in neutrophil granulocytes // Naturwissenschaften.— 1988.— Bd 75.— S.354—355.

С.К.Соодаева, Е.А.Острахович

РОЛЬ СВОБОДНОГО ЖЕЛЕЗА В ПРОЦЕССАХ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АСБЕСТА

НИИ пульмонологии МЗ и МП РФ

ROLE OF FREE FERRUM IN PEROXIDE LIPID OXIDATION PROCESSES DURING ASBESTOS INFLUENCE

S.K.Sohodaeva, E.A.Ostrakhovich

S u m m a r y

The ferrous ion content in blood serum and free liver ferrum and their interaction with changes of peroxide lipid oxidation (PLO) processes in hepatic and pulmonary tissue were studied during various periods of chrysotil—asbestos influence. The effect of natural rhtinum flavonoid from P-vitamin on these parameters was also investigated.

The free ferrum pool state was studied by EPR-spectroscopy with nitrozil g-factor complex (2.03) formation evaluation.

After a month, the significant increase of oxyprolin in the pulmonary tissue was found after a single intratracheal injection of 50mg of powder. The enforcement of peroxidation processes in hepatic and pulmonary tissues was also found (at 1.4 and 1.7 times respectively). The total ferrum content in blood serum corresponded to the control value. Moreover, the transferrin content was decreased at 1.3 times, that testify about the ferric content decrease in blood serum. The free ferrum content was also low in hepatic tissue. The single rhtinum instillation did not influence on the dust toxic action.

After 6 months since powder inhalation, the enforcement of PLO processes in hepatic and pulmonary tissues was discovered (at 2.8 and 1.5 times respectively). The ferrum content was higher in 20%, that can be explained by its extraction from ferritin. The studied flavonoid showed the expressed antiasbestos action after three month therapy only.

Р е з ю м е

Проведено исследование содержания ионов железа сыворотки крови и свободного железа ткани печени и их взаимосвязи с изменением процессов перекисного окисления липидов в тканях печени и легких на различных сроках воздействия хризотил—асбеста, а также влияния на эти показатели природного флавоноида рутина, входящего в группу витаминов Р.

Состояние пула свободного железа печени изучали методом ЭПР-спектроскопии (по образованию нитрозильных комплексов с g-фактором 2,03).

Через месяц после однократного интратрахеального введения 50 мг выявлено достоверное увеличение оксипролина в ткани легких, обнаружено также усиление процессов пероксидации в ткани печени и легких (в 1,4 и 1,7 раза соответственно). Уровень общего железа в сыворотке крови соответствовал контрольному значению, при этом уровень трансферрина был снижен в 1,3 раза, что свидетельствует о снижении двухвалентного железа в сыворотке. Уровень свободного железа в ткани печени также снижен. Однократная инстиляция рутина не приводит к предотвращению токсического воздействия пыли.

Через 6 месяцев после “запыления” животных было обнаружено усиление процессов ПОЛ в тканях печени и легких (в 2,8 и 1,5 раза соответственно). Уровень железа при этом повышался на 20%, что связано, по-видимому, с высвобождением его из ферритина. Исследуемый нами флавоноид проявил выраженное противоасбестное действие лишь после трехмесячной терапии.

При воздействии асбеста на организм происходит усиление свободнорадикальных процессов (СРП) [9,12,13]. Ингалированные частицы взаимодействуют с альвеолярными макрофагами, приводя к увеличению потребления кислорода и генерации активных форм кислорода (АФК) клетками [5]. Образующиеся АФК способны окислять ненасыщенные жирные кислоты

как фосфолипидов, входящих в состав плазмалеммы фагоцитов, так и фосфолипидов сурфактанта. Кислородные радикалы регулируют интенсивность фиброобразования, принимая участие на различных этапах этого многоступенчатого процесса, в частности гидроксильный радикал участвует в реакциях прямого окисления пролина и лизина в оксипролин и оксилизин

аминокислот, входящих в состав коллагенового волокна [5]. В настоящее время ясно, что для инициации реакций свободнорадикального окисления в биологических системах необходимо как присутствие кислородных радикалов, так и ионов железа и функции этих двух составляющих взаимосвязаны. Наличие ионов железа и образование кислородных радикалов являются необходимым и достаточным условием появления в клетке цитотоксических радикалов липидов, а также модификации белков [2,15]. В настоящее время существует много фактов, свидетельствующих о том, что свободное железо присутствует практически во всех клетках в составе так называемого транзитного пула [1]. Именно этот пул железа, вероятнее всего, участвует во внутриклеточных реакциях перекисного окисления липидов (ПОЛ). Было показано, что изменение содержания эндогенного свободного железа играет важную роль в развитии целого ряда патологических состояний [4,7,14].

В настоящей работе мы исследовали уровень ионов железа и трансферрина сыворотки крови, а также изменение содержания эндогенного свободного железа ткани и их взаимосвязь с изменением процессов ПОЛ в тканях легких и печени при моделировании воспалительного процесса, вызванного асбестом, на разных сроках воздействия. Кроме этого мы изучали эффект природного флавоноида рутин на эти показатели.

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах-самцах, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животные были разделены на три группы: 1-я — контрольные животные, которым интратрахеально вводили 1 мл 0,9% раствора хлорида натрия; 2-я — крысам вводили асбест Баженовского месторождения с длиной волокон не более 10 мкм однократно интратрахеально в количестве 50 мг/мл изотонического раствора хлорида натрия, нагретого до 37°C; 3-я — крысам вводили асбест Баженовского месторождения в количестве 50 мг/мл 1 мМ раствора рутина и с 3-го месяца внутрижелудочно вводили 1 мл 1 мМ раствора рутина ежедневно. Через 1 месяц и 6 месяцев крыс выводили из опыта с помощью эфирного наркоза, декапитировали, печень и легкие перфузировали изотоническим раствором хлорида натрия и готовили гомогенат 6% и 3% соответственно. Определение ТБК-активных продуктов проводили по методу [11] в следующей модификации: 0,25 мл исследуемого образца

смешивали с 3,0 мл 1,5% раствора фосфорной кислоты и 1,0 мл 0,5% раствора тиобарбитуровой кислоты. Пробы тщательно перемешивали и инкубировали 45 минут при 100°C, охлаждали до комнатной температуры, добавляли 4 мл н-бутанола, встряхивали и центрифугировали при 1800 g. Верхнюю бутанольную фракцию отбирали для измерения оптической плотности при 532 нм. Измерения проводили на спектрометре "LKB Biochrom Ultrospec 4050". Для получения сыворотки кровь собирали в центрифужные пробирки, инкубировали при 37°C в течение 30 минут для лучшей ретракции тромба. Затем отделяли сыворотку центрифугированием при 1800 g. Уровень общего железа в сыворотке определяли по методу [10]. Образцы сыворотки замораживали в жидком азоте в виде таблеток [3]. Спектры ЭПР сыворотки крови регистрировали на радиоспектрометре "Varian E-4" при следующих условиях: СВЧ-мощность 10 мВт, амплитуда модуляции 10 Гс, постоянная времени 1 с, усиление $2,5 \cdot 10^3$, скорость развертки поля 250 Гс/мин. Для определения концентрации свободного железа образцы тонких срезов печени обрабатывали 50% раствором нитрита натрия в соответствии с методикой [6]. Обработанные нитритом натрия срезы инкубировали 20 мин при 20°C, затем инкубировали еще 7 минут при 45°C. Спектры ЭПР полученных образцов записывали при температуре жидкого азота на спектрометре "Varian E-4". Амплитуду низкочастотной компоненты сигнала ЭПР с $g=2,03$ считали как описано в работе [6], пропорциональной концентрации свободного железа. Уровень оксипролина в ткани легкого определяли по методу [16].

Через 1 месяц после однократного интратрахеального введения асбеста наблюдалось достоверное увеличение содержания оксипролина в ткани легких, что указывает на протекание фиброзного процесса (таблица). Уровень общего железа в сыворотке крови при воздействии асбеста соответствовал контрольному значению, при этом уровень трансферрина был снижен в 1,3 раза, что свидетельствует о снижении количества двухвалентного железа в сыворотке. К концу 4-й недели выявлено усиление процессов ПОЛ в тканях печени и легких (в 1,4 и 1,7 раза соответственно) по сравнению с контролем. Для выяснения причин активации ПОЛ в печени исследовали изменения пула свободного негемового железа, измеренного методом

Т а б л и ц а

Изменение концентрации железа, оксипролина, показателей ПОЛ при воздействии асбеста в различные сроки

Исследуемые параметры	Через 1 месяц			Через 6 месяцев		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Оксипролин, мг/100 г легк.	222±26	395±49	392±55	270±21	733±34	449±26
ПОЛ легк., нМ/гр.тк.	198±40	320±48	318±38	241±28	669±78	280±32
ПОЛ печ., нМ/гр.тк.	421±20,4	528±15,9	502±18,6	645±11	957±58	370±35
Свободн. железо печени, отн. ед.	105±5,6	75,5±7,6	73,3±4,2	68,5±2,4	80,8±3,5	62,5±7,3
Железо сыворотки, нМ	22,1±3,0	21,7±3,4	19,9±3,5			
Трансферрин, отн. ед.	9,8±0,9	6,4±0,2	6,4±0,7			

динитрозильных комплексов. Обработка целой ткани окисью азота приводит к появлению там парамагнитных комплексов, характеризующихся сигналом ЭПР с $g=2,03$. Этот сигнал обусловлен образованием комплекса, включающего две SH-группы, один атом двухвалентного железа и две молекулы NO. При избытке окиси азота образование нитрозильных комплексов в тканях лимитировано количеством свободного железа, но не SH-группами белка. Ионы трехвалентного железа, а также железо, входящее в состав железо-серных центров цепей переноса электронов, в образовании нитрозильных комплексов участия не принимают. Обнаружено, что к концу 1-го месяца снижается уровень негемового железа в ткани печени во 2-й группе животных, получавших асбест, и в 3-й группе, получавших асбест с рутином, в 1,4 раза по сравнению с контролем.

Соответствие уровня общего железа в сыворотке крови крыс, получавших асбест, контрольной группе не является показателем отсутствия нарушений метаболизма ионов железа, так как мы измеряли лишь стационарную концентрацию, а уменьшение концентрации трансферрина и пула негемового железа в ткани печени свидетельствуют об увеличении скорости утилизации железа. В кровь железо поступает в форме Fe(II), окисляется церулоплазмином и связывается с апотрансферрином. Церулоплазмин и трансферрин функционируют как единая антиоксидантная система, механизм действия которой основан на утилизации двухвалентного железа. Подавляющая доля железа, попадающего в клетку, инкорпорируется в составе специфического белка — ферритина, часть остается в свободном состоянии, которая образует так называемый транзитный пул железа. Именно железо транзитного пула, вероятнее всего, участвует во внутриклеточных реакциях перекисидации липидов. Уменьшение уровня свободного железа в ткани печени, возможно, свидетельствует о том, что часть ионов железа расходуется на активацию ПОЛ.

Через 1 месяц у животных после интратрахеального введения асбеста с рутином все измеренные показатели практически соответствовали таковым у животных, получавших только асбест. Таким образом, однократная инстиляция рутином не приводит к предотвращению токсического воздействия пыли.

Через 6 месяцев после запыления наблюдается усиление фиброобразования в легких, о чем можно судить по значительному увеличению оксипролина в легочной ткани. Кроме этого было обнаружено усиление процессов перекисидации липидов в тканях легких и печени (в 2,8 и 1,5 раза соответственно). Уровень свободного железа ткани печени повышается на 20%, что может быть связано с высвобождением Fe(II) из ферритина, известно, что двухвалентное железо является

мощным катализатором образования ОН-радикалов. В результате чего и наблюдается значительное увеличение продуктов ПОЛ. Освобождение железа из ферритина уменьшается в присутствии хелаторов железа, в частности рутина, что приводит к ингибированию перекисидации [8]. У животных, получавших в течение 3 месяцев рутин, было снижено количество ТБК-активных продуктов в тканях легких и печени, содержание свободного железа соответствовало контрольным значениям.

Таким образом, в результате воздействия асбеста через 1 месяц наблюдается снижение уровня трансферрина сыворотки крови и свободного железа в ткани печени, что, возможно, приводит к усилению процессов перекисидации. Через 6 месяцев после однократного интратрахеального введения асбеста животным, помимо значительного увеличения перекисного окисления липидов в тканях печени и легких, обнаружено повышение содержания свободного железа, что связано, по-видимому, с высвобождением его из ферритина.

Исследованный нами природный флавоноид рутин проявляет выраженное противоасбестное действие лишь после трехмесячной терапии, не оказывая эффекта после однократной инстиляции вместе с асбестом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванин А.Ф., Варич В.Я. // Биофизика. — 1979. — Т.24, № 4. — С.666.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Наука, 1972.
3. Коваленко О.А., Анфалова Т.В., Соколов В.С. и др. // Биофизика. — 1971. — Т.16, № 4. — С.663.
4. Козлов А.В., Вдовин А.В., Азизова О.А. и др. // Бюл. exper. биол. — 1987. — № 8. — С.165—167.
5. Коркина Л.Г., Величковский Б.Т. // Кислородные радикалы в химии, биологии и медицине. — Рига, 1988. — С.153—163.
6. Тарасова Н.И., Коваленко О.А., Ванин А.Ф. // Биофизика. — 1981. — Т.26, № 4. — С.678—682.
7. Alleman M.A., Koster J.E., Wilson J.H.P. et al. // Biochem. Pharmacol. — 1985. — Vol.34, № 2. — P.161—166.
8. Biemond P., Smaak A.J.G., van Eijk H.G. // Free Radical Biol. Med. — 1988. — Vol.4, № 3. — P.185—195.
9. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. // Free Radical in Biology and Medicine. — Oxford: Clarendon Press, 1989. — P.473—478.
10. Johnson D.J. // Clin. Chim. Acta. — 1990. — Vol.189, № 2. — P.199—203.
11. Michara M., Vchiyama M., Fukuzawa K. // Biochem. Med. — 1980. — Vol.23, № 3. — P.302—311.
12. Mossman B.T., Marsh J.P., Shatos M.A. // Lab. Invest. — 1986. — Vol.54, № 2. — P.204—212.
13. Mossman B.T., Bigman J., Corn M. et al. // Science. — 1990. — Vol.247. — P.294—301.
14. Nayini N.R., White B.C., Aust S.D. et al. // Free Radical Biol. Med. — 1985. — Vol.1, № 2. — P.111—116.
15. Richards D.M.C., Dean R.T., Yessup W. // Biochim. Biophys. Acta. — 1988. — Vol.964, № 2. — P.281—289.
16. Stegeman H. // Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. — 1958. — Bd 311. — S.41—45.

Поступила 26.12.94.

А.В.Козлов, А.Томази, А.Мазини*, Ю.А.Владимиров*

СВОБОДНОЕ ЖЕЛЕЗО В ИНТАКТНЫХ ТКАНЯХ КРЫСЫ И ЕГО НАКОПЛЕНИЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕМОХРОМАТОЗЕ. ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОННОГО ПАРАМАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА

Российский государственный медицинский университет, Москва;

* Моденский университет, Модена, Италия

FREE FERROUS IONS IN INTACT RAT TISSUES AND THEIR ACCUMULATION DURING EXPERIMENTAL HEMOCHROMATOSIS. THE ELECTRON PARAMAGNETIC RESONANCE STUDY

A.V.Kozlov, A.Tomasi, A.Masini, Y.A.Vladimirov

Summary

The possibility of intracellular free iron registration by the electron paramagnetic resonance method with desferal use as iron chelator was demonstrated in the study. The essential increase of desferal available iron was found in liver, kidney, and spleen during experimental hemochromatosis. Heart, lungs, and brain were more resistant to free iron accumulation.

Резюме

В работе была продемонстрирована возможность регистрации внутриклеточного свободного железа методом электронного парамагнитного резонанса с применением хелатора железа десферала. При экспериментальном гемохроматозе обнаружено существенное увеличение концентрации доступного десфералу железа в печени, почках и селезенке. Сердце, легкие и мозг оказались более резистентными к накоплению свободного железа.

Перегрузка железом при гемохроматозе сопровождается существенным увеличением содержания железа в тканях. Эта ситуация может быть смоделирована в эксперименте при содержании крыс на диете, включающей избыток железа [4]. Содержание животных на такой диете приводит к увеличению количества железа в тканях [7,8,10,12]. Вместе с тем имеются наблюдения, что накопление продуктов перекисного окисления липидов и продуктов деградации белков, обнаруживаемых в плазме крови и печени, бывает лишь тогда, когда концентрация железа в печени превышает 2000—3000 мг/кг ткани (что достигается содержанием крыс на насыщенной железом диете в течение 3—6 месяцев) [3,5,6,9]. Известно, что как перекисное окисление, так и деградация белков чаще всего являются следствием появления каталитически активного свободного железа. В связи с этим можно было предположить, что на ранних стадиях пул свободного железа в ткани не увеличивается, поскольку поступающее железо связывается ферритином и другими железотранспортными белками. На более поздних стадиях, когда эти белки насыщаются, количество железа в свободном пуле увеличивается и как следствие проявляется его токсичность.

В отличие от ионов, связанных в макромолекулах или с низкомолекулярными комплексами, ионы свободного железа быстро связываются с такими хелаторами, как десферал, фенантролин, а также окись азота, которая образует с ионами Fe^{2+} парамагнитные нитрозильные комплексы [1,11,13,14]. Из перечисленных хелаторов наименьшим токсическим воздействием на организм обладает десферал. Что же касается окиси азота, то она легко проникает в ткани и образует там комплексы с ионами железа и SH-группами. Фенантролин является токсичным и не проникает в ткани.

Учитывая перечисленные свойства хелаторов, мы использовали в наших исследованиях десферал. Этот выбор был основан на следующих соображениях. Во-первых, этот комплексон образует достаточно прочные комплексы с ионами железа. Во-вторых, образующийся комплекс обладает характерным спектром электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Кроме того, десферал имеет крайне низкую токсичность и способен проникать сквозь клеточные мембраны.

Целью этой работы было обнаружить наличие или отсутствие в биологических тканях ионов свободного железа, сходных по своим свойствам с ионами железа,

используемыми в модельных системах для активации свободнорадикальных процессов. А также выяснить вопрос о том, накапливаются ли ионы железа, обладающие редоксактивностью при экспериментальном гемохроматозе в тканях крысы.

В работе были использованы белые крысы линии Вистар весом 100—150 г. Перегрузку железом моделировали добавлением в диету 2,5% карбоната железа. Животных выводили из опыта с помощью эфира, декапитировали.

Органы, извлеченные у крысы, промывали в 0,9% NaCl и готовили из них либо образцы для ЭПР-спектрометра, либо гомогенат. Гомогенат готовили в 10 mM ТРИС буфере (pH=7,4), содержащем 120 mM KCl в соотношении ткань:буфер=1:2 (вес/объем).

Образцы тканей, гомогенатов или исследуемые растворы замораживали в специальной форме, соответствующей по размерам сосуду Дьюара, в котором проводили измерения при температуре жидкого азота [11].

Спектры ЭПР записывали на спектрометрах "Varian E-4" и "Bruker 200" при следующих условиях: частота клистрона — 9,12 ГГц, мощность 20 мВт, амплитуда модуляции 2,0 мТл.

Оптические спектры комплексов Fe—десферал записывали на спектрофотометре Beckman DU-7. О количестве комплексов судили по оптической плотности при 430 нм [2].

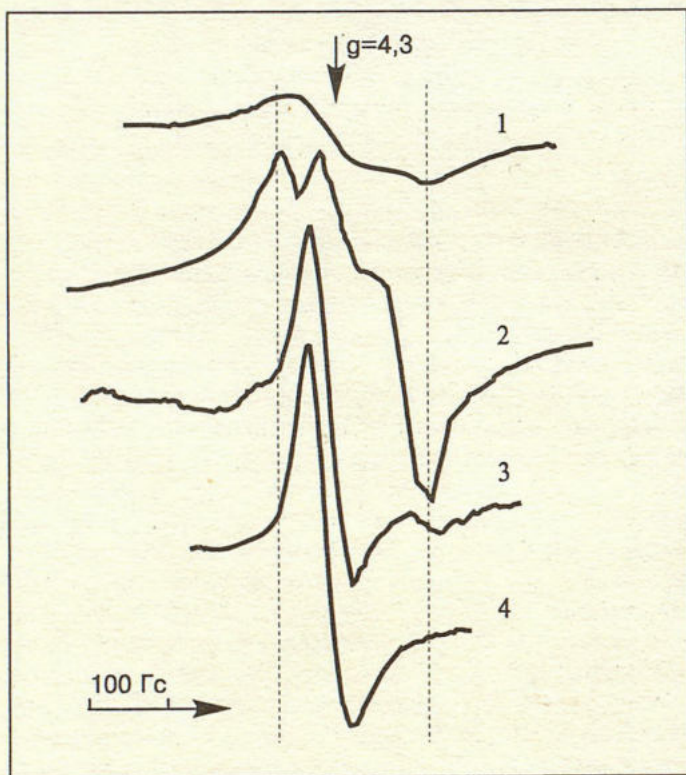


Рис.1. Спектры ЭПР интактной печени (1), трансферрина (2), печени, выделенной у животного, которому был введен десферал (3), и раствора, содержащего 1 mM десферала и 40 μ M $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (4). Десферал, в дозе 100 мг/кг массы вводили за 20 мин до декапитации и извлечения печени. Хранение образцов и запись спектров ЭПР проводили при температуре жидкого азота.

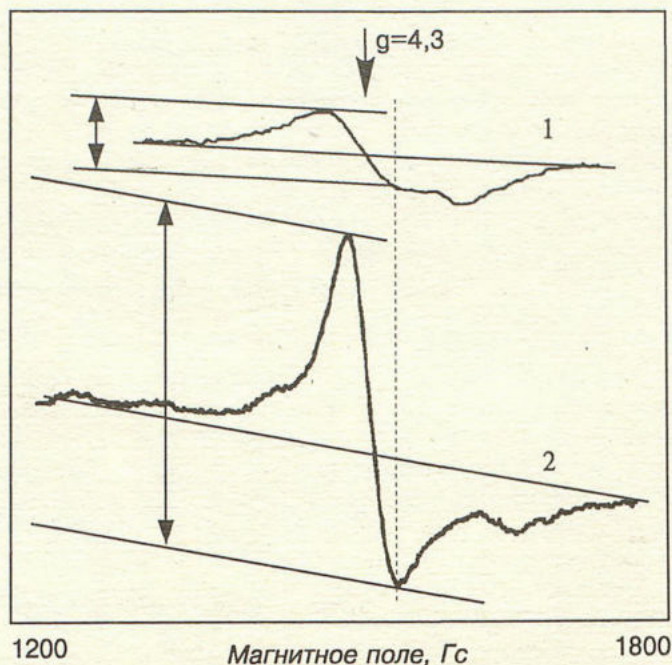


Рис.2. Расчет амплитуд сигналов ЭПР интактной печени крысы (1) и печени, выделенной у крысы, которой предварительно был введен десферал (2). Стрелками показано как измеряли амплитуды сигналов.

Другие детали эксперимента описаны в подписях к рисункам.

При статистической обработке рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение по общепринятым формулам.

На рис.1 приведены спектры ЭПР интактной печени крысы, трансферрина крови, печени крысы, которой за 20 мин до декапитации был введен десферал, а также раствора, содержащего десферал и ионы железа.

На рисунке видно, что интактная печень в области $g=4,3$ обладает небольшим по амплитуде сигналом ЭПР, совпадающим по форме с трансферрином крови. Введение десферала приводит к образованию довольно интенсивного сигнала ЭПР, который совпадает по форме со спектром комплексов десферала с железом, полученных в растворе. По амплитуде этого сигнала можно судить о количестве свободного железа в ткани.

Для количественной оценки содержания комплексов Fe — десферал в ткани использовали два образца: один из которых был интактной печенью, другой — печенью животного, которому был введен десферал. Амплитуды сигналов измеряли, учитывая наклон базовой линии, связанный с присутствием кислорода, как показано на рис.2. Затем вычитали амплитуду сигнала интактной печени из амплитуды, полученной для печени, обработанной десфералом.

В предыдущем эксперименте десферал был введен крысам внутрибрюшинно. При этом нельзя было исключить, что парамагнитные комплексы с $g=4,3$ образовались не в печени, а были принесены туда с током крови. Для прояснения этого вопроса мы изучали образование этих комплексов в перфузируемой печени крысы. Десферал вводили в перфузионную среду, а

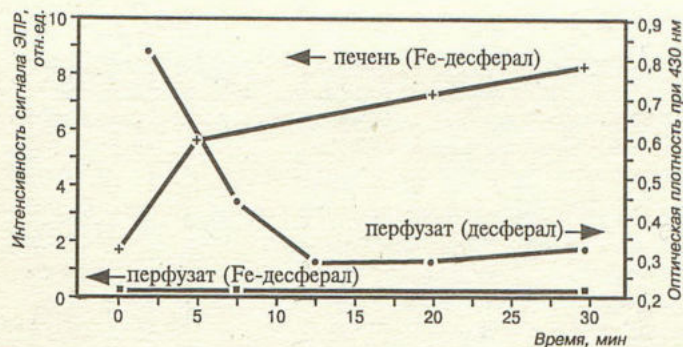


Рис.3. Кинетика образования парамагнитных комплексов с $g=4,3$ в перфузируемой печени крысы. Перфузию проводили по замкнутому контуру через воротную и нижнюю полую вены. Перфузионная среда включала раствор Хенкса, содержащий 0,5 мМ десферала. Для оценки содержания комплексов Fe—десферал измеряли интенсивность сигнала ЭПР с $g=4,3$ в ткани печени либо в перфузионной среде. Для определения количества свободного десферала к перфузионной среде добавляли избыток FeCl_3 (5 мМ) и измеряли оптическую плотность при 430 нм.

затем измеряли интенсивность сигнала ЭПР с $g=4,3$ в ткани печени и в перфузионной среде. Затем в перфузионную среду добавляли избыток ионов железа в виде раствора FeCl_3 и по оптическому спектру определяли количество свободного десферала.

Как видно из рис.3, концентрация десферала, не связанного с железом, быстро снижалась в первые 10 мин после начала перфузии, при этом комплексов Fe—десферал в перфузате обнаружено не было. Что же касается ткани печени, то там уже через 5 минут после начала перфузии появлялся сигнал, характерный для комплексов Fe — десферал. Этот эксперимент свидетельствует о том, что десферал проникает в клетки печени и там хелатирует ионы Fe, образуя парамагнитные комплексы.

Таким образом, введение десферала позволяет обнаружить в ткани парамагнитные комплексы ионов железа. Точно такой же сигнал обнаруживается при введении десферала в гомогенат ткани. Однако ампли-

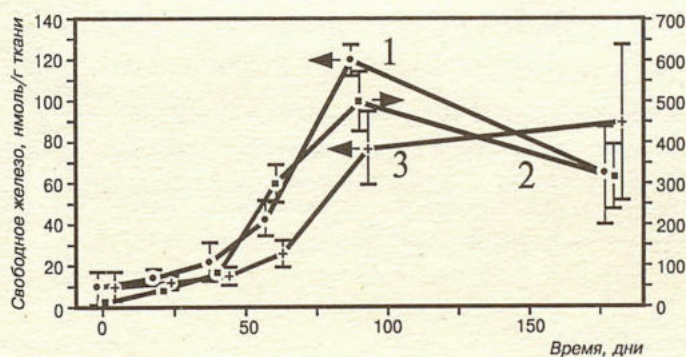


Рис.4. Динамика накопления свободного железа в тканях крысы при экспериментальном гемохроматозе. Гемохроматоз моделировали держа крыс на диете, содержащей 2,5% карбонила железа. Через определенные промежутки времени крыс забивали, извлекали органы, которые немедленно замораживали в жидком азоте, затем готовили гомогенаты, в которые вводили 1 мМ десферала, инкубировали 10 мин и готовили образцы. Спектры ЭПР записывали при температуре жидкого азота. 1 — почка (левая ось), 2 — печень (правая ось), 3 — селезенка (левая ось).

туда этого сигнала уменьшалась пропорционально отношению ткань:буфер при приготовлении гомогената.

Полученные результаты говорят о том, что железо, доступное десфералу, присутствует в ткани *in vivo* (эксперимент с введением десферала крысам), что это железо локализовано внутри клеток (эксперимент с перфузируемым органом). Это же железо может быть обнаружено в гомогенате ткани.

Наиболее драматические изменения в метаболизме железа наблюдаются при гемохроматозе, когда общее содержание железа в тканях стремительно увеличивается. Однако, как говорилось выше, не ясно, увеличивается ли при этом пул свободного железа или же все накопленное железо хранится в ферритине. Для ответа на этот вопрос нами была изучена динамика изменения содержания свободного железа в различных тканях при экспериментальном гемохроматозе. Результаты этих измерений в печени, почках и селезенке приведены на рис.4. Аналогичные измерения были проведены в ткани мозга, легких и сердца. Эти результаты представлены на рис.5.

Как видно из рис.4 и 5, все исследованные ткани можно разделить на две группы. Первая группа включает печень, почки и селезенку, где накапливается наибольшее количество свободного железа. В этих тканях количество доступного десфералу железа достигает максимума к 90-му дню содержания животных на диете, включающей избыток железа. К другой группе тканей можно отнести ткани мозга, легких и сердца, в которых пул свободного железа при экспериментальном гемохроматозе существенно не увеличивается. Достоверные различия появляются лишь в легких и мозге через 180 дней после начала эксперимента.

На наш взгляд, следует отметить три наиболее важных момента, вытекающих из этой работы. Во-первых, комбинация экспериментов *in vivo* с результатами, полученными на перфузируемой печени и в гомогенате, показывают что десферал-доступное железо присутствует во всех трех объектах, то есть оно не является следствием препаративных процедур. Во-вторых, нами была измерена концентрация свободного железа в гомогенатах шести тканей, не разделенных на фракции. Наконец, в-третьих, удалось разделить

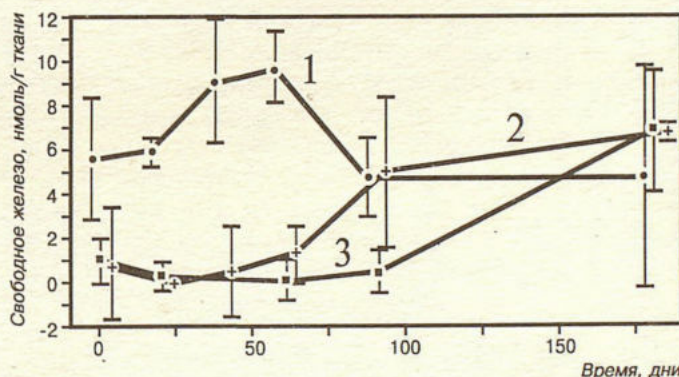


Рис.5. Динамика накопления свободного железа в тканях крысы при экспериментальном гемохроматозе. Условия эксперимента описаны в предыдущем рисунке. 1 — сердце, 2 — легкие, 3 — мозг.

исследуемые ткани на чувствительные и нечувствительные к перегрузке железом. В первую группу попали печень, почки и селезенка, а во вторую — сердце, легкие и мозг.

Вместе с тем, в настоящее время остается неясным, является ли накопление доступного десфералу железа в тканях маркером повреждения ткани или эта взаимосвязь носит более сложный характер. Этот вопрос требует дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванин А.Ф. // Биохимия. — 1967. — Т.32. — С.277—282.
2. Козлов А.В., Егоров Д.Ю., Владимиров Ю.А. и др. // Журн. физ. химии. — 1990. — Т.64. — С.225—227.
3. Bacon B.R., Tavill A.S., Brittenham G.M. et al. // J. Clin. Invest. — 1983. — Vol.71. — P.429—439.
4. Bacon B.R.O., Neill R. // Hepatology. — 1985. — Vol.5. — Abstr. 13.
5. Bacon B.R., Healey J.F., Brittenham G.M. et al. // Gastroenterology. — 1986. — Vol.90. — P.1844—1853.

6. Bacon B.R., Britton R.S., O'Neill R. // Hepatology. — 1989. — Vol.9. — P.398—404.
7. Ceccarelli D., Predieri G., Muscatello U. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1991. — Vol.176. — P.1262—1268.
8. Figueiredo M.S., Baffa O., Neto J.B. et al. // Res. Exp. Med. — 1993. — Vol.193. — P.27—37.
9. Galleano M., Puntarulo S. // Toxicology. — 1992. — Vol.76. — P.27—38.
10. Iancu T.C., Shiloh H., Link G. et al. // Br. J. Exp. Pathol. — 1987. — Vol.68. — P.53—65.
11. Kozlov A.V., Yegorov D.Yu., Vladimirov Yu. A. et al. // Free Radical Biol. Med. — 1992. — Vol.13. — P.9—14.
12. Masini A., Trenti T., Ventura E. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1984. — Vol.124. — P.462—469.
13. Vanin A.F., Osipov A.N., Kubrina L. N. et al. // Stud. Biophys. — 1975. — Vol.49. — P.13—25.
14. Yegorov D. Y., Kozlov A.V., Azizova O.A. et al. // Free Radical Biol. Med. — 1993. — Vol.15. — P.565—574.

Благодарность. Работа частично была поддержана Европейским научным обществом (ESF grant № RF/93/35 (T)).

Поступила 26.12.94.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 612.111.11.015.3

Э.В.Брюханова, А.Н.Осипов, Ю.А.Владимиров

ВЛИЯНИЕ ГАПТОГЛОБИНА НА СПОСОБНОСТЬ ГЕМОГЛОБИНА РАЗЛАГАТЬ ПЕРЕКИСЬ ВОДОРОДА С ОБРАЗОВАНИЕМ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ

Российский государственный медицинский университет, Москва

THE HAPTOGLOBIN EFFECT ON HAEMOGLOBIN MEDIATED DECOMPOSITION OF HYDROGEN PEROXIDE YIELDING FREE RADICALS

E.V.Brukhanova, A.N.Osipov, Y.A.Vladimirov

S u m m a r y

The effect of haptoglobin on H_2O_2 dependent chemiluminescence (ChL) of native and modified with H_2O_2 or HOCl haemoglobin was studied. It was shown that haptoglobin decreases the native haemoglobin ChL intensity and the number of radicals formed during the reaction of haemoglobin with H_2O_2 . It was supposed that the effect of haptoglobin is conditioned primarily by the haemoglobin catalytic activity decrease through Hp—Hg complex formation. It was shown that haptoglobin inhibits effectively H_2O_2 -dependent ChL of both native and preincubated with H_2O_2 or HOCl haemoglobin.

Р е з ю м е

Изучено влияние гаптоглобина на H_2O_2 -зависимую хемилюминесценцию (ХЛ) нативного гемоглобина и гемоглобина, модифицированного H_2O_2 или HOCl. Показано, что гаптоглобин уменьшает интенсивность ХЛ нативного гемоглобина и количество радикалов, образующихся при взаимодействии гемоглобина с H_2O_2 . Предположено, что это влияние гаптоглобина обусловлено прежде всего уменьшением каталитической активности гемоглобина путем образования Hp—Hg комплекса. Было показано, что гаптоглобин одинаково эффективно ингибирует H_2O_2 -зависимую ХЛ как нативного гемоглобина, так и гемоглобина, преинкубированного с избытком H_2O_2 или HOCl.

В настоящее время не подлежит сомнению важная роль свободнорадикальных процессов в патогенезе различных заболеваний. Так, в результате взаимодействия внеэритроцитарного гемоглобина с окислителями, образующимися в организме (органические гидроперекиси, перекись водорода, гипохлорит), генерируются высокореакционноспособные соединения и высвобождаются ионы железа, которые в дальнейшем приводят к образованию гидроксильных радикалов, обладающих сильнейшим повреждающим действием [1,6,8,14,17]. В результате этих реакций внеэритроцитарный гемоглобин приобретает способность стимулировать перекисное окисление липидов липопротеинов, приводящее к развитию атеросклероза, параличей и эпилепсий [11,13,16].

В плазме крови присутствует белок гаптоглобин, образующий стабильный комплекс с гемоглобином и удаляющий каталитически активный гемоглобин из кровяного русла [4,15]. Однако до сих пор недостаточно изученным является влияние гаптоглобина на способность гемоглобина стимулировать свободнорадикальные реакции в организме. В отношении гемоглобинстимулированного перекисного окисления мицелл жирных кислот получены некоторые данные, позволяющие сделать вывод об ингибирующей способности гаптоглобина [7].

Метод H_2O_2 -зависимой хемилюминесценции (ХЛ) в присутствии люминола позволяет оценить радикал-продуцирующую способность нативного или модифицированного гемоглобина при взаимодействии его с перекисью водорода в ХЛ-системе.

Задача настоящей работы: изучить влияние гаптоглобина на H_2O_2 -зависимую ХЛ нативного гемоглобина и гемоглобина, модифицированного гипохлоритом или перекисью водорода.

В работе использовали гипохлорит натрия ("Laborchemie", Германия), перекись водорода и люминол ("Реахим", Россия), 20 мМ фосфатный буфер (17 мМ $NaH_2PO_4 \cdot 4H_2O$ / 3 мМ $K_2HPO_4 \cdot 2H_2O$).

Концентрации $OSCl^-$ и H_2O_2 определяли спектрофотометрически [5,12], измерения проводили на спектрофотометре "Beckman DU-7" (США).

Гемоглобин выделяли из эритроцитов здоровых доноров [2]. Кровь получали венепункцией, затем дважды производили отмывку эритроцитов изотоническим раствором хлорида натрия, эритроциты лизировали 10-кратным количеством дистиллированной воды. Полученный гемолизат центрифугировали при 10 000 об/мин для очистки от теней эритроцитов. Дальнейшую очистку гемоглобина проводили с помощью гель-хроматографии на геле "Sephagosa 4B/CL" (Швеция). Полученный гемоглобин представлял собой оксигемоглобин. Концентрацию гемоглобина определяли спектрофотометрически по поглощению в области полосы Сорэ (415 нм), коэффициент молярной экстинкции для полосы Сорэ принимали равным $E_{415} = 125\,000\, M^{-1}\, cm^{-1}$ (в расчете на 1 гем гемоглобина) [2].

Гаптоглобин был выделен кооперативом "Микрофлора" при МНИИЭМ им. Габричевского из асцитической жидкости больных раком желудка. Общую концен-

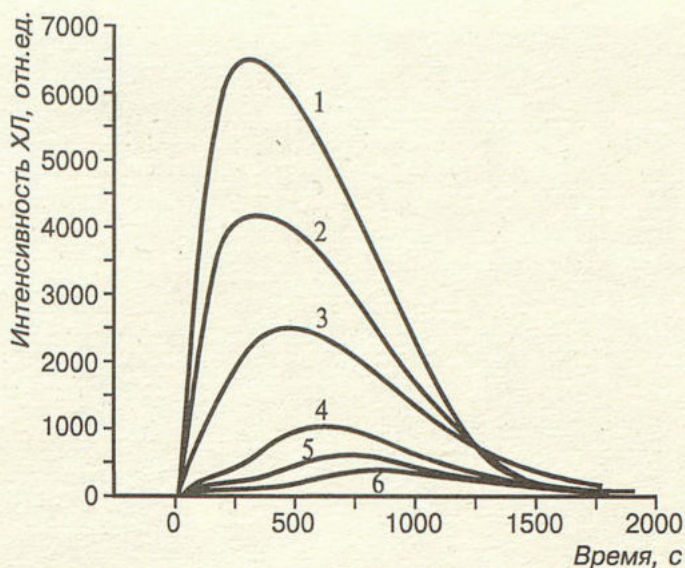


Рис.1. Влияние гаптоглобина на кинетику H_2O_2 -зависимой хемилюминесценции гемоглобина.

Здесь и на рис.2. конечная концентрация Нб 5 мкМ, H_2O_2 0,7 мМ, люминола 0,028 мМ.

Гаптоглобин добавляли в концентрациях:

1) 0 мг/мл; 2) 0,02 мг/мл; 3) 0,04 мг/мл; 4) 0,08 мг/мл; 5) 0,1 мг/мл; 6) 0,12 мг/мл.

трацию белка измеряли микробиуретовым методом, а гемоглобинсвязывающую способность пробы по методике [3], она составила 0,2 мг гемоглобина на 1 мг белка.

В работе был использован бычий сывороточный альбумин ("Sigma", США). Общая концентрация белка была равна концентрации гаптоглобина.

Измерение H_2O_2 -зависимой ХЛ проводили в присутствии люминола (0,028 мМ) на хемилюминометре фирмы LKB (Швеция). Конечная концентрация H_2O_2 составляла 0,7 мМ. Объем образца был равен 0,5 мл.

На первом этапе работы изучали влияние гаптоглобина и альбумина на H_2O_2 -зависимую ХЛ нативного гемоглобина. Кинетика ХЛ гемоглобина представлена на рис.1 (кривая 1).

Можно видеть, что при добавлении H_2O_2 (0,7 мМ) к Нб (5 мкМ в пробе) наблюдается интенсивное свечение (максимальная амплитуда 6500 отн.ед. на 5-й минуте), сопровождающее модификацию гемоглобина перекисью водорода, образование и рекомбинацию свободных радикалов. Можно предположить, что количество радикалов, образующихся при взаимодействии гемоглобина с H_2O_2 , пропорционально площади под кривой ХЛ, т.е. светосумме ХЛ.

Если добавлять к гемоглобину возрастающие концентрации гаптоглобина, то интенсивность ХЛ гемоглобина (кривая 1) уменьшается (кривые 2—6).

Также изменяется кинетика ХЛ гемоглобина: увеличивается время наступления максимума свечения ХЛ. При концентрации добавленного гаптоглобина 0,02 мг/мл (кривая 2) время максимальной амплитуды ХЛ составляет 6 минут, а при концентрации гаптоглобина 0,12 мг/мл (кривая 6) — 14 минут.

Ингибирование гаптоглобином ХЛ гемоглобина может быть неспецифическим и обусловленным конкурен-

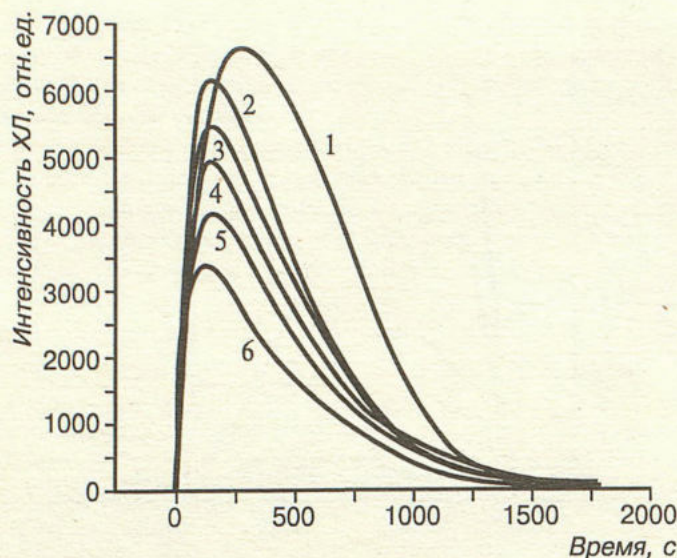


Рис.2. Влияние альбумина на кинетику H_2O_2 -зависимой хемилюминесценции гемоглобина.

Альбумин добавляли в концентрациях:

1) 0 мг/мл; 2) 0,02 мг/мл; 3) 0,04 мг/мл; 4) 0,08 мг/мл; 5) 0,1 мг/мл; 6) 0,12 мг/мл.

цией белков с люминолом за радикалы. Чтобы проверить это предположение, в изучаемую систему вместо гаптоглобина мы добавляли альбумин в весовой концентрации равной концентрации гаптоглобина.

Кинетика ХЛ гемоглобина при добавлении к нему альбумина представлена на рис.2. Можно видеть, что альбумин также уменьшает интенсивность ХЛ свечения гемоглобина, но в значительно меньшей степени, чем гаптоглобин. При этом добавление альбумина к гемоглобину не приводит к уменьшению времени максимальной амплитуды ХЛ и оно остается постоянным при добавлении возрастающих концентраций белка.

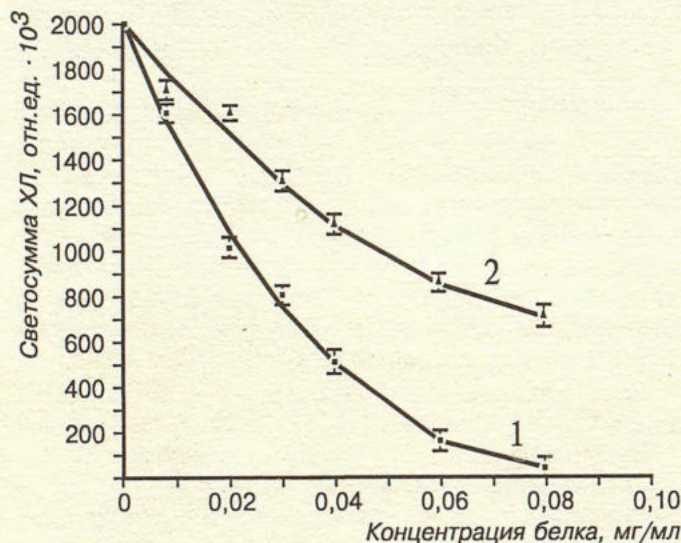


Рис.3. Ингибирование гаптоглобином и альбумином H_2O_2 -зависимой хемилюминесценции нативного Hb (0,5 мкМ в пробе).

1 — Hb + H₂O₂, 2 — Hb + альбумин. При измерении ХЛ в образец добавляли 0,7 мМ H_2O_2 и 0,028 мМ люминола.

Представляло интерес оценить количество радикалов, образующихся в реакции перекиси водорода и гемоглобина, при добавлении к последнему гаптоглобина или альбумина. К гемоглобину добавляли буфер (контроль) или различные концентрации белков, затем измеряли светосумму H_2O_2 -зависимой ХЛ за 30 минут. Зависимость величины светосуммы ХЛ гемоглобина от концентрации добавленных белков приведена на рис.3.

Видно, что добавление к гемоглобину как гаптоглобина, так и альбумина приводит к уменьшению светосуммы ХЛ-и, вероятно, к уменьшению количества радикалов, образующихся в системе. Известно, что альбумин является неспецифическим ингибитором свободнорадикальных реакций, прежде всего за счет перехвата радикалов и, возможно, связывания ионов железа, которые высвобождаются из гемоглобина при взаимодействии с перекисью водорода [9,10]. Однако гаптоглобин эффективнее альбумина в ингибировании реакции свободнорадикального разложения перекиси водорода гемоглобином. Это можно объяснить тем, что гаптоглобин не только перехватывает радикалы, но и связывает гемоглобин и тем самым тормозит образование радикалов в реакции гемоглобина с H_2O_2 .

На следующем этапе работы представляло интерес оценить ингибирование гаптоглобином и альбумином H_2O_2 -зависимой ХЛ гемоглобина, преинкубированного с такими окислителями, как $HOCl$ и H_2O_2 , которые могут образовываться активными лейкоцитами. Как было показано ранее, инкубация гемоглобина с высокими концентрациями $HOCl$ и H_2O_2 приводит к деструкции белков и высвобождению ионов железа [1,6]. Причем гипохлорит является более сильным окислителем и для одинакового эффекта требуется примерно в 10 раз больше H_2O_2 , чем $HOCl$.

Гемоглобин (0,5 мкМ в пробе) инкубировали с гипохлоритом (11 мкМ в пробе) или перекисью водорода (200 мкМ в пробе) 60 минут при комнатной температуре.

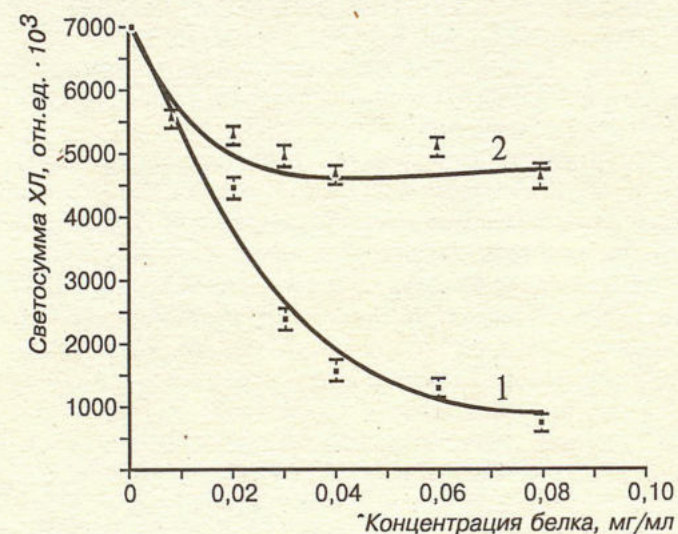


Рис.4. Ингибирование гаптоглобином и альбумином H_2O_2 -зависимой хемилюминесценции Hb, модифицированного $HOCl$.

Гемоглобин (0,5 мкМ) инкубировали с $HOCl$ (11 мкМ), затем добавляли Hb (1) или альбумин (2). При измерении ХЛ в образец добавляли 0,7 мМ H_2O_2 и 0,028 мМ люминола.

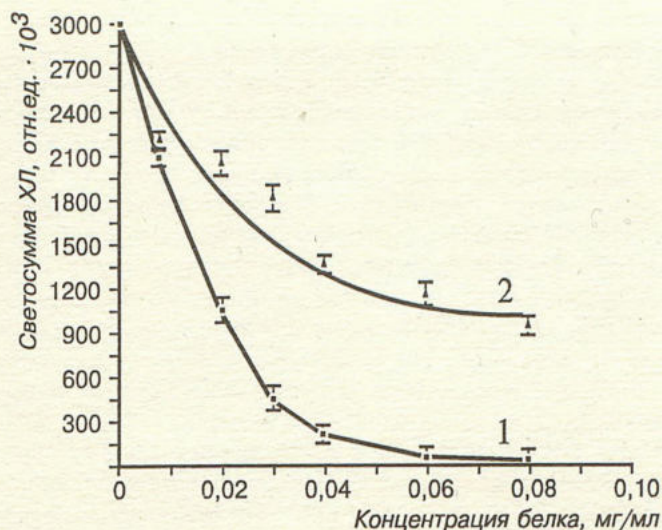


Рис.5. Ингибирование гаптоглобином и альбумином H_2O_2 -зависимой хемилюминесценции Нб, модифицированного H_2O_2 .

Гемоглобин (0,5 мкМ) инкубировали с H_2O_2 (200 мкМ), затем добавляли Нр (1) или альбумин (2). При измерении ХЛ в образец добавляли 0,7 мМ H_2O_2 и 0,028 мМ люминола.

Был проведен спектрофотометрический анализ модификации гемоглобина гипохлоритом/перекисью водорода (данные не приведены). Так, после 60 минут инкубации гемоглобина с окислителями наблюдался сдвиг пика полосы Соре с 414 нм (нативный Нб) до 410 нм (Нб+НОСl), до 406 нм (Нб+ H_2O_2), наблюдалось уменьшение величины оптической плотности в полосе Соре в 1,2 раза (для гипохлорита) и в 1,7 раза (для перекиси водорода), исчезновение длинноволновых пиков поглощения гемоглобина (540 нм и 575 нм). Вышеприведенные спектрофотометрические данные свидетельствуют о деструкции гипохлоритом гемоглобина [1].

Затем было изучено влияние гаптоглобина и альбумина на H_2O_2 -зависимую ХЛ гемоглобина, модифицированного H_2O_2 или НОСl. Для этого была измерена светосумма ХЛ за 30 минут контроля (гемоглобин, преинкубированный с гипохлоритом или перекисью водорода) и образцов, когда к контролю добавляли гаптоглобин или альбумин в равных весовых концентрациях. Полученные данные представлены на рис. 4 и 5. Кривая 1 представляет ингибирование ХЛ модифицированного гемоглобина гаптоглобином.

Видно, что гаптоглобин эффективно ингибирует свободнорадикальное разложение перекиси водорода модифицированным гемоглобином. Причем разница между влиянием гаптоглобина и альбумина в случае модифицированного гемоглобина больше, чем при тушении белками ХЛ нативного гемоглобина (см. рис.3).

Данные, представленные на этих рисунках, свидетельствуют о том, что ингибирование ХЛ модифицированного гемоглобина происходит не только за счет перехвата радикалов белком, но также за счет связывания поврежденного гемоглобина гаптоглобином.

Экспериментальные результаты, полученные в настоящей работе, позволяют сделать следующие выводы:

1. Гаптоглобин, связывая нативный гемоглобин, уменьшает количество свободных радикалов в реак-

ции гемоглобина с перекисью водорода, что видно по уменьшению светосуммы ХЛ. Вероятно, эффект гаптоглобина обусловлен не только перехватом радикалов, но прежде всего уменьшением каталитической активности гемоглобина путем образования Нр-Нб комплекса.

2. Гаптоглобин одинаково эффективно ингибирует H_2O_2 -зависимую ХЛ как нативного гемоглобина, так и гемоглобина, модифицированного гипохлоритом или перекисью водорода. При этом ингибирующее влияние гаптоглобина выражено сильнее, чем сывороточного альбумина.

Таким образом, можно сказать, что гаптоглобин является эффективным ингибитором радикалпродуцирующих реакций гемоглобина, в частности, разложения гемоглобином перекиси водорода с образованием свободных радикалов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Якутова Э.Ш., Осипов А.Н., Костенко О.В., Архольд И., Арнольд К., Владимиров Ю.А. Взаимодействие гипохлорита с оксигемоглобином приводит к освобождению железа в каталитически активной форме // Биофизика.— 1992.— Т.37.— С.1021—1028.
2. Antonini E., Brunori M. Hemoglobin and Mioglobin in Their Reactions with Ligands.— Amsterdam: North Holland Publ. Comp., 1971.
3. Bong-Sop Shim, Dae-Myung Jue. Simple spectrophotometric determination of haptoglobin level in serum // Clin. Chim. Acta.— 1984.— Vol.136.— P.145—153.
4. Bowman B.H., Barnett D.R. Haptoglobin // Meth. Enzym.— 1988.— Vol.163.— P.462—474.
5. Claiborne A. Catalase activity // Handbook of Methods of Oxygen Radical Research / Ed. R.A Greenwald.— Boca Raton: CRC Press, 1987.— P.283—284.
6. Gutteridge J.M.C. Iron promoters of the Fenton reaction and lipid peroxidation can be released from hemoglobin by peroxides // FEBS Lett.— 1986.— Vol.201.— P.291—295.
7. Gutteridge J.M.C. The antioxidant activity of haptoglobin towards haemoglobin-stimulated lipid peroxidation // Biochim. Biophys. Acta.— 1987.— Vol.917.— P.219—223.
8. Harel S., Salan M.A., Kanner J. Iron release from methyoglobin, methaemoglobin and cytochrom c by a system generating hydrogen peroxide // Free Radical Res. Commun.— 1988.— Vol.5.— P.11—19.
9. Halliwell B. Albumin-an important extracellular antioxidant // Biochem. Pharmacol.— 1988.— Vol.37.— P.569—571.
10. Kazlov A.V., Panasenkov O.M., Yegorov D.Yu., Vol'nova T.V., Azizova O.A. Antioxidant properties of albumin during the oxidation of linoleic acid and low density lipoproteins in the presence of ferrous ions // Biomed. Sci.— 1991.— Vol.2.— P.530—535.
11. Loiseau P., Jallon P. Post-traumatic epilepsy // Prog. Neurol. Surg.— 1981.— Vol.10.— P.323—343.
12. Morris J.C. The acid ionization constant of HOCl from 5 to 35°C // J.Phys.Chem.— 1966.— Vol.70.— P.3798—3805.
13. Pananga G., Rice-Evans C., Rule R., Leske D. Interaction between ruptured erythrocytes and low-density lipoproteins // FEBS Lett.— 1992.— Vol.303.— P.154—158.
14. Puppo A., Halliwell B. Formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron // Biochem. J.— 1988.— Vol.249.— P.185—190.
15. Putnam F.W. Haptoglobin // The Plasma Proteins / Ed. F.W.Putnam.— New York: Acad. Press, 1975.— P.1—50.
16. Rosen A.D., Frumin N.V. Focal epileptogenesis after intracortical hemoglobin injection // Exp. Neurol.— 1979.— Vol.66.— P.277—284.
17. Stefek R.P., Thomas M.J. Hydrogen peroxide modification of human oxyhemoglobin // Free Radical. Res. Commun.— 1991.— Vol.12.— P.489—497.

Б.Х.Ягмуров, Е.А.Острахович, А.А.Тимофеев, А.Г.Чучалин, С.К.Соодаева

ВЛИЯНИЕ ТРОВЕНТОЛА НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ

НИИ пульмонологии МЗ РФ, Москва

THE EFFECT OF TROVENTOL ON FREE RADICAL PROCESSES

B.H.Yahgmurov, E.A.Ostrakhovich, A.A.Timofeyev, A.G.Chuchalin, S.K.Sohodaeva

Summary

The medication effect on oxidative metabolism of various phagocyte types was studied by the luminol dependant chemiluminescent (ChL) method for investigating the troventol action mechanism. Peroxide lipid oxidation (PLO) in liver, lung, and brain homogenates was investigated to compare the effects of atropine and atrovent.

It was found that troventol inhibited the ChL-response of alveolar macrophages (AM) in 50–60% in comparison with placebo. That effect is considered to be explained by its influence on generation mechanisms of reactive oxygen species (ROS) by certain cells. Moreover, troventol did not influenced on activation of peritoneal macrophages.

As well the generation inhibition of ROS by AM with troventol as the effect absence in peritoneal macrophages are considered to be depended on features of reception interaction with phagocytes.

It was shown by the model system of lipid autooxidation in the brain homogenate that troventol has a great antioxidant activity. Nevertheless, it was not found any essential inhibition of PLO processes by the drug during the PLO induction with ferrous ions in lung and liver homogenates.

It was suggested that the inhibition may be conditioned by the various lipid content and the antioxidant delivery of various tissues as well as by microsomal function of the detoxitizing system where this drug like the other xenobiotics is hydroxylized.

Резюме

С целью исследования механизма действия тровентола изучали влияние препарата на окислительный метаболизм различных типов фагоцитов методом люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ), а также перекисное окисление липидов (ПОЛ) в гомогенатах печени, легких и мозга в сравнительном аспекте с атропином и атровентом.

Было обнаружено, что тровентол в отличие от препаратов сравнения ингибирует ХЛ-ответ альвеолярных макрофагов на 50–60%. По-видимому, такой эффект препарата связан с влиянием его на механизмы генерации АФК данными клетками. В то же время тровентол не влияет на активацию перитонеальных макрофагов.

Ингибирование генерации АФК альвеолярными макрофагами тровентолом при действии активаторов, как и отсутствие эффекта на перитонеальные макрофаги связано, по всей видимости, с особенностями рецепторного взаимодействия с фагоцитирующими клетками.

На модельной системе автоокисление липидов в гомогенате мозга было показано, что тровентол обладает значительной антиоксидантной активностью. Тем не менее при индукции ПОЛ ионами железа в гомогенатах легких и печени не обнаружено существенного ингибирования процессов ПОЛ препаратом.

Мы предполагаем, что последнее может быть обусловлено разным липидным содержанием и антиоксидантной обеспеченностью различных тканей, а также функционированием микросомальной детоксицирующей системы, в которой препарат, как и все ксенобиотики, подвергается гидроксилированию.

В настоящее время хорошо известно, что неотъемлемой частью патогенеза многих заболеваний легких является активация свободнорадикальных реакций. Из-за высокой реакционной способности свободные радикалы могут модифицировать белки, липиды, нуклеиновые кислоты [1], что приводит к резкому

нарушению функции органов и тканей. Помимо этого активные метаболиты кислорода в силу высокой токсичности сами по себе могут участвовать в первичных процессах запуска многих патологических состояний [3]. Так, введение ксантин—ксантиноксидазной системы генерации супероксидного радикала $O_2^{\cdot -}$ в просвет

бронхов приводит к бронхоспазму [9]. Известно, что активация фагоцитирующих клеток, в том числе и альвеолярных макрофагов, приводит к развитию "дыхательного взрыва". Одним из ключевых звеньев этого процесса является генерация НАДФН-оксидазным комплексом O_2^- . Избыточная продукция O_2^- и других радикалов (пероксид водорода, гидроксильные радикалы) способствует развитию как бронхоспастического синдрома, так и воспалительных процессов в легких. Таким образом, важная роль свободнорадикальных реакций в патогенезе легочных заболеваний указывает на целесообразность использования препаратов, обладающих ингибиторными свойствами по отношению к свободным радикалам в комплексной терапии заболеваний.

Настоящая работа посвящена исследованию некоторых физико-химических свойств и механизмов действия на свободнорадикальные процессы тровентола — отечественного бронхолитика, применяемого в клинике.

В работе использовали белых беспородных крыс-самцов линии Wistar массой 180—200 г, содержащихся на стандартном рационе вивария.

Для получения бронхоальвеолярного смыва (БАС) в трахею наркотизированной (гексенал 34 мг/мл, 1 мл внутримышечно) крысы через канюлю вводили 10 мл раствора Хенкса. После медленного двукратного промывания жидкость набирали в шприц и фильтровали через двойной слой нейлоновой сеточки [7].

Альвеолярные макрофаги получали двукратным центрифугированием (центрифуга ОПН-3) бронхоальвеолярного смыва при $400\text{ g} \times 10\text{ мин}$ [7]. После двукратной отмывки осадок ресуспендировали в 10 mM NaCl — 1 mM трис HCl буфере с $\text{pH} = 7,4$ ("Sigma") и хранили при температуре тающего льда. Перитонеальные макрофаги получали по методике [8]. Жизнеспособность клеток определяли тестом с трипановым синим и использовали суспензии, содержащие не менее 80% живых клеток [2]. Подсчет клеток производили в камере Горяева.

После получения БАС и перитонеальной жидкости легкие и печень животных перфузировали изотоническим раствором хлорида натрия для отмывания от крови, ткань измельчали и гомогенизировали в растворе Хенкса. Далее к 1 мл гомогената ткани добавляли исследуемый препарат (тровентол, атропин, атровент), в контрольные пробы вводили такое же количество буфера, перемешивали и ставили на инкубацию при 37°C . Через 5 минут после этого в пробы, кроме холостой (как с препаратом, так и без него), добавляли раствор $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 10^{-6} M и инкубировали 60 минут. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) останавливали антиоксидантом ионолом ("Serva", Германия) в концентрации $5 \cdot 10^{-5}\text{ M}$. Затем по общепринятой методике определяли уровень ТБК-активных продуктов [6, 12]. Конечные значения рассчитывали за вычетом значений соответствующих холостых проб.

Образование активных форм кислорода (АФК) клетками БАС и перитонеальными макрофагами определяли хемилюминесцентным методом на приборе LKB-1251 (Швеция) в режиме автоматического

управления и контроля за условиями и процессом измерения [5].

Антиоксидантная (АО) способность тровентола оценивалась по методике, описанной Стоксом [13], которая была нами незначительно модифицирована для гомогената мозга. Мозг крысы, отмытый от крови (2,5—3,0 г), гомогенизировали в 10 mM Трис-HCl буфере (15 мл, $\text{pH} = 7,4$) при 5°C и центрифугировали 15 минут при 1000 g. Полученный супернатант был разведен в три раза в Трис-HCl буфере, 2 мл которого инкубировали при 37°C в течение 2 часов с постоянным перемешиванием. Через 2 часа к 0,25 мл инкубационной смеси были добавлены 3 мл 1,5% H_3PO_4 и 1 мл 0,5% раствора ТБК и содержимое инкубировали 45 минут при 100°C . После центрифугирования при 1800 g (для осаждения белка) содержание ТБК-активных продуктов определяли, измеряя поглощение при 532 нм.

Спектры поглощения препаратов измерялись на спектрофотометре ("Hewlett Packard 8451 A", США) по стандартной методике. При этом использовали водный раствор субстанции препаратов в концентрации 10^{-2} мг/мл .

Спектры флуоресценции измерялись в стандартных кварцевых кюветках с длиной оптического пути 1 см на спектрофлуориметре MPF-44A "Perkin Elmer". Использовались водные растворы препаратов с концентрацией 10^{-3} мг/мл .

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием критерия Стьюдента.

Методом люминолзависимой ХЛ было обнаружено (рис. 1), что отечественный М-холинолитик тровентол при концентрации 10^{-3} мг/мл в суспензии клеток на 40—50% снижает форболмиристатацетат (ФМА) стимулированный, и на 50—70% стимулированный хризотил-асбестом ХЛ-ответ альвеолярных макрофагов в условиях *in vitro*. Это может быть связано с несколькими причинами:

1. Оптическим эффектом тушения (физико-химические свойства препарата), когда препарат поглощает в

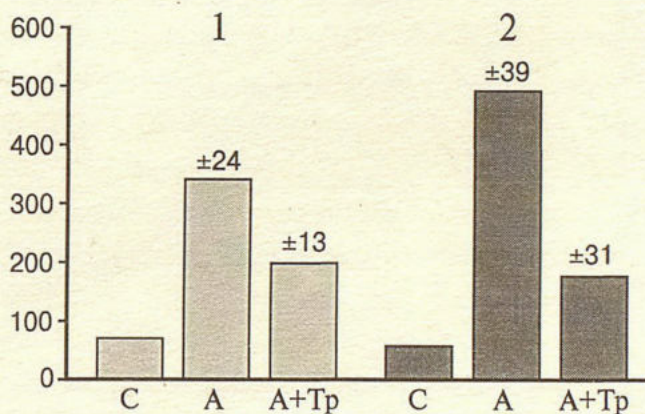


Рис. 1. Влияние тровентола на хемилюминесцентный (ХЛ) ответ стимулированных ФМА (1) и асбестом (2) альвеолярных макрофагов.

По оси абсцисс С и А — соответственно спонтанный и активированный ХЛ-ответ, А + Тр — активированный ХЛ-ответ в присутствии тровентола.
По оси ординат — интенсивность ХЛ (отн. ед.).

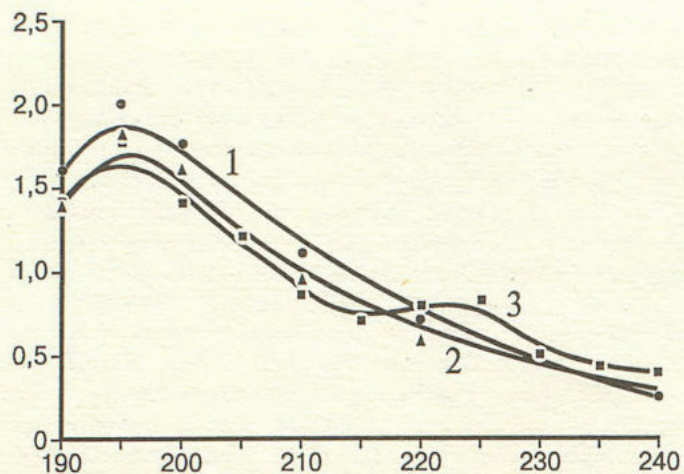


Рис.2. Спектры поглощения препаратов атропина (1), атровента (2) и тровентола (3).

По оси абсцисс — длина волны (нм).

По оси ординат — оптическая плотность (отн.ед.).

области испускания используемого нами сенсibilизатора, в данном случае люминола (*max.* испускания 425 нм),

2. Препарат является ловушкой радикалов,

3. Препарат влияет на механизмы генерации АФК.

Для того, чтобы конкретизировать с какой именно причиной связан эффект ингибирования ХЛ-ответа макрофагов тровентолом, необходимо рассмотреть их по отдельности. Исходя из этого были проведены следующие исследования:

1) изучение спектров поглощения и флуоресценции тровентола и препаратов сравнения. Как видно (рис.2,3), максимумы флуоресценции препаратов находятся в области 300 нм, а поглощения — в 194 и 224 нм, которые не совпадают с максимумом флуоресценции люминола. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии физического эффекта тушения.

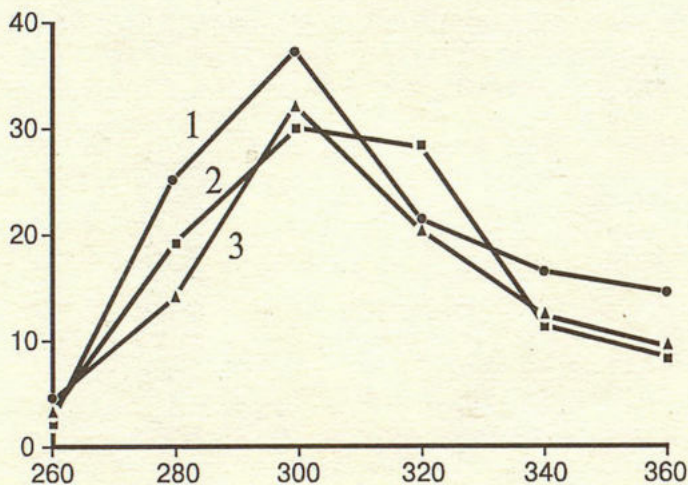


Рис.3. Спектры флуоресценции препаратов атровента (1), атропина (2) и тровентола (3).

По оси абсцисс — длина волны (нм).

По оси ординат — интенсивность ХЛ (отн.ед.).

2) ловушечные свойства препарата по отношению к свободным радикалам были оценены с использованием химических и ферментативных модельных систем генерации АФК, в частности ксантин—ксантиноксидазной (по восстановлению цитохрома С) системе генерации супероксидного радикала и в системе генерации гидроксильного радикала (реакция Фентона) [10], традиционно используемых при скрининге препаратов с возможными антирадикальными свойствами. Обнаружено, что препарат даже при высоких концентрациях (10^{-1} мг/мл) снижает генерацию радикалов всего на 10% в той и другой модельных системах. Таким образом, тровентол обладает слабыми ловушечными свойствами, которых недостаточно для объяснения вышесказанного — сильно выраженного эффекта ингибирования ХЛ-ответа альвеолярных макрофагов препаратом. По-видимому, тровентол влияет на механизмы генерации АФК альвеолярными макрофагами.

Помимо этого, исследование действия препарата на продукцию радикалов перитонеальными макрофагами при их активации ФМА и асбестом показало, что препарат не влияет на окислительный метаболизм этих клеток.

Одним из важнейших последствий токсического действия кислородных радикалов является пероксидация липидов. Безусловно, липиды — не единственная мишень для атаки свободных радикалов в живом организме, однако насыщенность клеток липидными мембранами, содержащими, в свою очередь, значительное количество остатков ненасыщенных жирных кислот, делает их наиболее вероятными субстратами свободнорадикальных процессов. ПОЛ в биологических мембранах приводит к изменениям в структурной целостности, ферментативной активности, рецепторной функции и ионном транспорте.

Т а б л и ц а

Антиоксидантная активность (АОА) препаратов: атропина, атровента и тровентола ($M \pm m$)

Препарат	Доза, мг/мл	АОА, ед.
Тровентол	10^{-9}	$0,30 \pm 0,13$
	10^{-6}	$0,45 \pm 0,10$
	10^{-3}	$0,60 \pm 0,09$
Атропин	10^{-9}	0
	10^{-6}	$0,20 \pm 0,06$
	10^{-3}	$0,40 \pm 0,08$
Атровент	10^{-9}	0
	10^{-6}	$0,30 \pm 0,07$
	10^{-3}	$0,40 \pm 0,10$

П р и м е ч а н и е. Достоверность различия $p < 0,05$.

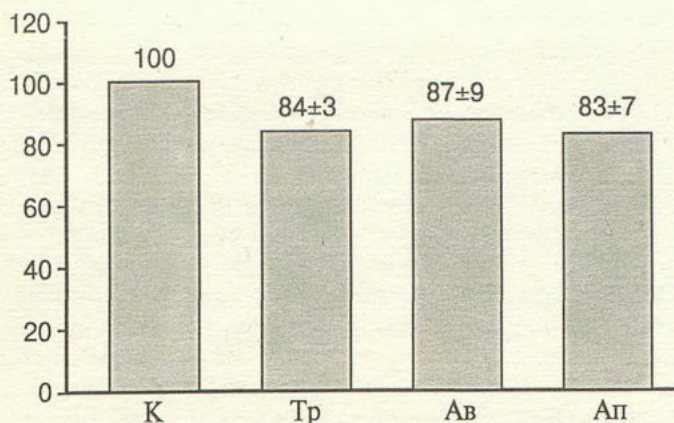


Рис.4. Влияние препаратов на перекисное окисление липидов в ткани легких.

По оси абсцисс: К — контроль, Тр — тровентол, Ав — атровент, Ап — атропин.

По оси ординат — процент от контроля.

Поэтому нами проведены исследования влияния препаратов на липидную перекисидацию в тканях печени, легких и мозга. ПОЛ в этих тканях зависит не только от интенсивности свободнорадикальных процессов, но и от мощности АО-защиты.

Изучение АО-активности тровентола и препаратов сравнения атропина и атровента в модельной системе автоокисления липидов гомогената мозга показало, что тровентол ингибирует ПОЛ на 60% концентрации 10^{-3} мг/мл, в то время как атровент и атропин в той же концентрации ингибировали этот процесс на 40% (таблица). При изучении действия этих препаратов на Fe^{2+} -индуцированное ПОЛ в гомогенате легких (рис.4) было обнаружено слабое подавление липидной перекисидации, а в гомогенате печени их эффект отсутствовал.

Исходя из полученных данных следует, что субстанция препарата тровентол не обладает антирадикальной активностью в ферментативных и неферментативных модельных системах генерации супероксидных и гидроксильных радикалов.

В то же время препарат обладает высокими АО-свойствами в ПОЛ, изученными в модельной системе автоокисления липидов гомогената мозга, характеризующейся, с одной стороны, высоким содержанием остатков ненасыщенных жирных кислот, основным субстратом окисления и низкой АО-защитой, с другой. По-видимому, действие тровентола, как и α -токоферола — классического ингибитора липидных радикалов, связано с его способностью подавлять образование липидных радикалов в системе.

Отсутствие влияния на Fe^{2+} -индуцированное ПОЛ гомогената печени и слабый эффект в гомогенате легких может объясняться функционированием микросо-

мальной детоксицирующей системы, в которой препарат, как и все ксенобиотики, подвергается гидроксильрованию, а образующиеся метаболиты не способны взаимодействовать с липидными радикалами. Кроме этого в данном случае может вносить свой вклад мощная АО система защиты, а также относительно малое содержание субстратов окисления — ненасыщенных жирных кислот в данных тканях.

Выявленное снижение тровентолом генерации радикалов альвеолярными макрофагами при их активации как ФМА, так и хризотил-асбестом не связано с его способностью инактивировать кислородные радикалы и с оптическим эффектом тушения. Более сильное подавление ХЛ-ответа в случае стимуляции хризотил-асбестом мы относим за счет электростатических взаимодействий препарата с мембраной клеток [4], поскольку активация асбестом происходит в результате поверхностных электростатических взаимодействий с плазматической мембраной клеток [11].

Ингибирование генерации АФК альвеолярными макрофагами тровентолом при действии упомянутых активаторов, как и отсутствие эффекта на перитонеальных макрофагах, связано, по всей видимости, с особенностями рецепторного взаимодействия с фагоцитирующими клетками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Потапенко А.Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов.— М.: Высшая школа, 1989.— С.170—179.
2. Клаус Д. Лимфоциты: Методы.— М.: Медицина, 1987.
3. Коркина Л.Г., Величковский Б.Т. Роль свободных радикалов кислорода в пылевой патологии легких // Кислородные радикалы в химии, биологии и медицине.— Рига: РМИ, 1988.— С.153—163.
4. Ситарчук И.А., Ягмуров Б.Х., Соодаева С.К., Чучалин А.Г. // Бюл. exper. биол.— 1994.— № 11.— С.476—478.
5. Ягмуров Б.Х., Тимофеев А.А., Соодаева С.К., Чучалин А.Г. // Там же.— № 6.— С.619—621.
6. Asakawa T., Matsushita S. // Lipids.— 1980.— Vol.15, № 3.— P.137—140.
7. Bechard D.E., Fisher B.J., Kessler F.K. et al. // J. Clin. Lab. Immunol.— 1988.— Vol.26.— P.67—71.
8. Berton G., Bellanite P., Dri P. et al. // J. Pathol.— 1982.— Vol.136.— P.273—276.
9. Giri S.N., Hyde D.M., Emau P., Misra H.P. // J. Exp. Mol. Pathol.— 1988.— Vol.49, № 3.— P.395—409.
10. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. // Free Radicals in Biology and Medicine.— Oxford: Clarendon Press, 1989.— P.28—31; 71—79.
11. Kamp D.W., Graceffa P., Pryor W.A., Weitzman S.A. // Free Radical. Biol. Med.— 1992.— Vol.12.— P.293—315.
12. Linseman K.L., Larson P., Braughler G.M., McCall G.M. // Biochem. Pharmacol.— 1993.— Vol.45, № 7.— P.1477—1482.
13. Stocks I., Gutteridge J.M.C., Sharp R.I., Dormandy T.L. // Clin. Sci.— 1974.— Vol.47, № 3.— P.215—222.

Поступила 26.12.94.

*С.О.Алейников, А.В.Наголкин, А.Г.Малишева, И.Е.Фурман,
Ю.А.Смирнов, Ю.Г.Сучков, В.В.Петросов, З.К.Петрова, И.И.Водорацкая*

ЭКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ОПТИМИЗАЦИИ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ ПОМЕЩЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ РЕЦИРКУЛЯЦИОННОЙ УСТАНОВКИ "ПОТОК-150М"

НИИ пульмонологии МЗ РФ;

НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н.Сысина РАМН;

НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН; НИИ эпидемиологии им. Н.Ф.Гамалеи РАМН;

НПФ "Поток Лтд"; Городская клиническая больница № 57 г. Москва.

ECOLOGICAL HYGIENICAL EXPERTIZE OF THE EFFICIENCY OF ROOM AIR ENVIRONMENT OPTIMISATION WITH THE RECIRCULATIVE UNIT "POTOK-150M"

*S.O.Aleynikov, A.V.Nagolkin, A.G.Malisheva, I.E.Furman, Yu.A.Smirnov, Yu.G.Suchkov, V.V.Petrosov,
Z.K.Petrova, I.I.Vodorackaya*

S u m m a r y

This work is dedicated to the study of the application possibility of the recirculative unit "Potok 150M" (it works according to the principal of the combined electrostatic and mechanical filter) for optimisation of air environment (AE) in the interior premises. With the unit operating under experimental and natural conditions the quality of AE was estimated according to indexes of concentration of aerosol particles (AP), microbe flora (MF), viruses and fungous flora (FF) in air and biologically active gaseous substances (BAYS). The unit ensured the effective drop of AP, MF, FF, styrolene, butylacetate, heptane, O-xylene, benzole, I-methy-3-ethylbenzole, 2-methylheptane and other BAYS in AE. The moderate enrichment of AE with light air ions and ozone was also registered. Time of unit operation unit was determined by concrete conditions of micro climate and architecture of premises. Thus, the recirculative unit "Potok 150M" allows to attach qualities to AE according to claimed demands of modern healthy dwelling and hospital premises.

Р е з ю м е

Работа посвящена изучению возможности использования отечественной рециркуляционной установки "Поток-150М" (работающей по принципу комбинированного электростатического и механического фильтра) для оптимизации воздушной среды (ВС) внутренних помещений. Качество ВС оценивали при работе прибора в экспериментальных и естественных условиях по показателям концентрации в воздухе аэрозольных частиц (АЧ), микробной (МФ) и грибковой флоры (ГФ), вирусов, а так же аэроионов (АИ) и биологически активных газообразных веществ (БАГ). Прибор обеспечивал эффективное снижение в ВС АЧ, МФ, ГФ, стирола, бутилацетата, гептана, О-ксилола, бензола, 1-метил-3-этилбензола, 2-метилгептана и других БАГ. Зарегистрировано умеренное обогащение ВС легкими АИ и озоном. Продолжительность работы прибора определялась конкретными условиями микроклимата и архитектуры помещений. Таким образом, рециркуляционная установка "Поток 150М" позволяет придавать ВС качества, соответствующие требованиям, предъявляемым к современному здоровому жилищу и больничным помещениям.

Современная экологическая обстановка на территории стран СНГ характеризуется высоким уровнем загрязненности атмосферного воздуха промышленными аэрозольными и газообразными веществами, оказывающими крайне неблагоприятное влияние на состояние бронхолегочной системы человека [3]. Вентиляционные системы жилых и больничных зданий в большинстве случаев не выполняют барьерных функций в отношении

внешних поллютантов. В связи с этим воздушная среда внутренних помещений содержит динамичный комплекс внешних и внутренних (домашняя пыль, грибковая и бактериальная флора, вирусы и т.д.) токсико-аллергенных субстанций [10]. Данное положение особенно опасно для больных с гиперчувствительностью дыхательных путей, поскольку присутствие в зоне дыхания человека неспецифических физико-

химических факторов может оказывать потенцирующий или суммационный эффект в отношении аллергензависимых бронхоспастических реакций [5,7,8]. Очистка воздуха в палатах аллергологического стационара дает настолько убедительный клинический эффект, что позволяет отнести данное мероприятие к числу перспективных методов лечения [1,9,11].

Однако полная очистка воздуха возможна только в специальных "чистых" помещениях, широкое использование которых невозможно из-за высокой стоимости и ограничения жизнедеятельности людей [2]. Среди паллиативных методов улучшения качества воздуха ведущее место занимают фильтрационные [9]. Одним из приборов нового поколения, работающих по принципу фильтрации, является рециркуляционная установка "Поток-150М".

Целью работы являлось изучение возможности использования рециркуляционной установки "Поток-150М" для оптимизации воздушной среды помещений.

В соответствии с целью исследования поставлены следующие задачи:

- 1 — санитарно-гигиеническая экспертиза прибора,
- 2 — изучение эффективности очистки воздуха помещений от пылевых частиц, бактериальной и грибковой флоры, вирусов гриппа.

Установка "Поток-150М" разработана и изготовлена отечественной научно-производственной фирмой "Поток Лтд" (г.Москва). Прибор предназначен для фильтрации и тонкой очистки воздуха в процессе его рециркуляции внутри помещений. Установка работает по принципу комбинированного электростатического и механического фильтра (рис.1). Всасываемый вентилятором воздух проходит через зону ионизации, после чего содержащиеся в нем аэрозольные компоненты высаживаются на фильтрующих элементах за счет механического захвата и сил электрического притяжения. Биологическая частота обрабатываемого воздуха

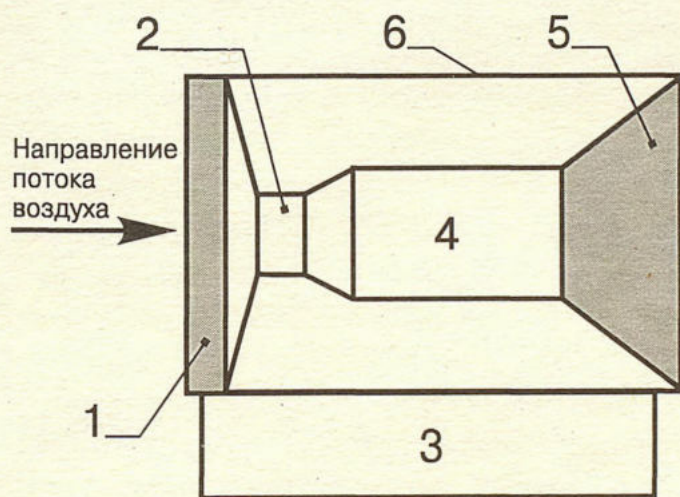


Рис.1. Принципиальная схема рециркуляционной установки "Поток-150М".

1 — предфильтр, 2 — вентилятор, 3 — блок питания с пультом управления, 4 — блок ионизации воздуха, 5 — фильтрующие элементы, 6 — корпус прибора.

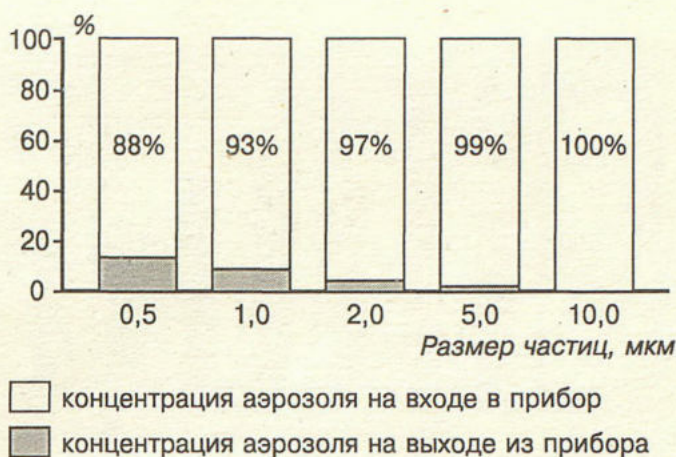


Рис.2. Эффективность фильтрации аэрозолей разной дисперсности.

достигается за счет инактивации микроорганизмов в электрических полях разноименной полярности в сочетании с воздействием на них озона, выделяющегося в зоне ионизации, а также задержки микроорганизмов на фильтрующих элементах. Производительность прибора $150 \text{ м}^3/\text{час}$. Потребляемая мощность 45 Вт. Масса 10 кг. Габаритные размеры, мм — $360 \times 325 \times 365$. Напряжение питания 220 В/50 Гц.

Изучение концентрации в воздухе озона осуществляли с помощью хемолуминесцентных анализаторов моделей "З — ОП" и "АНКАТ 760001", концентрации легких аэроионов — счетчиков "ИТ-840" и "АИ I М". Концентрацию токсических газообразных веществ определяли методом криогенного концентрирования жидким азотом с последующим хромато-масс-спектральным анализом. Для исследования эффективности очистки воздуха от аэрозольных частиц применяли анализаторы запыленности "ПКЗВ-806" и MET-one mod. 200". Для оценки биологической очистки воздуха использовали показатели микробного числа ($\text{мк}/\text{м}^3$), грибкового числа ($\text{гр}/\text{м}^3$), концентрацию кишечной палочки ($\text{мк}/\text{м}^3$) и наличие инфекционного вируса гриппа. Использовали следующие питательные среды: ЭНДО — для тест-культуры кишечной палочки, 2% мясопептонный агар и цисцеиновый агар фирмы "ДИФКО" — для воздушной микрофлоры, среду Сабуро — для дрожжевых и плесневых грибов. Инфекционность вируса гриппа (штамм А/WSN/33) определяли методом титрования на куриных эмбрионах. Забор проб воздуха производили аппаратом Кротова. В ряде случаев применяли седиментационный метод.

Программой исследований было предусмотрено два этапа работы. Первый этап заключался в экспериментальных исследованиях на базе герметичных или частично герметичных помещений с регулируемыми параметрами микроклимата. Второй этап исследований осуществлялся в естественных условиях помещений терапевтического отделения стационара.

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной статистики. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента.



Рис.3. Концентрация аэрозоля в воздухе различных помещений терапевтического стационара (20.04.94., 12⁰⁰).

Изучение эффективности тонкой фильтрации воздуха в условиях экспериментального помещения объемом 50 м³ с моделируемыми условиями микроклимата показало высокую степень очистки воздуха от частиц бытовой пыли. Коэффициент поглощения отчетливо возрастал по мере увеличения диаметра микрочастиц (рис.2).

В естественных условиях палат терапевтического стационара объемом 50 м³ в составе бытовой пыли преобладали частицы эпидермального покрова, текстильных принадлежностей, остатков насекомых и внутренних отделочных покрытий. Уровень запыленности воздуха в течение дня варьировал в широких пределах в зависимости от активности больных, качества влажной уборки помещений и эффективности проветривания. В коридоре уровень запыленности был выше, чем в палатах (рис.3). Концентрация пыли в атмосферном воздухе была существенно ниже. В связи с этим аэрозольное загрязнение воздушной среды палат определялось в значительной степени направлением



Рис.4. Распределение частиц пыли по размерам в воздухе больничных палат (50 м³) при работе установки "Поток-150М". * — $p < 0,05$.

воздушных потоков. Передвижение больных в палате способствовало увеличению концентрации пыли. Последняя возрастала в 5—6 раз после перестилания постели.

В связи с постоянным образованием и поступлением пыли в воздушную среду помещений существенное снижение ее уровня было достигнуто только при продолжительной работе рециркуляционной установки (рис.4). Не было получено достоверных различий между снижением уровня пыли в центральных и угловых отделах палат. По-видимому, это было связано с достаточно эффективным смешиванием воздушных масс в результате конвекционных потоков, передвижения больных и персонала. Прерывание работы прибора в ночное время на 8 часов (после непрерывного десятичасового функционирования) сопровождалось вновь увеличением концентрации аэрозолей, приближающейся к исходному значению. При работе установки на протяжении трех последовательных дней по десять часов ежедневно возникала тенденция прогрессирующего снижения запыленности воздуха. Определение необходимой продолжительности и периодичности работы прибора для достижения стабильного снижения концентрации аэрозолей требует дальнейших исследований.

В экспериментальных условиях показана высокая степень очистки воздуха от вирусов и бактериальной флоры. В лаборатории субвирусных структур Института вирусологии им. Д.И.Ивановского вирус гриппа в виде аэрозоля (в концентрации, значительно превышающей концентрацию в помещении с больными респираторными вирусными инфекциями) был обработан установкой в течение различного времени: 0,5, 1, 2, 5, 10 и 30 минут. Инфекционный титр вируса после 30-секундной обработки был равен исходному. После обработки в течение 1 минуты (двукратный воздухообмен) и больше инфекционного вируса не определяли. Полученные результаты указывают на высокую эффективность по инаktivации вируса гриппа.

В условиях динамической камеры (объемом 100 м³) лаборатории иммунопрофилактики НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН при выключенной системе приточно-вытяжной вентиляции с помощью металлического

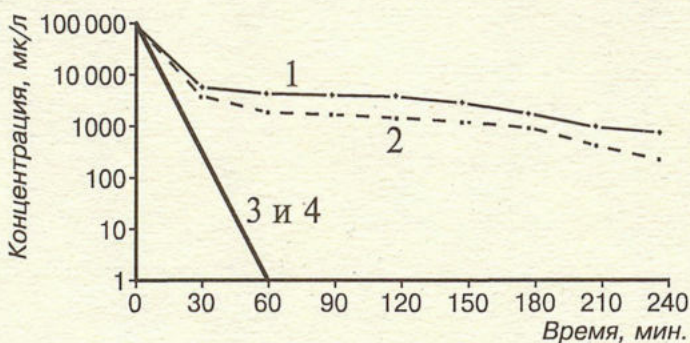


Рис.5. Динамика концентрации кишечной палочки в воздухе замкнутого помещения объемом 100 м³.

1 — фоновые данные в первом эксперименте; 2 — фоновые данные во втором эксперименте; 3 — при работе установки в первом эксперименте; 4 — при работе установки во втором эксперименте.

распылителя с отбойником (диаметр аэрозольных частиц менее 2 мкм) диспергировали суспензию микроорганизмов кишечной палочки К-12 (10^9 мк/мл по оптическому стандарту). Экспозиция опыта 4 часа. Эксперимент был повторен дважды. Каждые 30 минут производили смену чашек Петри со средой Эндо, расположенной в 5 разных точках помещения, и отбирали пробы в прибор МЦ-2 с 5 мл физраствора. На протяжении всего эксперимента концентрация микробных клеток имела тенденцию к снижению. После определения фоновых показателей опыт был повторен при работающей установке "Поток-150М". Концентрация микробных клеток падала на два порядка в течение первых 30 минут. Спустя 60 минут роста микроорганизмов получить не удалось (рис.5). Таким образом, прибор обеспечивал эффективную очистку неветилируемого помещения объемом 100 м^3 в течение одного часа.

В производственном отделе сушки препаратов (объемом 60 м^3) с функционирующей вентиляционной системой изучали микробную обсемененность воздуха. На протяжении четырех часов фоновый уровень оставался стабильным. Далее в том же помещении при трех сотрудниках, работающих без респираторов, были отобраны пробы воздуха до и после работы установки. Двукратное повторение опыта показало увеличение обсемененности воздуха микроорганизмами за счет присутствия людей. Наиболее быстрая очистка воздушной среды происходила на расстоянии 1,5 м от прибора (зона "факела"). В более отдаленных участках помещения санация воздуха была достигнута в течение 60 минут (рис.6).

Аналогичные испытания были проведены в присутствии трех работающих сотрудников, использовавших респираторы типа "лепесток". Применение респираторов способствовало снижению фоновому уровню обсемененности воздуха микроорганизмами. Стерилизация воздушной среды была достигнута в течение 30 минут. Таким образом, установка "Поток-150М" может быть использована для создания "чистых" рабочих мест в боксах при работе с биологическими объектами 3—4 групп патогенности.

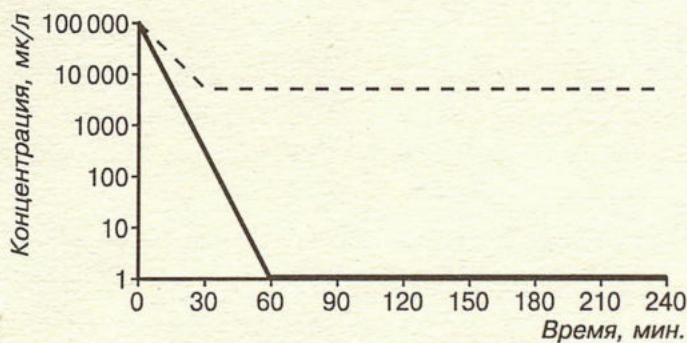


Рис.6. Динамика концентрации микробов в негерметичном производственном помещении объемом 60 м^3 с тремя работающими сотрудниками.

Пунктирная линия — фоновый уровень; непрерывная линия — при работе прибора.

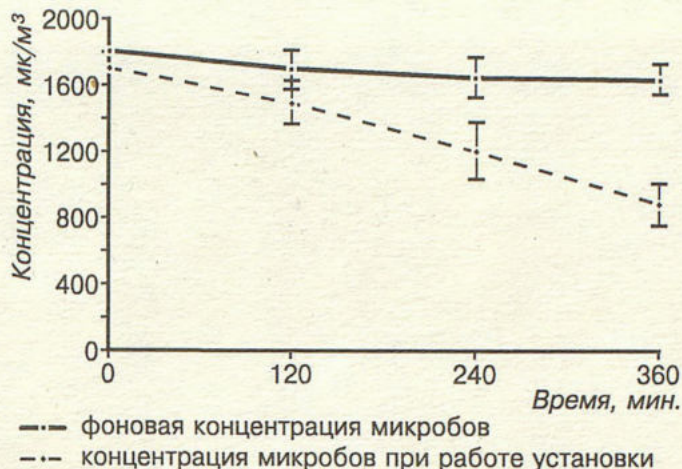


Рис.7. Влияние продолжительности работы установки "Поток-150М" на концентрацию микробов в воздухе больничных палат.

В палатах терапевтического стационара изучали эффективность биологической очистки воздуха по показателям грибкового и микробного чисел. Фоновая концентрация микробов и грибов незначительно колебалась в течение шестичасового наблюдения (рис.7 и 8). При непрерывной шестичасовой работе прибора на расстоянии 1,5 м по направлению воздушного потока происходило отчетливое снижение уровня микробной и грибковой обсемененности по сравнению с фоном ($p < 0,05$). Однако после 18-часового перерыва концентрация микробов и грибов вновь возрастала, приближаясь к исходным значениям. При работе прибора в течение трех последовательных суток, по шесть часов ежедневно, появлялась тенденция к снижению фоновому уровню биологической загрязненности помещения. Полученные данные свидетельствуют о возможности применения установки "Поток-150М" для биологической очистки больничных палат.

Заложенный в конструкции прибора принцип электрофилтра требовал изучения образования аэроионов, озона, окислов азота и других газообразных биологически активных веществ.



Рис.8. Влияние продолжительности работы установки "Поток-150М" на концентрацию грибов в воздухе больничных палат. * — $p < 0,05$.

Гигиенический эффект обработки установкой "Поток-150М" воздушной среды помещения лаборатории объемом 95 м³ при непрерывной работе в течение 17 часов в режиме "Ozone"

Вещество	Концентрация, мкг/м ³		ПДК, мкг/м ³	Показатель загрязненности, ПДК		Кратность изменения уровня содержания вещества в процессе обработки
	фон	после обработки		фон	после обработки	
Ацетон	15	15	350	0,04	0,04	не изменился
3-Метилпентан	12	10	25 000	0,0005	0,0004	1,2
Гексан	25	50	25 000	0,001	0,002	0,5
1,2-Дихлорэтан	10	10	1000	0,01	0,01	не изменился
Бензол	30	12	1000	0,03	0,012	2,5
Четыреххлористый углерод	6	6	700	0,009	0,009	не изменился
Гептан	40	15	25 000	0,002	0,001	2,7
Толуол	45	40	600	0,075	0,07	1,1
2-Метилгептан	10	8	25 000	0,0004	0,0003	1,3
Бутилацетат	10	—	100	0,1	0,0	полная деструкция
Этилбензол	20	8	20	1,0	0,4	2,5
м.п.-Ксилолы	40	25	200	0,2	0,13	1,6
о-Ксилол	35	18	200	0,18	0,09	1,9
1-Метил-3-Этил-бензол	14	10	20	0,7	0,5	1,4

На выходе из прибора концентрация легких положительных аэроионов составляла 200 ион/см³ (фоновая концентрация 160 ион/см³), а отрицательных — 330 ион/см³ (фоновая концентрация 290 ион/см³).

Концентрация озона на выходе из прибора составляла 10—12 мкг/м³. Работа установки в неветилируемом закрытом помещении с регулируемыми условиями микроклимата объемом 27 м³ в течение трех часов вызвала повышение концентрации озона до 20 мкг/м³ (рис.9). Продукция озона составляла 0,78 мкг/час. При десятичасовой непрерывной работе прибора в палате терапевтического стационара объемом 50 м³ концентрация озона незначительно повышалась, не превышая 15 мкг/м³ (фоновый уровень озона 6—8 мкг/м³).

Образование диоксидов азота зарегистрировано в незначительном количестве. Не получено данных по их накоплению в закрытом помещении.

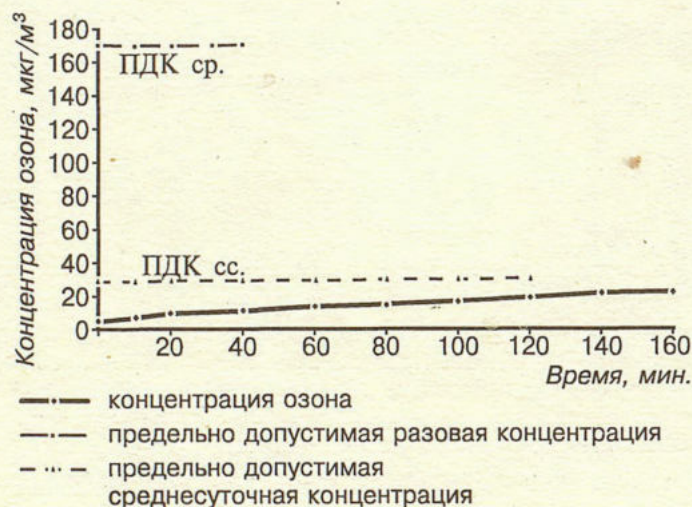


Рис.9. Концентрация озона в зависимости от длительности работы установки "Поток-150М".

При работе прибора в помещении объемом 95 м³ на протяжении 17 часов происходила частичная или полная деструкция ряда газообразных токсических веществ (таблица). Миграции в воздух токсических веществ из материалов корпуса при контакте с кожей рук выявлено не было. Гигиенический эффект озонирования воздушной среды помещений: суммарное содержание токсичных веществ после 2,5-часовой работы установки в режиме озонирования снизилось в 6 раз, а токсичность воздушной среды, определяемая по суммарному показателю загрязненности, уменьшилась почти в 7 раз.

Таким образом, за период работы установки, необходимый для появления отчетливых признаков очистки воздуха, во внутренних помещениях не происходило накопления биологически активных факторов в концентрациях, опасных для здоровых людей.

Результаты эколого-гигиенической экспертизы рециркуляционной установки "Поток-150М" показали, что с ее помощью можно значительно улучшить качество воздушной среды в зоне дыхания человека. По сравнению с приборами более раннего поколения установка позволяет значительно эффективнее очищать воздушную среду от мелкодисперсных аэрозолей и воздушной микрофлоры [4,6].

Степень очистки воздуха помещений отчетливо возрастает по мере увеличения времени работы прибора. Продолжительность функционирования установки в больничных палатах может лимитироваться образованием озона. Необходимо учитывать, что озон в концентрации ниже предельно допустимых (ПДК) способствует усилению бронхоспастических реакций у пациентов с гиперчувствительностью дыхательных путей к различным антигенам [12]. Определение оптимального периода работы прибора в присутствии данного контингента больных (представляющих собой

группу риска) является предметом дальнейших исследований.

На основании проведенного этапа эколого-гигиенической экспертизы можно сделать заключение о возможности использования установки "Поток-150М" для очистки воздуха помещений в присутствии здоровых людей, а также больных, находящихся в учреждениях, располагающих средствами контроля за качеством воздушной среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева И.И., Чучалин А.Г. Новые аспекты лечения atopической бронхиальной астмы с помощью воздухоочистительного аппарата "АЭР-О-МЕД 150" // Пульмонология.— 1994.— № 1.— С.65—68.
2. Дорошина Ю.А., Басманов М.М., Губанкова С.Г. и др. Безаллергенные палаты в лечении полинозов и бронхиальной астмы // Тер. арх.— 1986.— № 4.— С.49—51.

3. Луценко М.Г., Целуйко С.С., Манаков Л.Г. и др. Механизмы влияния атмосферных загрязнений на течение заболеваний легких // Пульмонология.— 1992.— № 1.— С.6—10.
4. Хаякава И. Чистые помещения.— М.: Мир, 1990.
5. Ackermann R., Behrends H.B., Ehrensberger R. (Hrsg.). Umwelt und Allergie.— Cloppenburg: G.Runge, 1992.— S.180.
6. Chai H., Spector S.L. Aerosol and air filter therapy // Bull. N.Y. Acad. Med.— 1981.— Vol.57.— P.568—571.
7. Durgemann H. Karenz — Expositionsprophylaxe // Atemwegs — u. Lungenkr.— 1978.— Bd 4, № 7.— S.10—15.
8. Edling C., Hellquist H., Odqvist L. Occupational formaldehyde exposure and the nasal mucosa // Rhinology.— 1987.— Vol.25, № 181.— P.86—88.
9. Jorde W., Schata M. Zur Wirksamkeit von Luftreinigungsgeräten bei Krankheiten mit inhalativer Allergeninvasion // Atemwegs-u. Lungenkr.— 1988.— Bd 14, № 10.— S.492—497.
10. Jorde W., Schata M. Innenraumallergene.— München: Dustri, 1992.— S.182.
11. Lauter H., Schata M. Allergisches Astma bronchiale // Z. Allgemeinmed.— 1993.— Bd 69, № 7.— S.5.
12. Lippman M. Health effects of ozone. A Critical review // J. Air Pollut. Control Ass.— 1988.— Vol.39, № 5.— P.672—695.

Поступила 25.11.94.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.248—085.835

О.С.Васильева, А.В. Наголкин, И.Е.Фурман, С.Ю.Власенко, Е.В.Володина

ЛЕЧЕБНО-ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ "ЧИСТОГО ВОЗДУХА" С ПОМОЩЬЮ РЕЦИРКУЛЯЦИОННОЙ УСТАНОВКИ "ПОТОК-150М" В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

НИИ пульмонологии МЗ РФ, НПФ "Поток Лтд"

MEDICAL HEALTH RECOVER EFFECT OF "CLEAR AIR" APPLICATION THROUGH THE RECIRCULATIVE UNIT "POTOK-150M" IN COMPLEX TREATMENT IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

O.S.Vasiljeva, A.V.Nagolkin, I.E.Furman, S.Y.Vlasenko, E.V.Volodina

Summary

The air-cleaner "Potok-150M" was installed in the wards as an extra treatment parallel with the universally recognized complex of therapeutic treatment for 34 patients with atopic, mixed, infections and professional forms of bronchial asthma. The positive dynamics in the patients' feeling was marked after the 7th—10th day of the curing according to their objective conditions of health and daily peakflowmeter data. At the end of the therapeutic course of treatment, 41.2% of patients the statistically-significant growth of the exhale volume was found in comparison with the data before treatment as well as indices in the control group. Considerably fast achievement in clinic remission, decrease of hyperreactivity of bronchi and hypersensitivity to aetiological agents were marked as a result of air-cleaner "Potok-150M" application in treatment of patients with bronchial asthma.

Резюме

Наряду с общепринятым комплексом терапевтических мероприятий 34 больным БА (атопическая, смешанная, инфекционная и профессиональная формы) в качестве дополнительного лечения в палатах был установлен воздухоочистительный аппарат "Поток-150М". К 7—10-му дню лечения отмечена положительная динамика в самочувствии больных, их объективном статусе и по данным суточной пикфлоуметрии. К концу курса терапии у 41,2% больных выявлен статистически значимый рост объема

выдоха по сравнению с данными до лечения и показателями в контрольной группе. Было отмечено более быстрое достижение клинической ремиссии, снижение гиперреактивности бронхов и гиперчувствительности к этиологическим агентам в результате использования в лечении больных БА воздухоочистителя "Поток-150М".

Проблема обеспечения чистого воздуха в бытовых, производственных и жилых помещениях становится особенно актуальной из-за массивного загрязнения окружающей среды пылью, газами и различными вредоносными агентами. Экспериментальными исследованиями установлено, что 53,3% всех токсических веществ и аллергенов, находящихся в воздухе, поглощаются органами дыхания [2]. Таким образом, современный человек практически постоянно находится под повреждающим воздействием поллютантов и живет в условиях хронического воспалительного процесса [8]. Наиболее опасной является мелкодисперсная фракция пыли с диаметром частиц около 1—5 мкм. К ним относятся широко распространенные в окружающем воздухе бактериальные и химические аллергены, некоторые виды пыльцы, споры грибов и продукты жизнедеятельности особо опасных микроорганизмов, как, например, домашние клещи. При попадании в дыхательные пути они способны проникать в глубже лежащие отделы, достигать бронхиол и альвеол и долго задерживаться в них, так как процесс элиминации частиц пыли происходит очень медленно [6].

Ввиду высокой биологической активности большинство аэрозолей способно оказывать не только местное раздражающее и алерговоспалительное действие в дыхательных путях, но вызывать существенные нарушения в механизмах гомеостаза целого организма. Это привело к значительному росту заболеваний аллергической природы, особенно бронхиальной астмы.

Для развития приступа удушья достаточной бывает ничтожная концентрация аллергена, обуславливающая быстроту бронхоспастической реакции [2,4]. Постоянное присутствие в окружающем воздухе раздражающих агентов способствует поддержанию алерговоспалительного процесса в дыхательных путях и переходу бронхиальной астмы в тяжелую, хронически рецидивирующую форму заболевания.

В этой связи очевидна необходимость изыскания средств эффективной защиты органов дыхания от воздействия поллютантов и создания для больного условий, направленных на снижение гиперчувствительности и гиперреактивности бронхов.

В определенной степени это достигается с помощью искусственного микроклимата в галокамерах, при использовании гелий-кислородных смесей, аэроионизации, гипоксических и гипоаллергических сред [5,7]. По данным ряда исследований, помещение больных бронхиальной астмой в безаллергические условия показало медленное, но достоверное снижение гиперреактивности бронхов, переводя заболевание из тяжелой, постоянно рецидивирующей формы в более легкую [3,7].

В последнее время в литературе появляются сведения об успешном применении в лечебно-профилактических целях больным бронхиальной астмой специально

разработанных воздухоочистительных приборов, в частности "Аэр-О-мед 150" (фирма "Хелтер") [1,11].

Одним из отечественных аппаратов, предназначенных для элиминации пылевых частиц, токсических веществ, патогенных микроорганизмов и аллергенов, является портативная установка "Поток-150М". Биологическая очистка воздуха достигается в ней с помощью рециркуляции воздушных масс, тонкой фильтрации частиц пыли (в том числе и респираторной фракции — размерами от 0,5 до 10 мкм) с последующей их адсорбцией и инактивацией.

Цель настоящих исследований заключалась в оценке лечебно-оздоровительного эффекта воздухоочистительной установки "Поток-150М" в комплексной терапии больных бронхиальной астмой.

Отбор больных для исследований проводился с учетом формы заболевания, стадии (согласно существующей классификации бронхиальной астмы), а также пола и возраста. Принимались во внимание этиологические факторы заболевания, особенности его течения, периоды обострения и длительности ремиссии.

Основную группу обследованных составили 34 больных БА (14 мужчин и 20 женщин), протекающей по atopическому (13 чел.), смешанному (11 чел.) и инфекционному (10 чел.) типам. У 6 человек из них заболевание было обусловлено профессиональными факторами: работа в контакте со стиральными моющими средствами, биовитаминными концентратами, комбикормами, животными и птицей. Возраст больных в среднем был равен $34,52 \pm 3,38$ года.

Контрольная группа состояла из 20 человек, которые по основным параметрами отбора (диагноз заболевания, форма, стадия, возраст и пол) не отличались существенно от основной. Различия заключались в оснащении палат больных основной группы воздухоочистительными установками. Эксплуатация приборов проводилась в присутствии больных ежедневно в течение 5—6 часов в сутки на режиме работы "норма" и в течение 20—25 минут на режиме "озон" — в отсутствии больных в палате. Концентрация озона и аэроионов в воздухе после окончания работы прибора, по данным контрольных измерений, не превышала предельно допустимых норм.

Принимая во внимание огромное значение психологического настроя больных БА на лечение и необходимость активного вовлечения их в лечебный процесс с целью успеха терапии [5,9,10], нами предварительно были проведены разъяснительные беседы с каждым пациентом. Больным предлагалось самостоятельно заполнять график ежедневной 3-разовой пикфлоуметрии [10], контролировать свое самочувствие в процессе лечения, следить за его динамикой до и после включения воздухоочистительного прибора, высказать свое мнение о целесообразности использования прибора в терапии.

Результаты интервьюирования больных были зафиксированы в специально разработанных анкетах-опросниках и проанализированы. Положительную оценку проводимому лечению с помощью воздухоочистителя дали большинство пациентов (21 чел — 61,8%). Критериями ее были следующие: 1) ощущение в палатах свежего воздуха к 7—10 дням работы прибора; 2) сокращение приступов удушья в дневное время и отсутствие их в ночные часы; 3) смягчение кашля; 4) разжижение и свободное отхождение мокроты; 5) возможность сделать полный выдох; 6) более продолжительный и спокойный сон. 7 (20,6%) больных дали отрицательную оценку, которая заключалась в ощущении неприятного запаха и духоты при закрытых окнах и двери, утомлении от шума работающего вентилятора. Остальные 6 (17,6%) затруднялись в характеристике прибора. Анализ данных субъективного восприятия воздухоочистителя и результатов объективного обследования проводился с учетом базисной терапии: характера препаратов (β_2 -агонисты, гормоны, метилксантины и т.д.), их дозы, дня отмены.

На 6—8-й день работы прибора была отмечена положительная динамика у 8 (23,5%) больных: нормализация частоты дыхания и пульса, уменьшение количества хрипов в легких, улучшение проходимости бронхов. В контрольной группе эти изменения регистрировались у 3 (15%) больных. К 15-му дню лечения на фоне работы воздухоочистителя улучшение объективного статуса имело место почти у половины больных (16 чел. — 47%). Разница с контрольной группой оказалась статистически достоверной — $p < 0,05$ (рис.1).

Результаты суточного мониторинга пикфлоуметрии показали значимое увеличение среднестатистической объемной скорости выдоха (ПОС выд., л/мин.) у больных атопической БА основной группы уже на 9—12-й день лечения. К концу курса терапии (15—20-й день) изменение ПОС выд. было статистически достоверным, как в динамике наблюдения, так и по сравнению с контрольной группой: $150,21 \pm 3,23$ л/мин.

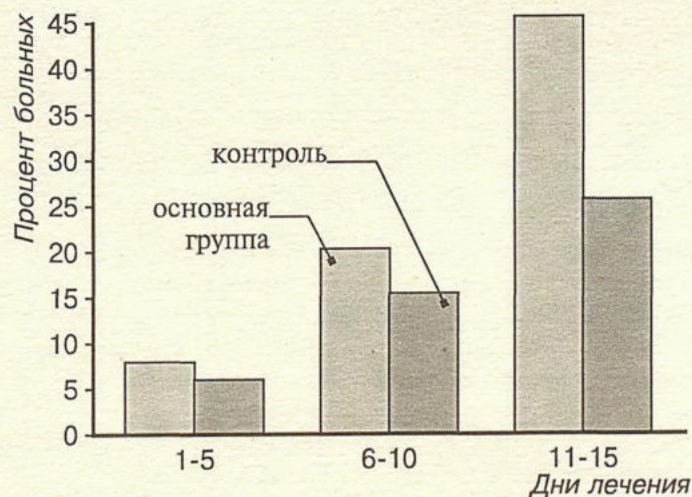


Рис.1. Динамика улучшения объективного статуса и самочувствия больных при использовании установки "Поток-150М".

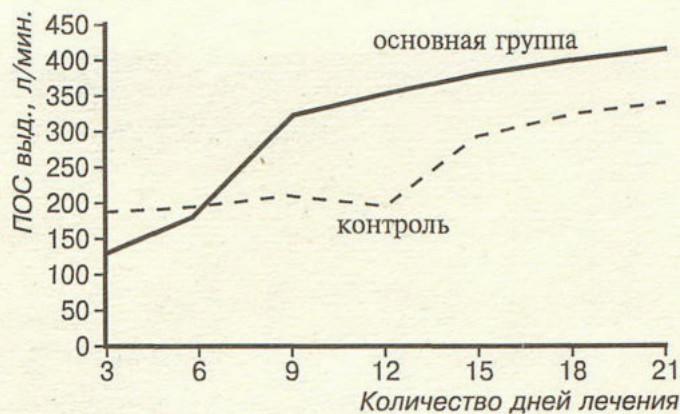


Рис.2. Динамика пиковой объемной скорости выдоха у больных БА в процессе лечения с использованием установки "Поток-150М".

— в начале лечения и $403,54 \pm 4,42$ л/мин в конце. В контрольной группе: $171,52 \pm 4,57$ л/мин и $252,73 \pm 5,06$ л/мин, соответственно (рис.2).

Характер кривых графика пикфлоуметрии также имел различия в двух сравниваемых группах (рис.3). У 41,2% больных с атопической БА и БА профессионального генеза (легкого течения и средней тяжести) к 10—12-му дню лечения наблюдались менее выраженные суточные колебания пиковой объемной скорости, чем в контрольной группе. Это указывало на снижение гиперреактивности бронхов на фоне лечения с помощью воздухоочистительной установки. Нами было отмечено снижение среднестатистического уровня сывороточного IgE (с $178,39 \pm 7,32$ ед. в начале лечения до $124,36 \pm 5,27$ ед. в конце курса) — рис.4, а также уменьшение гиперчувствительности к этиологическим аллергенам (АГ) по результатам кожных проб (на АГ пыльцы, домашней пыли, шерсти животных, грибковые, бактериальные, производственной пыли) к 15—20-му дню лечения.

Снижение дозы базисной терапии (и отмена гормональных препаратов) в основной группе происходила в среднем на $3,71 \pm 0,82$ дня раньше, чем в контрольной, а пребывание больного на койке сократилось на $4,65 \pm 1,03$ дня.



Рис.3. Характер кривой пикфлоуметрии в основной и контрольной группах в разные дни лечения.



Рис. 4. Динамика уровня иммуноглобулина Е у больных АБА в процессе лечения с использованием установки "Поток-150М".

Сопоставляя данные субъективных оценок и результаты объективных исследований, выяснили, что в целом у 53% (18 из 34) больных БА был отмечен положительный клинический эффект от применения воздухоочистительного аппарата. Это были лица с БА атопического, смешанного и профессионального генеза легкого течения и средней тяжести. Значимого положительного влияния на больных БА инфекционно-зависимой формы мы не отметили. Также не было выявлено отрицательного воздействия и побочных эффектов. У больных с профессиональной бронхиальной астмой была замечена обратная зависимость положительного лечебного эффекта "чистого воздуха" от длительности контакта с производственными вредностями (рис. 5). Это может служить обоснованием к рекомендации использовать метод элиминации пыли и аллергенов в первые (1—5) годы работы на производстве в качестве профилактики развития БА.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать предварительные заключения о положительном влиянии воздухоочистительной установки "Поток-150М" на больных БА. Лечебно-оздоровительный эффект заключается: а) в снижении раздражительного воздействия окружающего воздуха; б) в уменьшении гиперреактивности бронхов; в) в снижении гиперчувствительности к АГ; г) в улучшении адекватной вентиляции в легких; д) в приближении клинической ремиссии. Для подтверждения приведенных данных целесообразны дальнейшие более углубленные исследования в этой области.

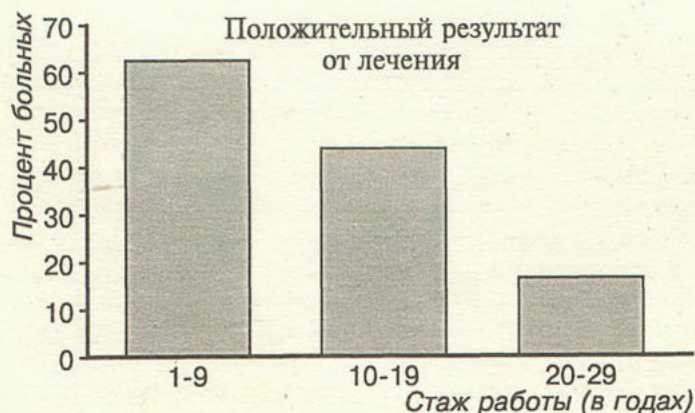


Рис. 5. Лечебный эффект при использовании воздухоочистителя у больных с различным стажем работы в условиях запыленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева И.И., Чучалин А.Г. Новые аспекты лечения атопической бронхиальной астмы с применением воздухоочистительных аппаратов "АЭР-О-МЕД 150" // Пульмонология.— 1994.— № 1.— С. 65—68.
2. Величковский Б.Т. Экологическая пульмонология // Пульмонология.— 1991.— № 1.— С. 47—51.
3. Гуцин И.С., Фассахов Р.С. Поздняя реакция бронхов в патогенезе бронхиальной астмы // Там же.— 1992.— № 3.— С. 72—77.
4. Сальбутамол / Под ред. А.Г. Чучалина, И. Хамида.— М.: Фармединфо, 1992.— С. 4—17.
5. Собченко С.А., Коровина О.В. Опыт работы "школы для больных бронхиальной астмой" // Пульмонология.— 1991.— № 3.— С. 14—19.
6. Тернер-Уорвик М. Иммунология легких.— М.: Медицина, 1982.— С. 19—31.
7. Хадарцев А.А. Лечебно-реабилитационный блок дневных стационаров для больных заболеваниями органов дыхания // Пульмонология.— 1991.— № 4.— С. 23—25.
8. Чучалин А.Г. Механизмы защиты органов дыхания // Там же.— 1992.— № 1, Приложение.— С. 8—15.
9. Drumond N., Abdalla M.K., Buckingham J. Integrated care for asthma: a clinical social and economic evaluation // Br. Med. J.— 1994.— Vol. 308.— P. 559—563.
10. Friend J.A., Legge J.S., Douglas J.Y. Effectiveness of routine self monitoring of peak flow in patients with asthma // Ibid.— P. 564—567.
11. Schata M.H., Lauter H., Stockmann H.W. Therapeutical influence on allergic respiratory diseases by eliminating allergens and particles with the air-cleaning system "Aero-med 150" // Allergy J.— 1993.— Vol. 67.— P. 116—126.

Поступила 26.12.94.

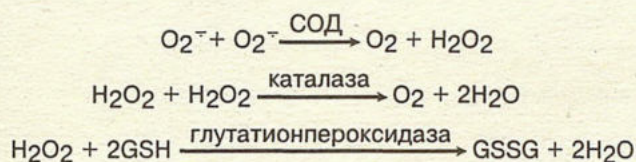
Е.С.Дремина, В.С.Шаров, Ю.А.Владимиров

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

НИИ физико-химической медицины МЗ РФ, г.Москва

В настоящее время не вызывает сомнений, что в развитии многих заболеваний определенную роль играют свободнорадикальные процессы и антиоксидантная терапия является важным компонентом мероприятий по реабилитации больных [17]. Поэтому определение антиоксидантной активности (АОА) тканей, биологических жидкостей, а также лекарственных препаратов является важной задачей для медико-биологических и клинических исследований.

Изучение механизмов антиоксидантной защиты позволило установить, что основными внутриклеточными ингибиторами свободнорадикальных процессов являются специальные ферменты супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и глутатионпероксидаза, которые катализируют реакции с активными формами кислорода, приводящие к образованию неактивных продуктов [9,15,17]:



Субстратом последней реакции являются также первичные продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), гидроперекиси липидов и других органических молекул, которые могут участвовать в дальнейшем развитии свободнорадикального повреждения биосубстратов и являются токсичными соединениями для клеток [8]. Кроме ферментных систем, в клетках существуют также соединения, которые способны перехватывать свободные радикалы и таким образом тормозить цепные реакции свободнорадикального окисления. Из них наибольшей специфичностью и эффективностью обладают липидные антиоксиданты α -токоферол, каротиноиды, убиноны и флавоноиды. Наконец существуют системы, предназначенные для связывания и инактивации ионов металлов с переменной валентностью, главным образом железа, которые являются эффективными катализаторами образования свободных радикалов в биологических системах. Кроме специфических белков (ферритин, лактоферрин), к их числу следует отнести также другие белки, пептиды и низкомолекулярные соединения, способные хелатировать катионы металлов с переменной валентностью [18].

Вопрос о том, что является основным ингибитором ПОЛ во внеклеточных жидкостях *in vivo*, широко обсуждается. Биологические жидкости, такие как плазма крови, тканевая жидкость, ликвор, синовиальная жидкость, обладают очень низкой каталазоподобной и СОД-активностью. Marklund et al. выделили внеклеточную СОД (ВК—СОД), которая хотя и содержит Zn и Cu, но отличается от внутриклеточной СОД более высоким молекулярным весом и способностью связываться с углеводами [21]. Биологическая роль такой внеклеточной СОД не ясна, так как активность этого фермента очень низка; тем не менее было показано, что ВК—СОД связывает гепарин и, вероятно, *in vivo* может связываться с поверхностью эндотелия сосудов и образовывать защитный слой на клетках. В

плазме крови была обнаружена селенсодержащая глутатионпероксидаза, причем эта внеклеточная глутатионпероксидаза отличается от внутриклеточной [18]. Однако следует учитывать, что в плазме крови мышей содержится всего 20 мкМ глутатиона, а в плазме крови человека его концентрация еще меньше — 2 мкМ [8]. В то же время общепризнано, что плазма крови обладает выраженной способностью ингибировать развитие ПОЛ в различных системах [16]. По-видимому, наибольшее значение в антиокислительном действии плазмы крови имеют неферментативные механизмы ингибирования свободнорадикальных реакций.

Таким образом, в соответствии с классификацией, приведенной в обзоре [18], необходимо учитывать наличие нескольких возможных механизмов антиокислительного действия:

- 1) снижение локальной концентрации кислорода,
- 2) ферментативное и неферментативное ингибирование свободнорадикальных активных форм кислорода,
- 3) тушение синглетного возбужденного кислорода ($^1\text{O}_2$), способного образовывать гидроперекиси липидов, специфическими и неспецифическими ингибиторами (ликопен, β -каротин и др.) [12,29],
- 4) снижение концентрации перекисей с образованием продуктов нерадикальной природы,
- 5) снижение концентрации ионов металлов с переменной валентностью, в особенности железа, которые катализируют образование активных форм кислорода, таких как гидроксильный радикал ($\text{HO}^\cdot$), или специфических комплексов железа (феррил и пр.), необходимых для инициирования процесса ПОЛ, а также разложение липидных перекисей с образованием пероксильных и алкоксильных радикалов,
- 6) обрыв цепей свободнорадикального окисления липидов на липидных антиоксидантах, которые могут реагировать с липидными радикалами и инактивировать их.

При изучении АОА тканей, биологических жидкостей и лекарственных препаратов следует помнить не только о многообразии механизмов АОА, но и о том, что роль каждого из них может существенно различаться при различных способах активации свободнорадикальных процессов. Поэтому выбор адекватных систем для оценки АОА имеет первостепенное значение для правильной интерпретации получаемых результатов.

Среди методов, предложенных в настоящее время для определения АОА, следует выделить методы, которые позволяют обнаружить "интегральную" АОА препаратов, однако не дают возможность определить механизм антиокислительного действия.

Наиболее известным среди таких подходов является метод, основанный на измерении способности плазмы крови тормозить автоокисление гомогената мозга [26]. Для количественной оценки степени окисления гомогената использовали определение вторичных продуктов ПОЛ альдегидной природы, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивные продукты). В такой системе АОА сыворотки крови определяется в основном церулоплазмином (ЦП), трансферрином (ТР) и α -токоферолом, причем в физиологических концентрациях α -токоферол вносил сравнительно небольшой вклад в суммарную АОА (менее 10%). Vidlakova et al. [28]

предложили аналогичный метод определения АОА сыворотки крови по степени ингибирования ею ПОЛ, развивающегося в процессе автоокисления гомогенатов печени крыс. Было обнаружено, что фракция апо-β-липопротеинов сыворотки крови человека, содержащая основное количество α-токоферола, и в этом случае обладала очень слабыми антиокислительными свойствами по сравнению с цельной сывороткой крови. Очевидно, эти результаты свидетельствуют о ведущей роли эндогенных ионов железа в механизме "автоокисления" гомогенатов тканей, так как трансферрин является высокоспецифичным хелатором железа, а церулоплазмин осуществляет феррооксидазную функцию, переводя ионы двухвалентного железа в менее активную трехвалентную форму. Следует заметить, что методы, основанные на торможении автоокисления гомогенатов различных тканей, вероятно, наиболее точно определяют реальную АОА препаратов *in vivo*, однако их нельзя отнести к специфическим методам, позволяющим определить конкретный механизм антиокислительного действия.

Существует другой подход к определению АОА, который основан на исследовании препарата в "чистых" модельных системах с генерацией определенного типа радикалов либо специфических индукторов ПОЛ; использование достаточно полного набора таких систем в принципе позволяет выяснить конкретный механизм или оценить вклад различных механизмов АОА препаратов. К настоящему времени было предложено несколько таких моделей, в которых, в частности, исследовался эффект плазмы крови и ее отдельных компонент.

В работе [23] было изучено взаимодействие липидов и белков плазмы крови человека с активными формами кислорода (АФК), образующимися при окислении гипоксантина (ГК) ферментом ксантиноксидазой (КО). В этой реакции образуется супероксид-анион-радикал; его дальнейшие реакции приводят к образованию других активных форм кислорода. Инкубация плазмы крови с ГК и КО приводила в этих экспериментах, в первую очередь, к окислению более 50% сульфгидрильных (-SH) групп белков, при этом образование продуктов ПОЛ (ТБК-активных продуктов и диеновых конъюгатов) еще не регистрировалось. Был сделан вывод о том, что АОА плазмы крови по отношению к АФК в основном определяется сульфгидрильными группами белков плазмы крови.

Wayner et al. [30] предложили метод определения АОА биологических жидкостей по торможению ими перекисного окисления эмульсии линолевой кислоты, индуцированного добавлением к ней водорастворимого инициатора азобис-2-амидинопропан гидрохлорида (АБАП). Термическая декомпозиция АБАП приводит к образованию радикалов инициатора перекисного типа. Было обнаружено, что взаимодействие плазмы крови с перекисными радикалами в водной фазе в основном определяется уратом (35—60%), аскорбатом (0—24%), белками, содержащими SH-группы, в частности альбумином (10—50%), и α-токоферолом (5—10%). С другой стороны, на модели термической декомпозиции липидорастворимых азосоединений была показана высокая антиокислительная активность эндогенных липидных антиоксидантов (α-токоферол) и фармакологических препаратов антиоксидантного действия по отношению к радикалам перекисного типа в липидной фазе [14,19].

В настоящее время появляется все большее число работ, посвященных возможной роли одной из АФК, синглетного кислорода (1O_2), в развитии окислительного повреждения клеток [24]. Предложены достаточно удобные системы для генерации 1O_2 при фотовозбуждении водорастворимых и липидорастворимых фотосенсибилизаторов [20,22], а также при темновом термическом распаде эндоперекисей [10,11,25,27,29].

В работе [29] было показано, что при действии 1O_2 на плазму крови происходило полное окисление аскорбата и частичное окисление урата (на 75%), убихинона-10 (85%), протеиновых теолов (80%) и билирубина (25%), при этом уровень α-токоферола, β-каротина и ликопена практически не изменялся. Модельную систему, основанную на термическом разложении эндоперекисей, успешно применяли для количественной оценки АОА природных и синтетических каротиноидов и флавоноидов [10,25,27] по отношению к 1O_2 -индуцированному перекисному окислению биологических субстратов с целью прогнозирования их антиоксидантного терапевтического действия.

Безусловно, исследование АОА препаратов, проведенное в модельных системах с генерацией определенного типа радикалов, может дать наиболее полную информацию о механизме АОА, однако такого рода исследования являются очень трудоемкими и требующими дорогостоящих биохимических препаратов. Поэтому в наших исследованиях мы предприняли попытку использовать преимущества доступности простых моделей для исследования "интегральной" АОА в соединении с возможностью более специфического анализа механизмов антиокислительного действия. Принимая во внимание

тот факт, что *in vivo* наиболее вероятным индуктором ПОЛ являются металлы с переменной валентностью (в особенности ионы железа), подходящей моделью для изучения АОА является железоиндуцированное ПОЛ в биомембранах [2]. Известно, что в присутствии ионов железа образуются не только липидные радикалы, но и большое количество АФК. Таким образом, эта система могла бы быть удобной моделью для изучения различных механизмов АОА при возможности селективного исследования кинетики реакций различных типов радикалов в этой системе. Для определения АОА уже достаточно давно было предложено измерение хемилюминесценции (ХЛ), сопровождающей процесс Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ мембран и липопротеинов в фосфатном буфере [1,6,7]. Однако главным недостатком такой модели является как раз то, что соединения с совершенно различными механизмами антиокислительного действия (хелаторы ионов железа, липидные антиоксиданты, ловушки АФК) одинаковым образом уменьшали интенсивность хемилюминесценции на протяжении всей кинетики процесса.

В наших исследованиях [3—5] было предложено использовать для скрининга химических соединений и изучения механизма антиокислительной активности биологических препаратов кинетику ХЛ при Fe^{2+} -индуцированном ПОЛ в трис-буферной суспензии липосом. Преимущество этой системы заключается в том, что кинетика ХЛ разделена на четко выраженные стадии, связанные с протеканием различных элементарных реакций ПОЛ [3,13]. Для изучения АОА наибольший интерес представляют первые три стадии кинетики (быстрая вспышка, латентный период и медленная вспышка), которые отражают развитие процесса Fe^{2+} -индуцированного ПОЛ. Ранее [3,13] нам удалось показать, что в данной системе:

- 1) вещества, блокирующие места связывания железа на поверхности липидных мембран, уменьшают латентный период и не влияют на накопление продуктов ПОЛ;
- 2) вещества, взаимодействующие с Fe^{2+} (связывающие либо окисляющие его), вызывают уменьшение латентного периода, но могут также приводить к уменьшению накопления продуктов ПОЛ, если кинетика взаимодействия с Fe^{2+} сравнима с кинетикой процесса ПОЛ;
- 3) липидные антиоксиданты, наоборот, тормозят наступление стадии медленной вспышки и уменьшают накопление продуктов ПОЛ. В этой системе мы провели исследование механизмов АОА плазмы крови и ее отдельных компонент по отношению к Fe^{2+} -индуцированному ПОЛ [5]. При добавлении к суспензии липосом плазмы крови уже при концентрации 4 об % происходило сильное сокращение латентного периода кинетики ХЛ и уменьшение образования ТБК-активных продуктов. Было обнаружено, что все исследованные основные компоненты плазмы крови, кроме альбумина, при концентрациях, соответствующих их содержанию в плазме крови, уменьшали количество ТБК-активных продуктов в суспензии липосом, т.е. обладали антиокислительным действием. Величина этого эффекта уменьшалась в ряду ЦП>ТР> HCO_3^- >α-токоферол. Таким образом, АОА плазмы, судя по уменьшению накопления продуктов ПОЛ, может быть результатом суммарного действия ЦП, ТР, HCO_3^- и α-токоферола.

Эффект уменьшения латентного периода кинетики ПОЛ под действием плазмы крови обусловлен совместным действием ЦП, ТР и HCO_3^- . Был сделан вывод, что этот эффект определяется взаимодействием данных соединений с ионами железа и частичным изъятием его из реакций ПОЛ за счет окисления (в случае ЦП) или за счет необратимого связывания (в случае ТР и HCO_3^-). Поскольку альбумин не оказывал влияния на накопление продуктов ПОЛ, сокращение латентного периода при его добавлении обусловлено блокированием мест связывания ионов железа на липосомах.

Следует еще раз подчеркнуть, что представленные данные о механизме антиокислительного действия плазмы крови справедливы только по отношению к Fe^{2+} -индуцированному ПОЛ и могут отличаться от результатов, полученных при других способах инициирования. Тем не менее, представленную в настоящей работе модель целесообразно использовать для изучения механизма АОА фармакологических препаратов, биологических жидкостей и тканей в клинических исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атанаев Т.Б., Шерстнев М.П., Владимиров Ю.А. // Биофизика.— 1990.— Т.35.— С.610—613.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.— М.: Наука, 1972.

3. Дремина Е.С. Хемилиюминесценция, сопровождающая процессы Fe^{2+} -индуцированного перекисного окисления липидов в мембранах: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1992.
4. Дремина Е.С., Шаров В.С., Владимиров Ю.А. // Биофизика. — 1993. — Т.38. — С.1047—1052.
5. Рубене Д.Я., Шаров В.С., Оленов В.И., Турзит Г.Я., Дубур Г.Я., Владимиров Ю.А. // Журн. физ. химии. — 1981. — Т.55. — С.511—512.
6. Теселкин Ю.О., Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. // Биофизика. — 1988. — Т.33. — С.512—516.
7. Фархутдинов Р.Р. // Клин. мед. — 1984. — № 12. — С.18—23.
8. Anderson M.E., Meister A. // J. Biol. Chem. — 1980. — Vol.255. — P.9530—9533.
9. Aruoma O.I., Halliwell B., Laughton M.J., Gutteridge J.M.C. // Biochem. J. — 1989. — Vol.258. — P.617—620.
10. Devasagayam T.P.A., Ippendorf H., Werner T., Martin H.D., Sies H. // Lipid-Soluble Antioxidants / Ed. R.T. Ong. — Basel, 1992. — P.255—264.
11. Di Mascio P., Sies H. // J. Am. Chem. Soc. — 1989. — Vol.111. — P.2909—2914.
12. Di Mascio P., Gutteridge J.M.C. // Arch. Biochem. Biophys. — 1989. — Vol.274. — P.532—538.
13. Driomina E.S., Sharov V.S., Vladimirov Yu.A. // Free Radical Biol. Med. — 1993. — Vol.15. — P.239—247.
14. Fiorentini D., Cabrini L., Landi L. // Free Radical Res. Commun. — 1993. — Vol.18. — P.201—209.
15. Fridovich I. // J. Biol. Chem. — 1989. — Vol.264. — P.7761—7764.
16. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. // Arch. Biochem. Biophys. — 1986. — Vol.246. — P.501—514.
17. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. — Oxford: Clarendon Press, 1989.
18. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. // Arch. Biochem. Biophys. — 1990. — Vol.280. — P.1—8.
19. Kagan V.E., Tsuchiya M., Serbinova E., Packer L., Sies H. // Biochem. Pharmacol. — 1993. — Vol.45. — P.393—400.
20. Kanofsky J.K. // Photochem. Photobiol. — 1990. — Vol.51. — P.299—303.
21. Karlsson K., Marklund S.L. // Biochem. J. — 1988. — Vol.255. — P.223—228.
22. Ojima F., Sakamoto H., Ishiguro Y., Terao J. // Free Radical Biol. Med. — 1993. — Vol.15. — P.377—384.
23. Radi R., Bush K.M., Cosgrove T.P., Freeman B.A. // Arch. Biochem. Biophys. — 1991. — Vol.286. — P.117—125.
24. Sies H., De Groot H. // Toxicol. Lett. — 1992. — Vol.64—65. — P.547—551.
25. Sies H., Kaiser S., Di Mascio P., Murphy M.E. Vitamine E and Health Disorders / Eds L.Packer, K.Lester. — New York: Acad. Press, 1993. — P.141—152.
26. Stocks J., Gutteridge J.M.C., Sharp R.J., Dormady T.L. // Clin. Sci. Med. — 1974. — Vol.47. — P.223—233.
27. Tournaire C., Croux S., Maurette M.T., Beck I., Hocquaux M., Braun A.M., Oliveros E. // Photochem. Photobiol. — 1993. — Vol.19. — P.205—215.
28. Vidlakova M., Erazimova J., Horky J., Placer Z. // Clin. Chim. Acta. — 1972. — Vol.36. — P.61—66.
29. Wagner J.R., Motchnik P.A., Stocker R., Sies H., Ames B.N. // J. Biol. Chem. — 1993. — Vol.268. — P.18502—18506.
30. Wayner D.D.M., Burton G.W., Ingold K.U. // Biochim. Biophys. Acta. — 1987. — Vol.924. — P.408—419.

Поступила 21.12.94.

© СООДАЕВА С.К., 1995

УДК 612.215.015.32.014.46

С.К.Соодаева

РАЗВИТИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ В ЛЕГОЧНЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АСБЕСТА (ОБЗОР)

НИИ пульмонологии МЗ и МП РФ

Асбесты вызывают воспалительные процессы в легких, развитие интерстициального фиброза—асбестоза, возникновение опухолей — бронхогенного рака легких и мезотелиомы плевры [3,13,33,40]. По классификации Международного агентства по изучению рака, асбесты входят в группу достоверно доказанных канцерогенов [34].

В настоящее время патологические процессы, обусловленные асбестом, связывают с развитием свободнорадикальных реакций в организме [4,24,31,33]. Асбест способен инициировать образование активных форм кислорода (АФК) по двум механизмам. Во-первых, химические свойства асбестовых волокон и в особенности содержание в них ионов железа обуславливают заметную каталитическую активность в различных реакциях с образованием АФК [31,44]. Во-вторых, асбест вызывает активацию “дыхательного взрыва” фагоцитирующих клеток с образованием метаболитов кислорода [31,44].

Взаимодействие фагоцитов с чужеродными частицами вызывает существенную перестройку окислительного метаболизма клеток. При этом происходит увеличение ионной проницаемости клеточной мембраны, усиление окисления глюкозы, резкое возрастание потребления кислорода, сопровождающееся образованием супероксидного радикала. Этот феномен получил название “дыхательного” или “респираторного взрыва” [1,5,9,10,38]. В основе “дыхательного взрыва” лежит резкое повышение образования НАДФН в клетке в результате активации гексозомонофосфатного шунта и окисления НАДФН ферментативным комплексом — НАДФН-оксидазой, восстанавливающей молекулярный кислород до супероксидного радикала (O_2^-) [1,10]. Генерация фагоцитами O_2^- приводит к образованию в результате их дисмутации пероксида водорода (H_2O_2). В присут-

ствии ионов металлов переменной валентности H_2O_2 становится источником чрезвычайно реакционноспособных гидроксильных радикалов ($HO\cdot$), образующихся по реакции Фейтона [1,19]. При взаимодействии H_2O_2 и анионов Cl^- в присутствии миелопероксидазы (фермента азурофильных гранул фагоцитов) образуется сильнейший окислитель — гипохлорит ($HOCl$). Реакция же $HOCl$ и H_2O_2 сопровождается продукцией синглетного кислорода (1O_2).

Образующиеся фагоцитами АФК являются важным элементом защиты организма от чужеродных объектов, так как обладают антибактериальными, антипаразитарными, противоопухолевыми и другими свойствами [5,19,21,26]. Фагоцитированные бактерии или простейшие гибнут под действием АФК (так как токсические метаболиты кислорода модифицируют их макромолекулы), затем разрушаются протеолитическими ферментами, “перевариваются”. Одновременно с исчезновением активатора фагоцитоза происходит инактивация супероксидпродуцирующего ферментного комплекса — НАДФН-оксидазы [7]. При взаимодействии же фагоцитов с асбестом образование АФК безудержно нарастает, так как волокна нечувствительны к АФК постоянно стимулируют клетки, и вдобавок, катализируют генерацию $HO\cdot$. Чрезмерная продукция АФК приводит к повреждению собственных клеток, инактивации ферментов, повреждению ядерных структур из-за окислительной модификации белков, липидов и нуклеиновых кислот [1,2,7,19].

Модификация белков вызывает в них появление антигенных свойств, а окисление липидов (в первую очередь, арахидоновой кислоты), приводит к появлению хематтрактантов, увеличивающих миграцию фагоцитов к месту их образования [1,19]. Таким образом,

активация фагоцитов обладает свойством самопроизвольно усиливаться и в очагах воспаления может сформироваться порочный круг воспаления. Одновременно, в ходе воспаления кислотность тканей снижается до pH 5—6, что усиливает образование HO_2^- более реакционноспособных по сравнению с O_2^- , а также способствует выделению каталитически активного железа из лактоферрина и трансферрина. Это приводит к еще большему повреждению клеток в очаге [1].

В опытах *in vitro* при воздействии волокон асбеста на фагоцитирующие клетки происходит выделение ими АФК [12;18,20]. Волокнистый асбест (с отношением длины к диаметру более, чем 3:1) в большей степени стимулирует продукцию АФК фагоцитами, чем неволокнистый [18,20]. То есть, для инициации высвобождения АФК макрофагами важное значение имеет структура асбеста.

Генерация метаболитов кислорода фагоцитами легких зависит от концентрации асбеста и времени его воздействия. Образованию АФК способствуют увеличение отношения волокна/клетки и продолжительности экспозиции *in vitro* [12,18,20]. Ром с соавт. исследовали продукцию кислородных радикалов 18 больных асбестозом. Пациенты были некурящие, либо воздерживались от курения на протяжении всех пяти лет, в течение которых проводилось исследование [36]. Было обнаружено, что у половины из обследованных больных альвеолярные макрофаги (АМ) спонтанно выделяли повышенные, в сравнении с нормой, количества супероксида и перекиси водорода. Продолжительные экспозиции асбеста могут также способствовать увеличению образования АФК фагоцитирующими клетками в ответ на повторное воздействие на них другим активатором [12,16]. При хронической экспозиции асбестом овец на протяжении 18 месяцев с интервалом в две недели не выявлено увеличения спонтанного образования супероксида фагоцитами легких [12]. Однако значительно увеличивалась генерация этими клетками супероксида в ответ на стимуляцию форболовыми эфирами.

Конкретные молекулярные механизмы активации асбестом генерации кислородных метаболитов фагоцитами остаются невыясненными. Одна из гипотез состоит в том, что АМ и полиморфно-ядерные лейкоциты (ПМЛ) при контакте с длинными волокнами асбеста не в состоянии осуществить полноценный фагоцитоз этих частиц, в результате чего переходят в состояние "фрустрации", сопровождаемое неспецифическим высвобождением кислородных метаболитов из фагоцитов во внешнюю среду [8]. Эта гипотеза ориентирована на объяснение генерации АФК под действием длинных волокон асбеста, однако она оказывается несостоятельной, если принять во внимание тот факт, что короткие волокна (75% < 1,0 мкм), которые могут быть подвергнуты полному фагоцитозу, тоже индуцируют генерацию перекиси водорода наравне с длинными волокнами [18].

Механизмы, посредством которых асбест способен индуцировать выделение АФК фагоцитами, могут быть связаны с непосредственной активацией ферментных систем, генерирующих кислородные метаболиты — НАДФН-оксидазы или системы фосфолипазы С с последующей вторичной активацией НАДФН-оксидазы. Показано, что хризотил-асбест индуцирует быстрое дозозависимое образование супероксида АМ (пик достигался менее, чем через 1 мин). Активирующее действие на генерацию супероксида АМ отмечалось при нецитотоксических дозах асбеста и частично подавлялось ингибиторами протеинкиназы С (например, стауроспорином, сфингозинном или флуфенамином) либо G-связывающими белками. В пользу того, что хризотил активирует систему фосфолипазы С в АМ свидетельствует более высокий по сравнению с контрольными клетками оборот фосфоинозитола и уровень включения ^3H -диацилглицерола, а также интенсивная мобилизация внутриклеточного кальция [37].

Исследована роль инозитол-содержащих фосфолипидов в развитии вызываемых асбестом повреждений трахеобронхиальных эпителиальных клеток. После 10-минутной экспозиции с крокидолитом в клетках обнаружили увеличение меченных трипсином инозитомоно-, три- и тетрафосфатов, что свидетельствовало об увеличении оборота инозит-содержащих фосфолипидов. То есть стимуляция асбестом клеточной пролиферации способствует также активации фосфолипазы С, диацилглицерола и протеинкиназы С [35]. В модельных экспериментах показано, что иммуноглобулин G (IgG) увеличивает индуцируемое хризотилом образование супероксида АМ [39]. Данный эффект обладал специфичностью и проявлялся только при использовании асбеста, обработанного IgG. Хотя конкретный механизм стимулирующего действия IgG не выявлен, авторы полагают, что асбест, покрытый IgG, связывается со специфическими рецепторами на АМ, что приводит к связыванию Fc-рецепторов с последующим запуском образования супероксидного радикала, как это уже было показано в случае иммунных комплексов [39].

Обнаружено, что длинные и короткие волокна крокидолита не проявляли заметных различий в токсическом действии на макро-

фаги *in vitro* и повреждению клеток предшествовало высвобождение одинаковых количеств перекиси водорода [18]. Однако короткие волокна обладали наибольшей цитотоксичностью в том случае, когда создавались условия, препятствующие их поглощению клетками [18]. Эти исследования свидетельствуют о том, что цитотоксичность асбеста в отношении макрофагов тесно связана с продукцией метаболитов кислорода.

При действии асбеста макрофаги высвобождают широкий спектр биологически активных веществ, которые могут вносить вклад в развитие воспаления и фиброза. Показано, что волокна хризотила активируют образование комплементзависимого хемоаттрактанта макрофагов, выявлена "стимуляция" пролиферации легочных фибробластов *in vitro* под действием макрофагов, выделенных у крыс, обработанных асбестом [28,43]. Garcia с соавт. обнаружили, что АМ, полученные от больных, подвергавшихся воздействию асбеста, высвобождают повышенное количество лейкотриена B_4 [16].

Ряд не прямых исследований подтверждает гипотезу о том, что при повреждении эпителия легких, вызванного асбестом, имеет важное значение продукция АФК. Асбест интернализуется с эпителием альвеол вскоре после экспозиции *in vivo* и приводит, по морфологическим признакам, к его повреждению, а также стимулирует пролиферацию альвеолярных клеток II типа [11]. На эксплантате эпителия трахеи показано, что длинные волокна хризотил-асбеста (> 10 мкм) более цитотоксичны, чем короткие (< 2 мкм) хризотила или крокидолита. Цитотоксичность снижается антиоксидантами — супероксиддисмутазой (СОД), маннитолом и диметилтиомочевинной [30]. Кроме того, при экспозиции эпителиальных клеток трахеи в течение нескольких дней с минимально токсической дозой асбеста увеличивается общая эндогенная СОД-активность (медь-, цинк- и марганец-содержащие формы) [30].

Активированные асбестом ПМЛ, выделяя H_2O_2 , оказывают токсическое действие на культуру клеток легочного эпителия человека [23]. Это подтверждается тем, что каталаза, но не СОД, или ловушки гипохлорной кислоты (L-аланин, таурин, азид) снижают токсичность, и H_2O_2 сам по себе вызывает такое же повреждение эпителия, как при совместном действии асбеста и ПМЛ [23].

Эти данные являются прямым доказательством связи асбестопосредованной цитотоксичности с продукцией H_2O_2 . Однако не исключается влияние других оксидантов, так как выявлено, что хелатор железа — десферал на 23% снижает повреждение эпителия.

Mossman и др. выявили ключевую роль внеклеточного H_2O_2 в асбестопосредованном повреждении легких *in vivo* на модели асбестоза у крыс [31]. Отмечено, что каталаза снижает фиброз легких, вызванный ингаляционным асбестом. Конъюгированная с полиэтиленгликолем каталаза (но не СОД) снижает индуцированное асбестом увеличение лактатдегидрогеназы в БАЛ, общее число воспалительных клеток, степень и тяжесть фибротического поражения и содержание гидроксипролина в легких. В различных модельных системах с асбестом показано, что H_2O_2 является главным внеклеточным окислителем, приводящим к повреждению ДНК [23].

Изучение действия различных волокон на эндотелиальные клетки выявило, что асбесты обладают значительной цитотоксичностью по отношению к эндотелию [15]. Повреждение клеток связывают с захватом асбеста и усилением метаболизма арахидоновой кислоты, о чем свидетельствует девятикратное повышение выброса устойчивого метаболита простагличлина α -6-кетопростагличлина $\text{F}_1(6\text{-k-PGF})$. Обработка асбеста десфералом или каталазой снижала его цитотоксичность по отношению к этим клеткам, а также высвобождение ими 6-k-PGF. Эти данные свидетельствуют о вовлечении АФК в повреждение эндотелиальных клеток при действии асбеста.

Обнаружено, что крокидолит (10—15 мкг/мл) снижает жизнеспособность фибробластов крыс в культуре клеток приблизительно на 50% от контроля [41]. Хелаторы (десферал и тайрон) частично предотвращали цитотоксическое действие, что свидетельствует о роли железа. Кроме того, ксантин-ксантинооксидазная система генерации супероксида одинаково стимулировала синтез коллагена до сублетальных доз асбеста [41]. Таким образом, асбест изменяет функции фибробластов, а АФК опосредуют его повреждающие эффекты.

Таким образом, экспозиция фагоцитирующих клеток легких с асбестом приводит или к увеличению спонтанного высвобождения оксидантов, или примирует клетки к более высокому выходу АФК после действия вторичного стимула. АФК вовлекаются в асбестопосредованное повреждение не только фагоцитов, но и других легочных клеток: альвеолярного эпителия, эндотелия, фибробластов.

Одним из важных последствий токсического действия кислородных радикалов является перекисное окисление липидов (ПОЛ) биологических мембран, инициирующее изменения в структурной целостности, ферментативной активности, рецепторной функции и ионном транспорте [1,19]. Известно, что в активации ПОЛ могут

принимать участие инициаторы нелипидной природы: ионы железа, АФК, органические радикалы.

После однократной интратрахеальной инстилляцией суспензии 20 мкг крокидолита выявлена индукция ПОЛ в гомогенатах и лизосомальных мембранах легких крыс [22]. Крокидолит также индуцировал ПОЛ, вызывая дозо- и времязависимое увеличение продуктов липидной перекисидации [17]. Fontecave и соавт. [14] выявлена индукция ПОЛ крокидолитом и хризотил-асбестом в микросомах печени крыс в присутствии НАДФН. Опосредованное асбестами ПОЛ в этой системе не ингибировалось антиоксидантами или десфералом и синергично увеличивалось при добавлении НАДФН. Авторы объясняют эти результаты эффективным переносом электронов от НАДФН к волокнам асбеста через НАДФН цитохром P-450 редуктазу. Волокна хризотил-асбеста вызывают ПОЛ в альвеолярных макрофагах крыс [25]. Быстрота процесса перекисидации (1—3 мин) позволяет авторам предполагать, что это вызвано ранним фагоцитозом.

Turver и Brown [42] изучали влияние крокидолита на образование малонового диальдегида (МДА) и разрывы ДНК в СЗН—10Т—1/2 клетках. Нативный и молотый асбест сходным образом увеличивал образование МДА и количество разрывов ДНК. Ингибирование десфералом в этой системе ПОЛ и повреждения ДНК свидетельствуют о важной роли железа в обоих процессах.

Исходя из данных по ингибированию реакции каталазой, СОД и токоферолом, несомненно, что радикалы вовлекаются в индуцированное асбестом ПОЛ [17]. Но принципиальная роль асбеста все же заключается в поставке ионов железа и катализе образования радикалов из гидроперекисей липидов или H_2O_2 , поскольку хелаторы железа и антиоксиданты оказывают защитное действие [24].

Таким образом, одним из механизмов развития повреждения мембран под воздействием асбеста является ПОЛ, индуцируемое минералом. На связь между ПОЛ и повреждением клеток асбестом указывают результаты исследований с использованием десферала в качестве ингибитора ПОЛ биомембран [17,42,45]. Но, с другой стороны, Goodglick и Kane обнаружили разобщение цитотоксического действия асбеста и индуцированного им ПОЛ [17]. Так, крокидолит (100—1000 мкг/мл) проявлял выраженную цитотоксичность по отношению к макрофагам и стимулировал ПОЛ. Обе активности асбеста ингибировались СОД, что указывает на их связь с метаболитами кислорода. Однако было также показано, что цитотоксичность не напрямую связана с ПОЛ, так как 3-аминобензамид уменьшал гибель клеток, не влияя при этом на перекисидацию липидов. Кроме того, витамин Е (25 мкМ) полностью ингибировал ПОЛ, индуцируемое крокидолитом, но не предотвращал его цитотоксического действия [17].

Асбест приводит также к повреждению ДНК, являющегося маркером повреждений, опосредованных образованием НО. Волокна асбеста индуцируют образование в ДНК 8-гидроксидезоксигуанозина как в присутствии, так и отсутствии H_2O_2 [27]. В присутствии H_2O_2 основной вид модификации ДНК уменьшался под действием хелатора железа, что свидетельствует об участии в процессе генерируемых НО. Асбест вызывает разрывы ДНК при внесении его в культуру клеток, и десферал оказывает протективное действие [29,42].

Вышеуказанное свидетельствует о том, что одним из механизмов цитотоксического и канцерогенного действия асбеста является химическое повреждение ДНК генерируемыми им гидроксильными радикалами.

Таким образом, при воздействии асбеста продуцируемые клетками легких оксиданты индуцируют ПОЛ, высвобождают широкий спектр биологически активных веществ, повреждают ДНК собственно клетки, что приводит к развитию фиброза или злокачественных новообразований в легких. Исходя из этого, для предотвращения повреждающего действия асбеста перспективны меры, направленные на снижение образования АФК в легких.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. // Итоги науки и техники. Биофизика.— М., 1991.— Т.29.— С.1—251.
2. Дубинина Е.Е., Шугалей И.В. // Успехи соврем. биол.— 1993.— Т.113, № 1.— С.71—81.
3. Коган Ф.М. // Гиг. труда.— 1981.— № 2.— С.5—10.
4. Коркина Л.Г., Величковский Б.Т. // Кислородные радикалы в химии, биологии и медицине.— Рига, 1988.— С.153—163.
5. Пол У. // Иммунология: Пер. с англ.— М., 1989.— Т.3.— С.209—211.
6. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов.— М.: Медицина, 1984.— С.74—90.

7. Archakov A.J., Bachmanova G.I. // Cytochrome P-450 and Active Oxygen.— London: Taylor Francis, 1990.— P.82—102.
8. Archer V.E. // Med Hypotheses.— 1979.— Vol.5.— P.1257—1260.
9. Babior B.M. // J. Clin. Invest.— 1984.— Vol.73, № 3.— P.599—668.
10. Bellavite P. // Free Radical. Biol. Med.— 1988.— Vol.4.— P.225—261.
11. Brody A.R., Overby C.H. // Am. J. Pathol.— 1989.— Vol.134.— P.133—140.
12. Cantin A., Dubois F., Begin R. // J. Leukoc. Biol.— 1988.— Vol.43.— P.299—303.
13. Churg A. // Mol. Pathol.— 1993.— Vol.6, № 5.— P.509—511.
14. Fontecave M., Mansuy D., Jaouen M. et al. // Biochem. J.— 1987.— Vol.241.— P.561—565.
15. Garcia J.G.N., Dodson R.F., Callahan K.S. // Lab. Invest.— 1989.— Vol.61.— P.53—61.
16. Garcia J.G.N., Griffith D.E., Cohen A.B. et al. // Am. Rev. Respir. Dis.— 1989.— Vol.139.— P.1494—1501.
17. Goodglick L.A., Pietras L.A., Kane A.B. // Ibid.— P.1265—1273.
18. Goodglick L.A., Kane A.B. // Cancer Res.— 1990.— Vol.50.— P.5153—5163.
19. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. // Free Radicals in Biology and Medicine.— Oxford: Clarendon Press, 1989.— P.58—394.
20. Hansen K., Mossman B.T. // Cancer Res.— 1987.— Vol.47.— P.1681—1686.
21. Heidel J.R., Taylor S.M., Laegre W.W., Silflow R.M., Liggitt H.D., Leid R.V. // J. Leukoc. Biol.— 1989.— Vol.41, № 1.— P.41—50.
22. Jajte J., Lao I., Wisniewska-Knypl J.M. // Br. J. Ind. Med.— 1987.— Vol.44.— P.180—186.
23. Kamp D.W., Dunne M., Weitzman S.A. et al. // J. Lab. Clin. Med.— 1989.— Vol.114.— P.604—612.
24. Kamp D.W., Graceffa Ph., Pryor W.A., Weitzman S.A. // Free Radical. Biol. Med.— 1992.— Vol.12, № 4.— P.293—315.
25. Kandaswami C., Morin G., Sirois P. // Toxicol. In Vitro.— 1988.— Vol.2.— P.117—120.
26. Kobzik L., Godleski J., Brain J. // J. Leukoc. Biol.— 1990.— Vol.47, № 4.— P.285—303.
27. Leanderson P., Soderkvist P., Tagesson C. et al. // Br. J. Ind. Med.— 1988.— Vol.45.— P.309—311.
28. Lemaire J. // Am. J. Pathol.— 1986.— Vol.122.— P.205—211.
29. Libbus B.L., Illenye S.A., Craighead J.E. // Cancer Res.— 1989.— Vol.49.— P.5713—5718.
30. Mossman B.T., Marsh J.P., Shatos M.A. // Lab. Invest.— 1986.— Vol.54.— P.204—212.
31. Mossman B.T., Marsh J.P., Sesko A. et al. // Am. Rev. Respir. Dis.— 1990.— Vol.141.— P.1266—1271.
32. Mossman B.T., Bignon J., Corn M., Seaton A., Gee J.B.L. // Science.— 1990.— Vol.247.— P.294—301.
33. Mossman B.T. // Br. J. Ind. Med.— 1993.— Vol.50, № 8.— P.673—676.
34. Murray R. // Memorandum AIM № 4/84.— London, 1989.— P.1—12.
35. Perderiset M., Marsh J.P., Mossman B.T. // Carcinogenesis.— 1991.— Vol.12, № 8.— P.1499—1502.
36. Rom W.N., Bitterman P.B., Pennard S.I. et al. // Am. Rev. Respir. Dis.— 1987.— Vol.136.— P.1429—1434.
37. Ronney P.L., Holian A. // Toxicol. Appl. Pharmacol.— 1989.— Vol.100, № 1.— P.132—144.
38. Rossi F., Bianca V.D., Grzeskowiak M., Bazzoni F. // J. Immunol.— 1989.— Vol.142, № 5.— P.1652—1660.
39. Scheule R.K., Holian A. // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.— 1990.— Vol.2.— P.441—448.
40. Selikoff I.J. // Toxicol. Ind. Health.— 1991.— Vol.7, № 5—6.— P.117—127.
41. Shatos M.A., Doherty J.M., Marsh J.P. et al. // Environ. Res.— 1987.— Vol.44.— P.103—116.
42. Turver C.J., Brown R.C. // Brit. J. Cancer.— 1987.— Vol.56.— P.133—136.
43. Warheit D.B., George G., Hill L.H., et al. // Lab. Invest.— 1985.— Vol.52.— P.505—514.
44. Weiss S.J. // N. Engl. J. Med.— 1989.— Vol.320.— P.365—373.
45. Weitzman S.A., Weitberg A.B. // Biochem. J.— 1985.— Vol.225.— P.259—262.

Юбилейные даты

К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ Я.И. НЕСТЕРОВСКОГО



В апреле 1995 г. исполняется 70 лет со дня рождения и 45 лет врачебной, научной и общественной деятельности видного советского фтизиатра, главного врача Челябинского областного противотуберкулезного диспансера, руководителя Челябинского областного пульмонологического центра, заслуженного врача РФ, доктора медицинских наук Якова Израйлевича Нестеровского.

Яков Израйлевич родился в Херсоне в семье рабочего, трудовую деятельность начал рано — в 1942 г. после окончания 9 классов школы пошел работать на завод.

В 1942 г. добровольцем ушел на фронт. Разведчиком и сержантом пехотных войск сражался с немецко-фашистскими захватчиками на Орловско-Курской дуге, Южном и других фронтах Великой Отечественной войны. В 1944 г. в связи с ранением был демобилизован. В 1945 г. Я.И. Нестеровский закончил 10 классов, а в 1950 г. — Челябинский медицинский институт. Работал хирургом, главным врачом Копейской городской больницы, главным врачом противотуберкулезного диспансера г. Копейска. С 1965 г. по настоящее время возглавляет Челябинский областной противотуберкулезный диспансер. За 30 лет руководимый Я.И. Нестеровским диспансер проделал значительную работу по организации и проведению противотуберкулезных мероприятий в Челябинской области, что привело к существенному

снижению заболеваемости, болезненности и смертности от туберкулеза.

Практическую деятельность Яков Израйлевич успешно сочетал с научной. Им разрабатывались вопросы усовершенствования методов хирургического лечения заболеваний коленного сустава, дифференциальной диагностики заболеваний органов дыхания и внеторакальных форм туберкулеза, а также организационные основы борьбы с туберкулезом. В 1968 г. на основе накопленного опыта работы Яковом Израйлевичем была выполнена и успешно защищена кандидатская диссертация “Эффективность диспансерных методов борьбы с туберкулезом в г. Копейске”.

Дальнейшие научные исследования Я.И. Нестеровского были направлены на поиск и разработку методов и путей улучшения противотуберкулезной помощи населению в условиях города и села Челябинской области. Главным направлением в этих разработках было совершенствование организации работы по профилактике туберкулеза, раннему выявлению и лечению больных. Практическое применение усовершенствованных организационных форм борьбы с туберкулезом оказало заметное влияние на улучшение эпидемиологических показателей по туберкулезу в области, что позволило Я.И. Нестеровскому обобщить свой труд в виде докторской диссертации на тему “Организационные формы и методы противотуберкулезной помощи в области”, успешно защищенной в 1972 г.

С 1973 г. под руководством Я.И. Нестеровского в области осуществляется экспериментальная работа по резкому снижению заболеваемости населения туберкулезом. К настоящему времени эта программа успешно решается и достигнуты оптимальные показатели противотуберкулезной работы.

В последние годы важное место в работе Я.И. Нестеровского занимают проблемы интеграции фтизиатрии и пульмонологии в практическом здравоохранении. Яков Израйлевич опубликовал 154 научные работы и статьи по вопросам хирургического лечения больных с заболеваниями костно-суставной системы, эпидемиологии, профилактики и организации борьбы с туберкулезом и неспецифическими заболеваниями легких. Под его редакцией вышли 15 сборников научных статей и ряд методических писем по вопросам совершенствования противотуберкулезной работы. Он активный участник научных съездов, конференций, симпозиумов. Под руководством Я.И. Нестеровского врачами выполнены 6 кандидатских диссертаций. Он обучил и воспитал многих квалифицированных специалистов, создав школу фтизиатров в Челябинской области.

Я.И. Нестеровский широко известен как организатор здравоохранения, ученый и видный общественный

деятель. Он член редакционного совета журналов "Проблемы туберкулеза" и "Пульмонология", председатель правления Челябинского областного научного общества фтизиатров и пульмонологов, председатель медицинских Ассоциаций области.

Родина высоко оценила деятельность Я.И.Нестеровского — он награжден орденами Красной Звезды, Трудового Красного Знамени, "Знак Почета", орденом Отечественной войны I ст., медалями, ему присвоено звание Заслуженного врача РФ.

Большой вклад Я.И.Нестеровского в развитие советской фтизиатрии, его доброжелательность,

отзывчивость, скромность, эрудиция, постоянная готовность прийти на помощь снискали ему уважение врачей и других медицинских работников, а также многочисленных пациентов.

Сердечно поздравляем юбиляра, желаем ему здоровья и плодотворной работы.

*Главное управление здравоохранения
Администрации Челябинской области,
Медицинские Ассоциации Челябинской области,
Челябинский областной
противотуберкулезный диспансер,
Редакция журнала "Пульмонология".*

К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ Л.М.КЛЯЧКИНА



Исполнилось 70 лет со дня рождения и 50 лет врачебной, научной, педагогической и общественной деятельности профессора Льва Михайловича Клячкина — одного из видных представителей отечественной курортологии и физиотерапии.

Л.М.Клячкин родился 1 апреля 1925 года в Омске, в семье врачей. После окончания в 1944 году Туркменского медицинского института до конца Великой Отечественной войны он находился в рядах действующей армии. В последующие годы он служил в госпиталях, а затем успешно закончил адъюнктуру Военно-медицинской академии в клинике проф. В.А.Бейера и сформировался как терапевт широкого клинического диапазона. Л.М.Клячкин занимался проблемами туберкулеза легких, гематологии, изучал патологию

внутренних органов при ожоговой болезни. Последней были посвящены его кандидатская и докторская (1964 г.) диссертации. В 1967 году ему было присвоено ученое звание профессора. С 1965 по 1983 год Л.М.Клячкин руководил кафедрой госпитальной и военно-полевой терапии Саратовского медицинского института. Научное направление руководимой им кафедры включало две основные проблемы — патологию внутренних органов (в том числе легких) при травме и ожогах и реабилитацию пульмонологических больных, в том числе методы эндобронхиальной санации с помощью аэрозольных ингаляций и лаважа бронхов, методика циркулярных озокеритовых аппликаций, применение дозированной физической нагрузки в пульмонологической диагностике. Он изучал эпидемиологию хронических неспецифических заболеваний легких в Поволжье, организацию диспансеризации больных. В руководимой им клинике был создан областной пульмонологический центр. Наряду с этим Л.М.Клячкин разрабатывал проблемы гемокоагулологии, кардиологии, читал факультативный курс лекций по физиотерапии и курортологии интернам-терапевтам.

В 1983 г. профессор Л.М.Клячкин был назначен начальником вновь учрежденной кафедры физиотерапии и курортологии Военно-медицинского факультета при ЦОЛИУВ, в последующем — первой в стране кафедры медицинской реабилитации. На этом посту ярко проявились организаторские способности, богатый клинический и педагогический опыт ученого и глубокие познания в области диагностики и лечения внутренних болезней, реабилитации больных. Руководимая Л.М.Клячкиным кафедра за короткий срок стала центром последипломной подготовки врачей различных клинических специальностей по реабилитации врачей, а также по курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуре. Л.М.Клячкин сформировал современную концепцию реабилитологии как новой интегративной медицинской дисциплины, а также принципы ее применения в пульмонологии, изучал вопросы климатотерапии и физиотерапии пульмонологических больных, механизмы и значение их кли-

матоадаптации, особенности реабилитации при сочетанной кардиореспираторной патологии, применение респираторной терапии в санаторной практике, особенности легочной патологии и ее лечение у раненых и обожженных. Большое внимание он уделяет реабилитации больных ишемической болезнью, в частности применению методов бальнеотерапии, оптимизации их физических тренировок.

Лев Михайлович — автор около 400 научных работ, в том числе 7 монографий. 23 его ученика защитили кандидатские и 5 — докторские диссертации, им подготовлено 5 заведующих кафедрами. Л.М.Клячкин выступал с докладами на Всесоюзных и Всероссийских съездах терапевтов, на всех четырех Национальных конгрессах пульмонологов, на многих конференциях, заседаниях научных обществ. В разное время ему довелось быть членом правлений Всесоюзного и Всероссийского научных обществ терапевтов, президиума правления Всесоюзного научного общества физиоте-

рапевтов и курортологов, председателем Саратовского областного общества терапевтов, членом редколлегий журнала "Вопросы курортологии, физиотерапии, лечебной физической культуры". В настоящее время он состоит членом президиума правления Всесоюзного научного общества пульмонологов, редколлегий журнала "Пульмонология", Проблемной комиссии МЗ РФ по пульмонологии, членом двух специализированных ученых Советов. Первый номер журнала "Пульмонология" за 1994 г. — тематический, посвященный реабилитации в пульмонологии, — вышел по инициативе и под редакторским контролем Льва Михайловича.

Л.М.Клячкин награжден орденами "Знак почета" и Отечественной войны II ст. и 20 медалями, в том числе "За боевые заслуги".

Свой юбилей Лев Михайлович встречает полным творческих сил, энергии и замыслов.

Редакция журнала "Пульмонология".

Самооценка профессиональной подготовки врача-пульмонолога

Кафедра клинической гематологии и интенсивной терапии; кафедра клинической иммунологии и аллергологии факультета послевузовского профессионального образования ММА им. И.М.Сеченова

Продолжаем публикацию ситуационных задач, предназначенных для усовершенствования навыков и умений для повышения специальной и общеклинической подготовки врача-пульмонолога. Публикация данной рубрики начата в журнале "Пульмонология" № 2 1994 г.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

№ 22

Основным патогенетическим механизмом развития клинических проявлений при синдроме Зиверта-Картагенера являются:

- А. Нарушение цилиарной активности мерцательного эпителия
- Б. Продукция густой слизи бронхиальными железами
- В. Нарушение фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов
- Г. Дефицит ингибитора протеазной активности бронхиального секрета
- Д. Дефицит IgA в бронхиальном содержимом

№ 23

У 34-летней больной, доставленной в стационар с приступом удушья, при анализе крови выявлено увеличение количества эозинофилов до 52%. По данным анамнеза в течение нескольких месяцев отмечается затрудненное дыхание с развитием приступов удушья. Проводимое лечение ингаляциями беротека и препаратами теофиллина малоэффективно.

Наиболее вероятно, что бронхообструктивный синдром может быть проявлением одного из следующих заболеваний:

- А. Идиопатический фиброзирующий альвеолит
- Б. Узелковый артериит
- В. Карциноидный синдром
- Г. Системная склеродермия
- Д. Пневмоцистная пневмония

№ 24

В какой клинической ситуации наличие одышки позволяет предположить идиопатический фиброзирующий альвеолит?

- А. Острое развитие лихорадки до 39°C, малопродуктивный кашель, одышка, участок бронхиального дыхания в правой подлопаточной области
- Б. Длительный (в течение нескольких лет) кашель с отделением гнойной мокроты, цианоз, одышка при незначительной нагрузке

В. Нарастающая одышка (в течение нескольких месяцев) у больной с синдромом Рейно, непродуктивный кашель, цианоз, утолщение концевых фаланг пальцев

Г. Внезапно возникшая одышка у больного с длительным кашлевым анамнезом, ослабление дыхания справа, цианоз

Д. Внезапно возникшая одышка у больного с сердечной недостаточностью на фоне постинфарктного кардиосклероза и появлением зубца Q в III и зубца S в I стандартных отведениях

№ 25

Диагноз муковисцидоза может быть обоснованно заподозрен, если у 17-летнего больного с наличием бронхоэктазов дополнительно выявляют:

А. Декстрокардию

Б. Рецидивирующую крапивницу

В. Наличие нейтрального жира в кале

Г. Артериальную гипертонию

Д. Снижение уровня IgA в сыворотке

№ 26

В лечении 74-летнего больного с хроническим обструктивным бронхитом, предъявляющего жалобы на затруднение при мочеиспускании (при обследовании выявлено увеличение предстательной железы), могут быть использованы все препараты, кроме:

А. Атровент

Б. Сальбутамол

В. Фенотерол

Г. Теопэк

Д. Дитэк

ОТВЕТЫ К СИТУАЦИОННЫМ ЗАДАЧАМ

№ 22

А. В основе синдрома Зиверта-Картагенера лежит наследственный дефект ультраструктуры ресничек мерцательного эпителия (первичная цилиарная дискинезия), что приводит к нарушению мукоцилиарного клиренса с развитием хронического бронхита и бронхоэктазов.

Классическим проявлением синдрома является триада, включающая: а) обратное расположение внутренних органов (*situs viscerum inversus*), б) риносинусит, в) бронхоэктазии.

Обратное расположение внутренних органов не является обязательным признаком данного синдрома. В норме ротация зародышевой трубки обусловлена функцией мерцательного эпителия. У больных с первичной цилиарной дискинезией ротация происходит случайным образом и поэтому в половине случаев наблюдается нормальное расположение внутренних органов, а в половине — обратное.

№ 23

Б. Приступы удушья могут быть одним из проявлений узелкового артериита, нередко являясь дебютом данного заболевания (астматический вариант узелкового артериита). Данный вариант чаще наблюдается у женщин, характеризуется гиперэозинофилией и резистентностью к противоастматической терапии. У ряда больных в течение длительного времени бронхообструктивный синдром может быть единственным проявлением заболевания, а такие системные проявления, как лихорадка, полинейропатия, артериальная гипертензия и др., присоединяются позже (через несколько месяцев или даже лет). При идиопатическом фиброзирующем альвеолите и системной склеродермии также возможно повышение количества эозинофилов в крови, однако не достигающее таких высоких цифр.

В основе карциноидного синдрома лежит повышенная продукция серотонина клетками определенного

типа опухолей, что обычно не сопровождается эозинофилией.

При пневмоцистной пневмонии, являющейся маркером тяжелого иммунодефицитного состояния, повышение количества эозинофилов также не характерно.

№ 24

В. Наличие нарастающей одышки неясного происхождения дает основание заподозрить идиопатический фиброзирующий альвеолит (ИФА). Последний рассматривается как самостоятельная нозологическая форма среди фиброзирующих альвеолитов, характеризующихся прогрессирующей одышкой, рентгенологически выявляемыми диффузными изменениями в легких, нарушениями ФВД, преимущественно рестриктивного типа. Наряду с ИФА к группе фиброзирующих альвеолитов относятся экзогенный фиброзирующий альвеолит (легкое фермера), токсический фиброзирующий альвеолит (амиодароновое легкое, воздействие гербицидов) и легочные фиброзы при некоторых системных заболеваниях (склеродермия, ХАГ и др.).

Частота ИФА составляет 40—60% среди всех диффузных легочных фиброзов. В основе неуклонно прогрессирующей одышки при ИФА лежит развитие альвеолярно-капиллярного блока, связанного с утолщением межальвеолярных перегородок, облитерацией альвеол и капилляров. Почти у половины больных ИФА могут наблюдаться внелегочные проявления (артралгии, синдром Рейно, лихорадка). Типичным признаком ИФА является изменение ногтевых фаланг с формированием (нередко довольно быстро) симптома “барабанных палочек” и “часовых стекол” (пальцы Гиппократов).

№ 25

В. Муковисцидоз представляет собой наследственное заболевание, в основе которого лежит продукция

дефектного белка, регулирующего мембранную проницаемость ионов хлора. Вследствие этого наблюдается нарушение секреторной функции мукозных и серозных желез со сгущением секретов различных экзокринных желез с развитием закупорки и эктазии выводных протоков. Нарушение функции бронхиальных желез лежит в основе развития у больных муковисцидозом хронического гнойного бронхита с формированием бронхоэктазов. Закупорка выводных панкреатических протоков ведет к развитию кистозного фиброза поджелудочной железы, проявляющегося признаками внешнесекреторной недостаточности, нередко с развитием синдрома недостаточного всасывания. Одним из характерных лабораторных признаков внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы является наличие нейтрального жира в кале.

Остальные признаки не характерны для муковисцидоза, особенно артериальная гипертензия,

поскольку при данном заболевании вследствие потери ионов хлора и натрия наблюдается тенденция к гипотонии.

№ 26

А. Атровент (ипратропиум бромид) является эффективным М-холинолитическим препаратом, использующимся при лечении больных хроническими обструктивными заболеваниями легких. Наиболее целесообразно применение данного препарата у больных пожилого возраста. Однако ввиду его атропиноподобного действия препарат следует использовать с осторожностью у больных с аденомой предстательной железы из-за риска усиления задержки мочи. Препараты теофиллина пролонгированного действия (теопэк и др.), β_2 -адреномиметики (сальбутамол, фенотерол), а также комбинированный препарат дитэк, содержащий фенотерол и интал, не оказывают подобного побочного эффекта.

Уважаемые читатели!

Напоминаем Вам, что подписаться на журнал "Пульмонология" можно в любом почтовом отделении. Наше издание включено, и в дальнейшем будет вноситься, в каталог периодических изданий.

Индекс журнала 73322.

Подписная компания на 1995 год началась 1 сентября 1994 г. Надеемся, и в дальнейшем видеть Вас среди наших подписчиков.

С уважением
редакция журнала "Пульмонология"

ПАМЯТИ ПРОФЕССОРА В.В.УТКИНА



23 августа 1994 г. скончался Заслуженный деятель науки Латвии, доктор медицинских наук профессор Владимир Валентинович Уткин. Владимир Валентинович родился 27 июня 1932 г. в г.Риге. После окончания в 1955 г. I Медицинского института он был принят в ординатуру Рижского медицинского института по хирургии. Защитив докторскую диссертацию в 1966 г. и получив степень доктора медицинских наук, он становится профессором, а затем и заведующим кафедрой факультетской хирургии Рижского медицинского института, позже Латвийской медицинской Академии. Этой кафедрой он заведовал до последних дней своей жизни.

В.В.Уткин был хирургом широкого профиля, но больше всего сил он отдавал торакальной хирургии и хирургии легких. Наряду с монографиями "Хирургия язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки" (Рига, 1983), "Грыжи пищеводного отверстия диафрагмы" (Рига, 1976), "Специализированная медицинская помощь при неотложных состояниях" (Рига, 1981), "Современные аспекты диагностики и лечения в поликлинической практике" (Рига, 1985), В.В.Уткин опубликовал большое количество работ по хирургической пульмонологии: "Трансторакальная пункция в пульмонологической клинике", 1980 г.; "Хирургическое лечение разрывов трахеобронхиального дерева", 1983 г.; "Диагностическая и лечебная катетеризация бронхиальных артерий", 1978 г.; "Хирургия рака легкого в пожилом и старческом возрасте", 1986 г., и многие другие.

В.В.Уткин был хорошо известен среди специалистов не только нашей страны, но и за рубежом. Он являлся членом Международной Академии грудных врачей и хирургов, был членом международного общества хирургов, членом Европейской ассоциации сердечно-сосудистой хирургии и членом Европейского респираторного общества. За долгую и успешную работу В.В.Уткин был награжден орденом "Знак Почета", получал государственные премии в области медицины.

Владимир Васильевич был прекрасным человеком и хорошим товарищем, отличным педагогом, воспитавшим много поколений врачей — хирургов и пульмонологов, для которых был другом, учителем и наставником. Для нас, хорошо знавших его, он всегда останется молодым, веселым и остроумным человеком, каким мы встречали его при жизни. Память о нем навсегда останется с нами.

Редколлегия журнала "Пульмонология" и московские друзья профессора В.В.Уткина выражают искреннее соболезнование его семье и коллегам.

Профессор А.А.Овчинников.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.233-002.2-085.272.7

Р.М.Хаитов, А.М.Борисова, Н.В.Хорошилова, А.В.Кулаков, О.Ф.Еремина,
Н.М.Голубева, Б.В.Пинегин

ПРИМЕНЕНИЕ РИБОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА РИБОМУНИЛА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ БРОНХИТОМ

Институт иммунологии Минздрава РФ, Москва

В последние годы отмечается рост хронических заболеваний легких (ХЗЛ) с вялым, затяжным течением обострений и малой эффективностью антибактериальной терапии [1—4].

В связи с этим актуален поиск новых, более эффективных средств лечения ХЗЛ. Одним из перспективных направлений в этой области является использование иммунокорректоров бактериального происхождения [2,11].

Новым в разработке иммунокорректоров бактериального происхождения стало создание рибосомальных препаратов, обеспечивающих высокую специфическую и неспецифическую защиту организма от инфекций, так как рибосомы — эффективные иммуногены содержат все необходимые антигены. Кроме того, рибосомальные препараты отличаются малой токсичностью вследствие отсутствия балластных веществ [8,9].

На сегодняшний день хорошо зарекомендовал себя рибосомальный препарат рибомунил фирмы "Riège Fabre" (Франция). Рибомунил состоит из комплекса рибосомальных фракций 4 бактерий, наиболее часто вызывающих инфекции верхних дыхательных путей и бронхолегочной системы (*Klebsiella pneumoniae*, *Diplococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*). Для усиления иммуногенного эффекта рибосом к ним добавлены в качестве адъюванта протеоглики клеточной стенки *K.pneumoniae*. Имеются данные о положительном влиянии рибомунила на течение хронических заболеваний респираторного тракта [5—7]. В эксперименте показано стимулирующее действие рибомунила на клеточное и гуморальное звенья иммунитета [6,8,9,10].

Целью настоящей работы явилось изучение действия рибомунила на клиническую картину и иммунологические показатели у больных хроническим бронхитом с признаками иммунной недостаточности.

Под наблюдением находилось 105 человек, из них рибомунил получали 63 больных, остальные 42 человека получали плацебо. Возраст обследованных варьировал от 18 до 56 лет. У больных, получавших рибомунил, он составил в среднем $44,0 \pm 10,2$ года, а у

получавших плацебо — $40,2 \pm 15,6$ года. Давность заболевания в среднем составила у получавших рибомунил $9,5 \pm 5,3$ года, а у получавших плацебо — $11,0 \pm 2,5$ года. Частота рецидивирования в год у больных, получавших рибомунил, составила $4,2 \pm 2,7$ раза и $3,6 \pm 1,1$ раза у получавших плацебо. Из сопутствующих заболеваний в обеих группах наиболее часто встречались заболевания ЛОР-органов (гайморит, фарингит, тонзиллит, ринит) и желудочно-кишечного тракта (гастрит, дисбактериоз кишечника).

Рибомунил больные принимали в таблетках по схеме: по 3 таблетки утром натощак каждые 4 дня в течение 3 нед. 1-го месяца, затем по 3 таблетки первые 4 дня каждого месяца в течение 5 мес.

Всем больным проводилось клинико-иммунологическое обследование до лечения, через 3 нед. после начала лечения и в дальнейшем ежемесячно. Клиническое обследование включало оценку жалоб больных, характер кашля, мокроты, болей в грудной клетке, дыхания, хрипов, наличие субфебрилитета, данные функции внешнего дыхания, рентгенологическое и бронхоскопическое исследований.

Иммунологическое обследование было направлено на оценку системного и местного иммунитета. Из показателей системного иммунитета изучали количество Т- и В-лимфоцитов, субпопуляций лимфоцитов (CD5, CD4, CD8, CD16, CD21), экспрессию HLA-DR-антигенов. Исследование проводили с помощью проточной цитометрии. Уровень сывороточных IgA, IgM, IgG определяли по методу Манчини. Функциональную активность полиморфно-ядерных нейтрофилов периферической крови оценивали по показателям фагоцитарного индекса (ФИ) в латекс-тесте, лизосомального индекса (ЛИ) и по люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) на люминометре 125 ("ЛКВ").

Из показателей местного иммунитета определяли уровни IgA, IgM, IgG, IgE, IgD в бронхиальном секрете и слюне иммуноферментным методом, клеточный состав бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) по ФИ, ЛИ и ХЛ

фагоцитарных клеток БАЛ. Кроме того, изучали ультраструктуру фагоцитирующих клеток БАЛ при помощи электронной микроскопии (электронный микроскоп ЕМ-100 В, Япония). Статистическую обработку проводили на ЭВМ, достоверность различий между группами оценивали по t-критерию Стьюдента.

Для лечения рибомунилом были отобраны группы больных с частыми (более 3 раз в году) и затяжными обострениями хронического бронхита, с короткими ремиссиями, не получавших иммуностимулирующей терапии в течение 12 мес. перед началом лечения рибомунилом и ранее не принимавших кортикостероиды.

Рибомунил больные хроническим бронхитом получали как в фазе ремиссии, так и фазе обострения процесса.

При обострении хронического бронхита преобладал кашель с гнойной мокротой, имелись одышка при физической нагрузке, боли в грудной клетке, общая слабость. Аускультативно выявлялись жесткое дыхание, сухие и влажные хрипы. Бронхоскопически диагностирован эндобронхит I и II степени. В фазе ремиссии больные предъявляли жалобы на слабость, сухой кашель, реже на кашель со слизистой мокротой. Объективно выявлялись сухие хрипы, бронхоскопически чаще ставили диагноз эндобронхита I степени.

На фоне приема рибомунила постепенно исчезали признаки воспаления в бронхолегочной системе, что сопровождалось положительной динамикой клинических симптомов (рис.1).

Раньше других клинических симптомов как в фазе обострения, так и в фазе ремиссии уменьшались или исчезали слабость, потливость и сухой кашель. К концу 3-й недели лечения в фазе обострения уменьшился кашель со слизистой и гнойной мокротой, а в период ремиссии кашель со слизистой мокротой полностью исчез.

Из объективных признаков следует также отметить положительную динамику показателей функции внешнего дыхания (ФВД) — увеличение скорости экспираторного потока по бронхам среднего и крупного калибра (рис.2).

Из табл.1 видно, что встречаемость кашля с мокротой снизилась с 90 до 6% в фазе обострения и с 16 до 2% — в фазе ремиссии. Гнойная мокрота отмечалась в фазе обострения в 62% случаев, после лечения была

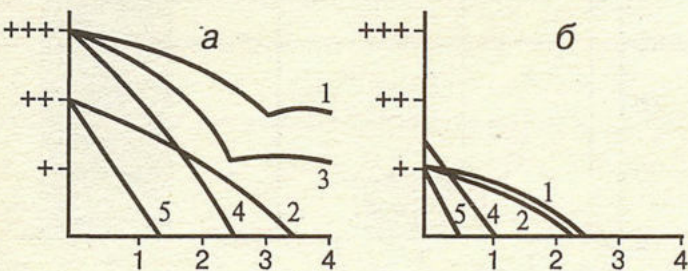


Рис.1. Динамика клинических признаков под влиянием лечения рибомунилом.

а — фаза обострения; б — фаза ремиссии.

1 — кашель со слизистой мокротой, 2 — сухой кашель, 3 — кашель с гнойной мокротой, 4 — слабость, 5 — потливость.

По оси абсцисс: — время лечения, нед; по оси ординат — выраженность признаков.

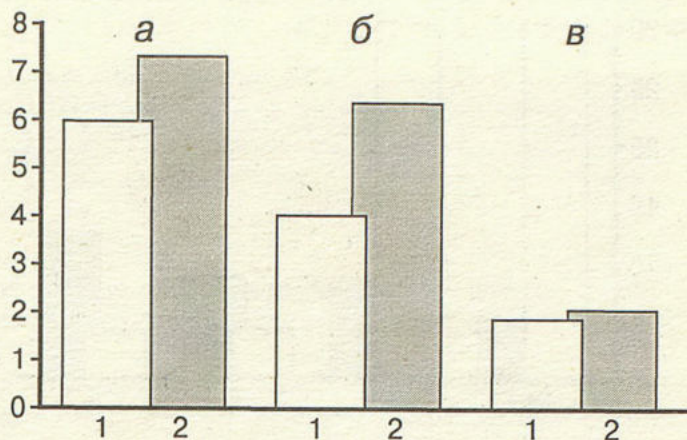


Рис.2. Влияние рибомунила на функцию внешнего дыхания больных.

а — скорость движения воздуха по бронхам крупного калибра; б — скорость движения воздуха по бронхам среднего калибра; в — скорость движения воздуха по бронхам мелкого калибра; 1 — до лечения, 2 — после лечения. По оси ординат — скорость движения воздуха в процентах от должной.

лишь в 8% случаев. Соответственно изменилась встречаемость влажных хрипов. Если до лечения в фазу обострения они прослушивались в 20% случаев, то после лечения — в 12%. Эндобронхит II степени отмечался у 32% больных в фазе обострения до лечения, а после лечения — у 14%, а в фазе ремиссии эндобронхит I степени был соответственно у 80% больных до лечения и у 28% после лечения рибомунилом.

Таблица 1

Встречаемость клинических признаков у больных до и после лечения рибомунилом (в %)

Клинические признаки	Обострение		Ремиссия	
	до	после	до	после
Кашель				
сухой	10	—	22	2
влажный	90	6	16	2
Мокрота				
слизистая	28	6	27	—
гнойная	62	8	—	—
Боли в грудной клетке	11	—	—	—
Общая слабость	78	2	15	4
Одышка	33	3	8	2
Субфебрилитет	28	—	—	—
Дыхание				
ослабленное	12	6	10	2
жесткое	20	2	5	3
Хрипы				
сухие	28	12	12	2
влажные	20	12	—	—
Эндобронхит				
I степени	68	42	80	28
II степени	32	14	—	—

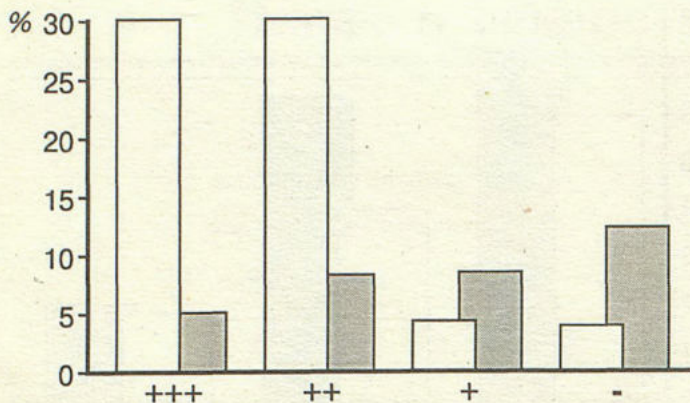


Рис.3. Эффективность терапии рибомунилом. По оси ординат — процент от общего количества больных.

Светлые столбики — больные, начинавшие лечение в фазе ремиссии; заштрихованные столбики — больные, начинавшие лечение в фазе обострения. +++ отличный эффект, ++ хороший эффект, + удовлетворительный эффект, — отсутствие эффекта.

Отличный общий клинический эффект лечения рибомунилом оценивали как +++, хороший — как ++, удовлетворительный как + и отсутствие эффекта обозначали минусом. Отличный эффект характеризовался отсутствием обострений хронического бронхита в течение всего курса лечения, хороший — положительной динамикой большинства клинических и лабораторных показателей, удовлетворительный — возможным наличием 1 небольшого обострения бронхита в период лечения; отсутствие эффекта означало 3 и более обострения основного процесса и без положительной динамики изучаемых показателей.

Отличный эффект лечения рибомунилом отмечен у 30% больных хроническим бронхитом, получавших препарат в период ремиссии, и у 5% больных, получавших рибомунил в период обострения (рис.3). Эффект расценен как хороший у 30% больных в фазе ремиссии и у 8% в фазе обострения, удовлетворительный эффект наблюдался у 4% больных, получав-

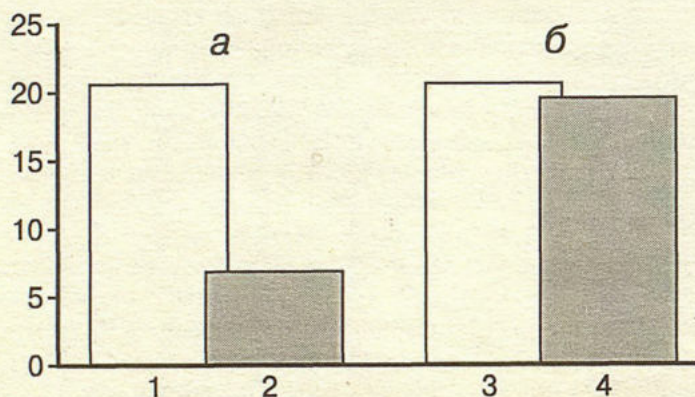


Рис.4. Влияние рибомунила на длительность обострения хронического бронхита.

а — длительность обострений у получавших рибомунил, б — длительность обострений у получавших плацебо. По оси абсцисс: 1 — до лечения рибомунилом; 2 — после лечения рибомунилом; 3 — до лечения плацебо; 4 — после лечения плацебо (здесь и на рис.5); по оси ординат — длительность обострений в днях.

ших рибомунил в фазе ремиссии, и у 8%, получавших препарат в фазе обострения процесса. Четкий положительный эффект лечения отсутствовал у 2 (3%) больных в фазе ремиссии и у 6 (12%) в фазе обострения. Следует отметить, что наиболее выраженная и быстро наступившая положительная динамика клинических симптомов наблюдалась у тех больных, которым рибомунил назначался в фазе ремиссии процесса.

У 8 больных без положительного эффекта 3-недельного курса терапии рибомунилом отмечены постоянный стресс, в большинстве случаев обусловленный плохими социально-бытовыми условиями, курение более 1 пачки сигарет в день в течение 10—20 лет, длительное пребывание в сыром и запыленном помещении, контакт с вредными химическими веществами.

Сравнивая результаты лечения рибомунилом с эффектом плацебо, удалось отметить влияние рибомунила на длительность обострений и снижение потребности в антибактериальной терапии. Рибомунил уменьшал длительность обострений хронического бронхита. Если до лечения средняя продолжительность обострения составляла 21 день, то на фоне приема рибомунила она снизилась до 7 дней. У получавших плацебо длительность обострений практически не изменилась (рис.4).

Терапия рибомунилом снизила потребность в антибактериальных препаратах для купирования обострений. Так, при обострении хронического бронхита до начала лечения потребность в антибактериальной терапии была практически у всех больных. После начала приема рибомунила она сохранилась лишь у 18% больных. После приема плацебо в антибактериальной терапии нуждались почти 90% больных (рис.5).

На фоне приема рибомунила, наряду с уменьшением числа и продолжительности обострений хронического бронхита, отмечалось уменьшение клинических проявлений сопутствующей хронической инфекции, в частности, хронического гайморита, тонзиллита. У 1 больного на фоне терапии рибомунилом, помимо стойкой ремиссии хронического бронхита, наступила и ремиссия сопут-

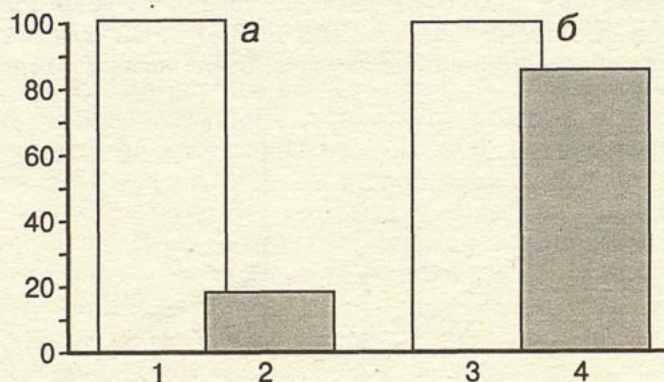


Рис.5. Влияние рибомунила на потребность в антибактериальной терапии при обострениях.

а — потребность в антибактериальной терапии у получавших рибомунил; б — потребность в антибактериальной терапии у получавших плацебо. По оси ординат — потребность в антибактериальной терапии для купирования обострений (в % больных, получавших рибомунил или плацебо).

Субпопуляции лимфоцитов до и после лечения (абсолютное содержание 1 мм^3 крови; $M \pm m$)

Фаза (активность процесса)	CD5 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺		CD21 ⁺		CD16 ⁺		HLA-DR ⁺	
	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после
Рибомунил												
Обострение	1,0±0,06	1,2±0,1	0,6±0,05	0,7±0,06	0,4±0,03	0,4±0,05	0,08±0,01	0,09±0,02	0,08±0,01	0,1±0,02	0,1±0,01	0,1±0,02
Ремиссия	1,2±0,1	1,1±0,1	0,9±0,06	0,7±0,06	0,5±0,06	0,3±0,04	0,1±0,02	0,06±0,01	0,2±0,03	0,1±0,04	0,1±0,03	0,07±0,02
П л а ц е б о												
Обострение	1,1±0,4	1,7±0,6	0,6±0,3	0,9±0,4	0,5±0,3	0,6±0,2	0,06±0,04	0,07±0,04	0,2±0,1	0,3±0,17	0,2±0,1	0,3±0,18
Ремиссия	1,1±0,4	1,2±0,3	0,6±0,25	0,7±0,2	0,5±0,2	0,09±0,03	0,1±0,02	0,2±0,02	0,1±0,02	0,1±0,02	0,2±0,02	0,1±0,04

ствующего фурункулеза (практически полное исчезновение гнойничковых высыпаний на коже).

Клинический эффект рибомунила заключается в улучшении клинической картины основного бронхолегочного процесса, уменьшении числа и длительности обострений хронического бронхита, в снижении потребности в антибактериальной терапии, ослаблении клинических проявлений сопутствующей хронической инфекции.

Больные переносили рибомунил хорошо. Лишь в единичных случаях (8 человек) в первые 2 нед. приема рибомунила возникло небольшое обострение хронического бронхита длительностью не более 12—15 дней, а затем отмечался хороший и быстрый результат антибактериальной терапии.

Из других побочных эффектов терапии рибомунилом наблюдалось обострение хронической инфекции: в 1 случае хронического тонзиллита и в 2 случаях хронического пиелонефрита (боли в пояснице, дизурические явления, общая слабость, изменения в анализах мочи и крови). Обострение пиелонефрита успешно купировалось уроантисептиками в течение 1,5 нед. Обострение хронического тонзиллита дополнительных назначений не потребовало, так как быстро купировалось самостоятельно. Головные боли наблюдались у 1 больной, имевшей в анамнезе гнойный менингит. У 4 больных наблюдалась тошнота в первые дни приема рибомунила. К концу 1-й недели лечения эти явления прошли самостоятельно.

Таким образом, во время лечения рибомунилом возможны кратковременные обострения хронической инфекции, которые успешно купируются симптоматическими и антибактериальными препаратами.

Проведенные нами в процессе лечения рибомунилом клинко-иммунологические сопоставления позволили выявить ряд особенностей влияния рибомунила на показатели иммунитета. Отмечено определенное влияние рибомунила на показатели клеточного иммунитета. С учетом ремиссии и обострения был проведен анализ иммунологических показателей в зависимости от их исходного уровня.

Независимо от фазы процесса, в обеих группах больных при исходно низких показателях иммунитета отмечается их повышение, а при исходно повышенных значениях — снижение.

У больных с исходно повышенным содержанием CD5⁺ и CD4⁺ клеток преобладала гнойно-обструктивная форма хронического бронхита с яркими обострениями процесса, сопутствующим хроническим тонзиллитом, но при этом отмечался хороший эффект антибактериальной терапии.

У больных с исходно низким содержанием CD5⁺ и CD4⁺ лимфоцитов отмечено вялое течение обострений и незначительный эффект антибактериальной терапии.

Средние значения исходных показателей субпопуляционного состава лимфоцитов у обследованных больных незначительно отличались от нормы и мало менялись в процессе 3-недельного лечения (табл.2). Однако у

Таблица 3

Функциональная активность полиморфно-ядерных нейтрофилов до и после 3-недельного курса лечения рибомунилом, $M \pm m$

Фаза (активность процесса)	ХЛ		ЛИ		ФИ	
	до	после	до	после	до	после
Рибомунил						
Обострение	44,26±39,7	20,2±26,3	1,38±0,66	1,36±0,23	62,8±18,9	72,3±12,42
Ремиссия	56,46±48,5	18,3±10,1	1,23±0,54	1,31±0,29	74,3±16,2	75,7±12,59
П л а ц е б о						
Обострение	47,09±9,29	48,4±9,86	1,29±0,5	1,17±0,47	66,5±11,5	7,25±11,73
Ремиссия	4,0±38,2	2,95±15,4	1,1±0,29	0,9±0,44	76,2±12,2	82,3±15,58

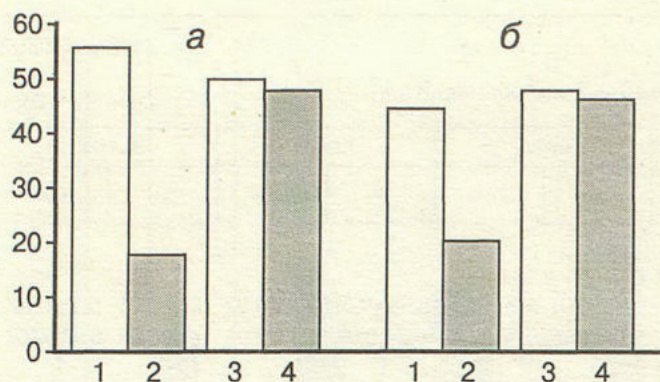


Рис.6. Влияние рибомунила на индекс стимуляции люминол-зависимой ХЛ нейтрофилов периферической крови у больных.

Здесь и далее на рис.7—11: а — в фазе ремиссии хронического бронхита, б — в фазе обострения хронического бронхита. По оси абсцисс: 1 — до лечения рибомунилом, 2 — после лечения рибомунилом, 3 — до лечения плацебо, 4 — после лечения плацебо. По оси ординат — индекс стимуляции люминол-зависимой ХЛ.

больных с исходно сниженным или исходно повышенным содержанием $CD4^+$, $CD5^+$ лимфоцитов этот показатель нормализовался в течение уже первых 3 нед. приема рибомунила, что коррелировало с положительным клиническим эффектом терапии.

В целом под влиянием рибомунила отмечается тенденция к нормализации показателей клеточного иммунитета, к увеличению сниженного содержания $CD5^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ клеток. Медленную динамику иммунологических показателей следует объяснить, по-видимому, тем, что срок, прошедший от начала лечения рибомунилом, недостаточен для полной реализации его иммуномодулирующего действия. По данным литературы, для этого необходимо не менее 2—6 мес.

Рибомунил существенно влияет на показатели фагоцитарного звена иммунитета (табл.3). Так, при изучении функциональной активности полиморфно-ядерных нейтрофилов периферической крови больных хроническим бронхитом как в фазе ремиссии, так и в фазе обострения отмечается достоверное снижение показателей ХЛ нейтрофилов крови (рис.6). Однако снижение этого показателя было различным в зависимости от клинических особенностей заболевания. Выделены группы больных со снижением исходно повышенных

значений ХЛ до нормальных цифр, со снижением исходно повышенных значений ХЛ ниже нормы и со снижением исходно нормальных значений ХЛ ниже нормы.

Снижение показателей ХЛ с исходно высоких значений до нормы наблюдалось у больных, получавших рибомунил в фазе ремиссии. В дальнейшем у этих больных отмечен хороший и отличный эффект лечения. Значительное снижение показателей ХЛ — с повышенных цифр ниже нормы наблюдалось у больных, находившихся к моменту начала лечения рибомунилом в фазе обострения с выраженными признаками воспаления в бронхиальном дереве. В дальнейшем у этой группы отмечался удовлетворительный эффект терапии рибомунилом. Исходно нормальные значения ХЛ нейтрофилов снижались в основном у лиц, находившихся к моменту начала терапии рибомунилом в фазе нестойкой ремиссии. У больных с таким типом снижения ХЛ наблюдался удовлетворительный, но нестойкий клинический эффект лечения.

Интересно отметить, что влияние рибомунила на фагоцитарное звено системы иммунитета выражалось также в коррекции сопутствующих гнойных заболеваний (гайморит, фурункулез) у больных хроническим бронхитом.

Таким образом, по показателям ХЛ нейтрофилов крови выявляются определенные корреляции с клиническими данными больных, получавших рибомунил.

Изучение гуморального звена иммунитета показало, что содержание иммуноглобулинов сыворотки крови практически не изменилось в процессе лечения рибомунилом. Иную картину представляют показатели местного иммунитета.

Отмечена существенная динамика уровней иммуноглобулинов бронхиального секрета и слюны. У обследованных больных хроническим бронхитом в фазу обострения и в фазу ремиссии наблюдались как повышенные, так и пониженные концентрации секреторного IgA бронхиального секрета и слюны. У больных с повышенным уровнем секреторного IgA были значительно выражены признаки воспаления в бронхиальном дереве. У больных с пониженным уровнем секреторного IgA в бронхиальном секрете и слюне отмечены гипотрофия слизистых оболочек респираторного тракта.

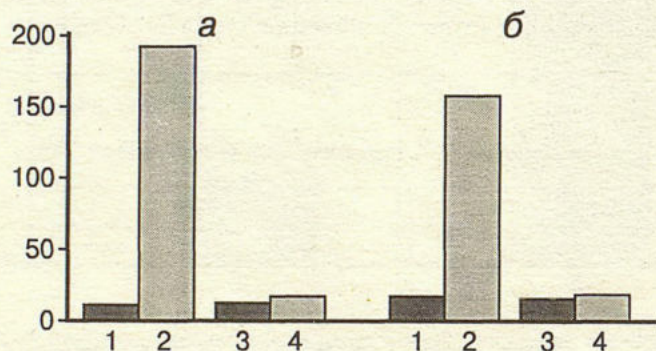


Рис.7. Влияние рибомунила на уровень секреторного IgA в бронхиальном секрете.

По оси ординат (здесь и на рис.8): уровень секреторного IgA, в мкг/мл.

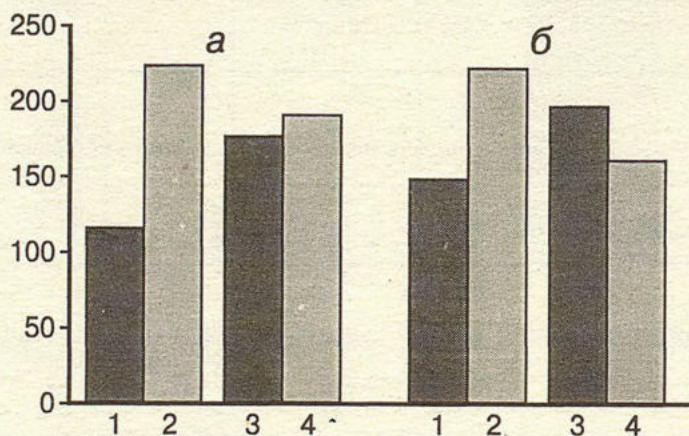


Рис.8. Влияние рибомунила на уровень секреторного IgA в слюне.

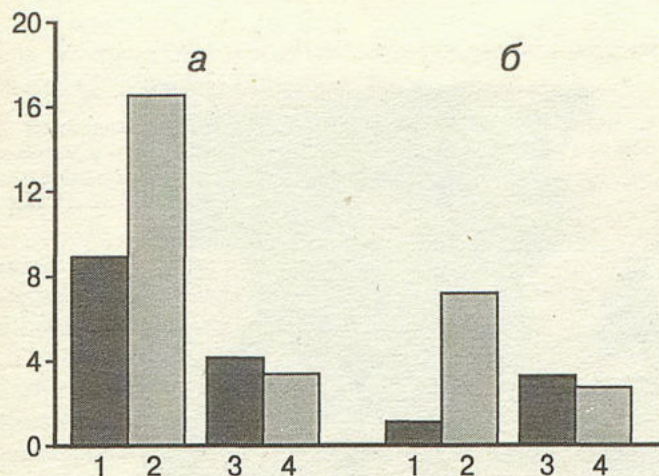


Рис.9. Влияние рибомунила на уровень IgD в бронхиальном секрете.

торного тракта, вялое течение воспалительного процесса. У лиц с исходно низким уровнем секреторного IgA в бронхиальном секрете под влиянием лечения рибомунилом, по сравнению с группой получавших плацебо, отмечается повышение уровней секреторного IgA в бронхиальном секрете и слюне как в фазе ремиссии, так и в фазе обострения (рис.7,8).

У больных хроническим бронхитом в фазе ремиссии, но особенно в фазе обострения отмечаются исходно низкие уровни IgD в бронхиальном секрете. Под влиянием лечения рибомунилом происходит достоверное повышение уровней IgD в бронхиальном секрете как в фазе ремиссии, так и в фазе обострения процесса (рис.9).

Изучение взаимосвязей местного иммунитета с клиническим эффектом терапии рибомунилом позволило отметить, что в случае положительного эффекта лечения повышаются уровни секреторных IgA и IgD бронхиального секрета и слюны, а при отсутствии четкого клинического улучшения они снижаются.

Таким образом, уровни секреторных IgA и IgD бронхиального секрета и слюны коррелируют с клиническим эффектом лечения рибомунилом.

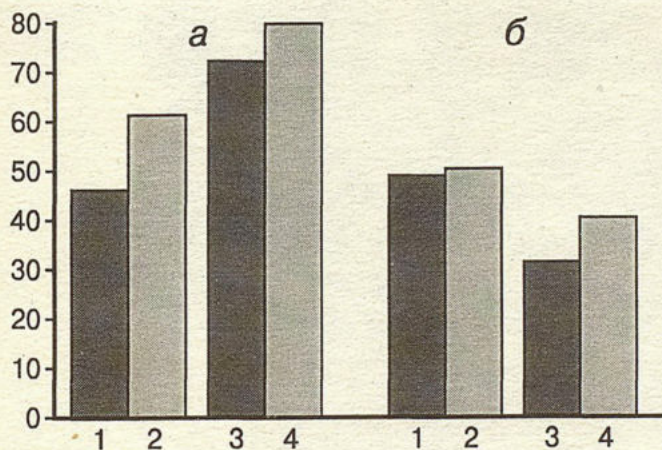


Рис.10. Влияние рибомунила на уровень макрофагов в лаважной жидкости.

По оси ординат: уровень макрофагов в %.

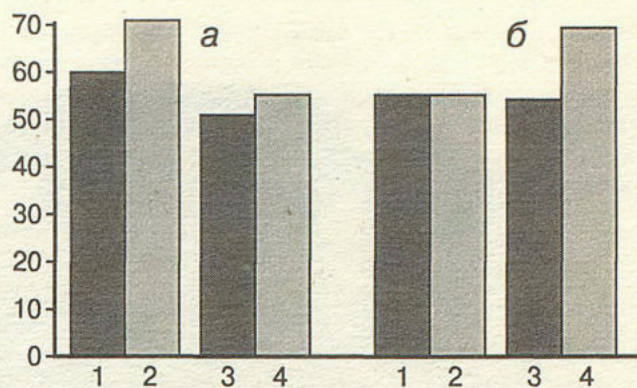


Рис.11. Влияние рибомунила на ФИ фагоцитов лаважной жидкости.

По оси ординат: ФИ в %.

В процессе лечения рибомунилом изменялся и клеточный состав БАЛ. Отмечалось увеличение содержания макрофагов в БАЛ, преимущественно у больных, начинавших лечение в фазе ремиссии (рис.10). Содержание макрофагов в лаважной жидкости особенно увеличивалось у больных, получавших рибомунил в фазе нестойкой ремиссии. В фазе обострения за три недели приема рибомунила особой динамики данного показателя не отмечалось.

Выявлены изменения фагоцитарного индекса (ФИ) нейтрофилов и макрофагов БАЛ. ФИ нейтрофилов и макрофагов БАЛ достоверно увеличивался в фазе ремиссии, тогда как в фазе обострения особенных его изменений не наблюдалось (рис.11).

Говоря об изменениях клеточного состава лаважной жидкости, необходимо отметить изменения ультраструктуры фагоцитирующих клеток БАЛ. До лечения в клеточном составе БАЛ преобладали нейтрофилы (рис.12, а). Вся цитоплазма нейтрофилов лаважной жидкости заполнена фаголизосомами, оттеснившими ядро клетки к периферии. Первичные лизосомы в таких клетках единичны. Отростки утрачены, поверхность клетки гладкая.

Таким образом, ультраструктурная характеристика нейтрофилов свидетельствует об активном срабатывании фагоцитарной системы, что блокирует дальнейшее проявление фагоцитарной функции. Это делает клетку функционально малоактивной.

Ультраструктура макрофагов до лечения также отличалась обилием фаголизосом в цитоплазме; некоторые из них сливались. Первичные лизосомы в таких клетках не дифференцировались. Мелкие единичные митохондрии расположены между фаголизосомами (см. рис.12, б).

Через 3 нед. после лечения рибомунилом изменялся клеточный состав лаважной жидкости: появлялось значительное число макрофагов. Изменяется и ультраструктура клеточных звеньев. В цитоплазме нейтрофилов начинают преобладать первичные лизосомы, уменьшается количество фаголизосом (см. рис.12, в).

В ультраструктуре макрофагов также исчезают фаголизосомы (см. рис.12, г, д). В цитоплазме преобладают новообразованные митохондрии, которые отличаются малыми размерами и утолщенными мембранами крист.

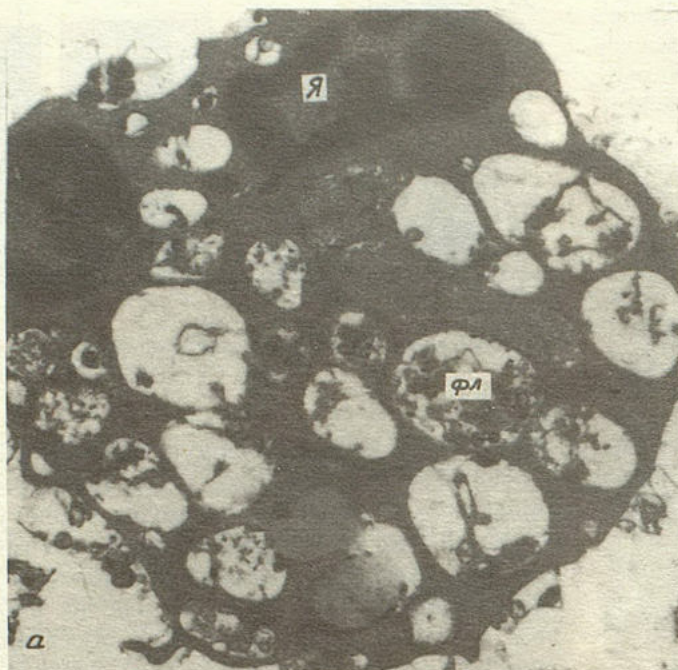


Рис.12. Ультраструктура нейтрофилов и макрофагов лаважной жидкости до и после лечения рибомунилом.

а — ультраструктура нейтрофилов до лечения рибомунилом; б — после лечения рибомунилом; в — ультраструктура макрофагов до лечения рибомунилом; г — после лечения рибомунилом. я — ядро; фл — фаголизосома; л — лизосома; м — митохондрия. Ув. 6000; д — митохондрии в цитоплазме макрофагов. Ув. 14 000.

Такая ультраструктура макрофагов после лечения рибомунилом связана с изменением метаболизма и усилением их функциональной активности.

Таким образом, при лечении рибомунилом происходит изменение ультраструктурной организации фагоцитирующих клеток, направленное на обновление лизосомальных структур в фагоцитах, усиление их функциональной активности. При сопоставлении полученных результатов с клиническими признаками отмечено, что эффективность рибомунила зависит от исходного функционального состояния и резервных возможностей фагоцитирующих клеток.

В заключение следует отметить, что рибосомальный иммунокорректор рибомунил является эффективным средством лечения хронического бронхита. Под влиянием рибомунила уменьшаются число и длительность обострений хронического бронхита, уменьшается потребность в антибактериальной терапии при обострениях. В процессе лечения рибомунилом исчезают или уменьшаются клинические признаки хронического бронхита и нормализуются измененные показатели местного и системного иммунитета.

Наиболее благоприятным периодом для назначения рибомунила является фаза ремиссии хронического бронхита, что, по-видимому, связано с его вакциноподобным действием.

Как показали исследования, рибомунил оказывает иммунокорректирующее влияние преимущественно на фагоцитарное звено системы иммунитета и на местный иммунитет слизистых оболочек респираторного тракта. В связи с этим применение рибомунила оправдано у больных с признаками вторичного иммунодефицитного состояния, страдающих частыми респираторными инфекциями, хроническими заболеваниями бронхолегочной системы.

Перспективны дальнейшее изучение механизмов действия рибомунила и оценка его эффективности после более длительного его применения.

Таким образом, появление нового активно действующего препарата бактериального происхождения рибомунила открывает новые возможности в лечении хронического бронхита.

В ы в о д ы

1. Рибомунил является эффективным патогенетически направленным средством иммунокоррекции при хроническом бронхите.

2. В результате приема рибомунила уменьшается число обострений хронического бронхита и они протекают легче.

3. Наиболее благоприятным периодом для назначения рибомунила является фаза ремиссии хронического бронхита.

4. Рибомунил преимущественно влияет на функциональную активность фагоцитарной системы, а также на показатели гуморального иммунитета слизистых оболочек респираторного тракта.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Борисова А.М. // Тер. арх.— 1991.— № 10.— С.4—14.
2. Палеев Р.Н., Царькова Л.Н., Борохов А.И. Хронические неспецифические заболевания легких.— М., 1985.
3. Чучалин А.Г. Иммунокоррекция в пульмонологии.— М., 1989.
4. Bergmann K. // *Mal. Medicament. / Drugs Dis.*— 1987.— Vol.3, № 2.— P.47—54.
5. Ebner R. // *Ibid.*— P.99—104.
6. Girard J.P., Gumowski P.I. // *Ibid.*— P.77—90.
7. Michel F.B. // *Ibid.*— P.55—76.
8. Nicolayeva L.V., Saveliev E.P. // *Biomed. Sci.*— 1991.— Vol.2, № 1.— P.1—10.
9. Normier G., Pinel A.M., Dussourd d Hinterland L. et al. // *Mal. Medicament. / Drugs Dis.*— 1987.— Vol.3, № 2.— P.11—19.
10. Revillard J.P., Millet I., Lafont S. et al. // *Ibid.*— P.37—47.
11. Wigzell H. // *Ibid.*— P.105.

Поступила 13.02.95.

ПРОТОКОЛ ЗАСЕДАНИЯ ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКОЙ СЕКЦИИ МГНТ ОТ 17.01.95.

Проф. Дворецкий Л.И. Ведение пожилого пульмонологического больного.

В докладе освещены основные проблемы, возникающие при ведении пожилых больных с заболеваниями легких. Основными особенностями пожилого пульмонологического больного являются преобладание хронических обструктивных заболеваний легких (ХОЗЛ), наличие морфологических и функциональных изменений легочной ткани (сенильное легкое), высокая частота сопутствующей внелегочной патологии, нередко с формированием так называемого синдрома "взаимного отягощения" (декомпенсация сопутствующего заболевания на фоне обострения ХОЗЛ или пневмонии, развитие тяжелых пневмоний на фоне различных соматических заболеваний). В связи с нарушениями фармакокинетики различных медикаментов, а также необходимостью полифармакотерапии у пожилых частота лекарственных осложнений у данной категории пациентов значительно выше. Основные требования к фармакотерапии пожилого больного ХОЗЛ должны сводиться к удобству применения лекарств (преимущественно таблетированные формы, пролонгированные препараты), снижению риска побочных эффектов (комбинированные препараты), минимальному взаимодействию с другими медикаментами, доступности и приемлемой стоимости лекарств, необходимости наблюдения и контроля за лечением. Существенной альтернативой медикаментозной терапии больных ХОЗЛ должны быть методы кинезитерапии. Основной акцент при ведении пожилого больного ХОЗЛ должен быть сделан на улучшении качества жизни, т.е. на ослаблении клинических проявлений (главным образом одышки), контроле сопутствующей патологии (сердечная декомпенсация, нарушение питания, остеопороз и др.), предупреждении побочных эффектов медикаментов, улучшении психосоциальной адаптации (повышение физической активности, самообслуживания, контакта с окружающими).

Ст.н.с. И.К.Малашенкова, к.б.н. В.М.Говорун. Демонстрация случая смешанной микоплазменной инфекции респираторного тракта.

Представлен случай затяжного течения обструктивного бронхита, сочетающегося с сегментарной пневмонией и поражением верхних дыхательных путей, смешанной микоплазменной этиологии (*M.pneumoniae* и *P.hominis*), осложнившийся дисбактериозом и распространенным кандидозом слизистых с развитием аутоиммунного тиреоидита и инфекционно-аллергического миокардита на фоне иммунодефицитного состояния.

В докладе подняты вопросы адекватной антибиотикотерапии (недооценка клинической симптоматики, нарушения тактики применения антибиотиков привели у данной больной к распространенному кандидозу слизистых, углублению иммунодепрессии).

Привлечено внимание к новому методу определения причинного возбудителя с помощью полимеразно-цепной реакции (ДНК-типирование).

Отмечена необходимость оценки иммунного статуса в случаях затяжного и тяжелого течения микст-инфекций респираторного тракта. Продемонстрирован пример успешного применения этиотропной терапии в сочетании с детоксикацией и иммунокоррекцией.

На примере представленного случая и данных литературы обсуждалась частота и возможные патогенетические механизмы развития иммунокомплексной патологии при микоплазменной инфекции и вопросы терапии.

В заключительном слове проф. Н.А.Дидковский отметил высокий научный уровень клинической демонстрации ст.н.с. И.К.Малашенковой и к.б.н. В.М.Говоруна и обратил внимание слушателей на новые возможности этиологической диагностики, которые открывает метод полимеразно-цепной реакции. Проф. Н.А.Дидковский поздравил проф. Л.И.Дворецкого и всех присутствующих с рождением нового журнала — выходом в свет первого номера журнала "Клиническая геронтология".

ПРОТОКОЛ 214-ГО ЗАСЕДАНИЯ ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКОЙ СЕКЦИИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА МОСКВЫ И МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ОТ 13.04.93.

Председатель — проф. А.П.Кузьмичев, референт — проф. Н.С.Королева

Доклады

1. Б.Е.Полоцкий, С.Г.Малаев, Е.А.Смирнова, М.И.Давыдов, А.И.Пирогов, З.О.Мачаладзе, Н.Т.Райхлин (Онкологический научный центр РАМН). **Отдаленные результаты и прогноз хирургического лечения при немелкоклеточном раке легкого в зависимости от ультраструктуры опухоли.**

Наиболее важными факторами прогноза при хирургическом лечении рака легкого являются распространенность и гистологическая форма опухоли. Совокупная оценка показателей распространенности опухоли в зависимости от гистологического варианта показала близкие 3- и 5-летние результаты при T1-2N0M0. В то же время, если соответственно 33,3 и 22,9% больных плоскоклеточным раком с распространенностью T3N0M0 прожили эти сроки, то у пациентов с аденокарциномой результаты значительно хуже — 11,1%. При плоскоклеточном раке метастазирование в лимфатические узлы (N1-2) при T3 позволяет все же каждому шестому больному (16,6%) прожить 2 года. К 3 годам выживаемость резко падает (6,6%), 5 лет не прожил ни один пациент. Результаты лечения аденокарциномы аналогичной распространенности крайне плохие — только половина пациентов (50%) пережили год, а затем и они погибли, не дожив до 2 лет.

Одним из подходов к совершенствованию прогнозирования хирургического лечения является оценка ультраструктуры опухолевых клеток. В докладе приведена оценка результатов хирургического лечения 70 больных с аденокарциномой легкого. При гистологическом исследовании среди изученных опухолей было 15 высокодифференцированных, 31 среднелдифференцированная и 24 низкодифференцированных аденокарцином.

Анализ результатов хирургического лечения при сравнимых значениях TNM показал, что степень дифференцировки опухоли на светоптическом уровне мало влияет на отдаленные результаты: 5 лет прожили 46% больных при высокодифференцированных формах, 41% — при умереннодифференцированных и 36% больных при низкодифференцированных. Результаты лечения 163 пациентов с плоскоклеточным раком легкого практически не зависели от степени дифференцировки опухоли на светоптическом уровне.

Отмечено, что благоприятное течение заболевания (1-я группа) связано в основном с отсутствием темных клеток (ТК) и большим количеством десмосом; среди больных, проживших 5 лет, ТК наблюдались всего у 5 (7%), в том числе при центральном раке их было много у 4 (8,2%), а при периферическом — у 1 (4,3%) больного. В то же время много десмосом выявлено в целом у 64 (89%) больных, в том числе у 48 (98%) при центральном раке и у 16 (69%) при периферическом расположенной опухоли.

Среди больных, умерших после операции в сроки до 5 лет (2-я группа), наблюдалась противоположная картина: ТК отмечены в

целом у большинства — у 78 (86%), а много десмосом — менее чем у половины — у 38 (41%) больных. Соответственно при центральном раке ТК обнаружены у 45 (82%), а десмосом было много у половины — у 27 (49%) больных. При периферической опухоли ТК выявлены у 33 (92%), а большое количество десмосом — менее чем 1/3 — у 11 (30%) пациентов.

Особенно наглядны ультраструктурные различия при сравнении последовательно больных 1-й и 2-й групп с равноценными значениями TNM: при T1-2N0, T1-2N1, T1-2N2, когда много ТК отмечалось у 6,9 и 84,6%; 15,3 и 85,7%; 0 и 86,6% соответственно. Такое же сравнение при распространенности T3N0, T3N1, T3N2 выявило аналогичные соотношения: 0 и 86,6%; 0 и 87,5%; 0 и 83,3% соответственно. В то же время в сравниваемых группах отмечается прогрессивное уменьшение количества больных с большим содержанием десмосом. Обращает внимание, что в опухолях всех трех больных, проживших 5 лет при T1-3N2, не найдено ТК, но отмечалось много десмосом.

Совокупный анализ позволяет говорить о том, что признак "ТК" имеет самостоятельное значение и их большое количество характеризует опухоль как более злокачественную. Признак большого количества десмосом также не зависит от распространенности опухоли и чаще встречается при благоприятном течении процесса, но менее специфичен в плане прогнозирования, чем признак "ТК".

Выводы

1. Основным интегральным клиническим признаком в прогнозировании хирургического лечения немелкоклеточного рака легкого является признак "распространенности опухоли".

2. Изучение ультраструктуры клеток аденокарциномы и плоскоклеточного рака легкого позволяет углубленно оценить и уточнить степень их дифференцировки, выявить структуры, недоступные светоптическому исследованию.

3. Полученные корреляции клинических и ультраструктурных данных улучшают возможности прогнозирования результатов хирургического лечения и в определенной степени могут влиять на тактику послеоперационного лечения.

Ответы на вопросы

Прогноз одинаковый при периферическом и центральном эпидермоидном раке одной и той же стадии. Ультрамикроскопическое исследование позволяет лучше прогнозировать выживаемость и решать вопрос о необходимости проведения дополнительного лечения (химио- или лучевой терапии). Для прогнозирования отдаленных результатов имеет значение совокупность различных признаков (стадии, гистологической структуры опухоли, иммунного статуса и т.д.).

Прения

Ю. В. Бирюков. На сегодня результаты диагностики и лечения рака легкого неудовлетворительные. Рак I стадии диагностируется только в 3—4% случаев. Современный подход — это комбинированное лечение рака легкого. Получение данных ультраструктуры опухоли имеет важное значение для выбора комбинированного лечения.

Б. Е. Полоцкий (заключительное слово докладчика). Результаты лечения зависят от распространенности опухоли, ее гистологической структуры, наличия метастазов в лимфатические узлы. Задачи данного исследования — углубление в биологию раковой клетки. Выявлен прогностический признак — наличие "ТК". Опухоли, в которых много ТК, прогностически неблагоприятны. Как использовать эти данные на практике пока еще не ясно, но понятно, что получена интересная информация.

А. П. Кузьмичев (заключительное слово председателя). В докладе представлены новые данные, полученные при изучении немелкоклеточного рака легкого. Со временем, возможно, будет разработан метод индивидуального лечения больных в зависимости от ультраструктуры опухоли. Доклад интересный и полезный.

2. Ю. В. Бирюков, А. А. Еременко, А. В. Юрасов (НЦХ РАМН). Оценка риска развития эмпиемы плевры у больных раком легкого после пневмонэктомии.

Эмпиема плевры является одним из наиболее опасных осложнений у больных, перенесших пневмонэктомию. Возможности ее предупреждения определяются своевременностью выявления больных с повышенным риском развития данного осложнения. Целью исследования была разработка методов оценки степени риска развития эмпиемы плевры у больных раком легкого после пневмонэктомии. Для этого были изучены факторы риска развития осложнения и на их основе разработана компьютеризированная система определения на дооперационном, интраоперационном и послеоперационном эта-

пах лечения вероятности развития послеоперационной эмпиемы плевры и бронхиального свища. Исследование проводилось на основании ретроспективного изучения историй болезни 163 больных, которым в 1979—1991 гг. в НЦХ РАМН была выполнена пневмонэктомия по поводу рака легкого, в том числе 82 больных с эмпиемой плевры, включая 57 больных с бронхиальным свищем. В результате выделено 13 основных факторов риска развития эмпиемы плевры. В их число вошли признаки, отражающие исходное состояние больного, развитие основного заболевания, продолжительность и детали операции, особенности раннего послеоперационного периода. Оценка информативности выделенных факторов показала, что ни один из них не имеет самостоятельного значения для прогнозирования исхода лечения. Поэтому для комплексного анализа выделенных факторов использован метод многовариантного математического анализа Байеса. На его основе разработана компьютеризированная система определения вероятности развития эмпиемы плевры после пневмонэктомии при раке легкого. Оценка эффективности применения системы на дооперационном, интраоперационном и послеоперационном этапах лечения показала, что при вероятности осложнения меньше 10% послеоперационный период протекает без осложнений более чем в 86,7% случаев. При вероятности развития эмпиемы больше 50% эмпиема плевры возникает более чем в 90,9% случаев. Возможность последовательного определения вероятности развития послеоперационной эмпиемы на различных этапах лечения позволяет выявить основные причины ее развития у конкретного больного и патогенетически обосновать выбор профилактических мероприятий в процессе лечения. Выявлены также два фактора риска возникновения бронхиального свища после пневмонэктомии: выраженность перегрузки миокарда и выполнение пневмолитиза, особенно тотального. Доказано, что при одинаковой местной распространенности опухолевого процесса перегрузка правых отделов сердца косвенно отражает степень дегенеративных изменений тканей бронха, связанных с хроническими неспецифическими заболеваниями легких. Информативность указанных факторов риска в возникновении бронхиального свища после пневмонэктомии невелика. Тем не менее сочетание высокой вероятности развития эмпиемы плевры с признаками значительной перегрузки правых отделов сердца и необходимостью тотального пневмолитиза резко повышает риск возникновения бронхиального свища после пневмонэктомии.

Ответы на вопросы

Достоверной разницы в частоте возникновения эмпием при различных способах обработки культи не выявлено. Анализ материала проведен за 13 лет. Бронхиальные свищи возникли у 12% больных. Торакальные свищи развивались в основном в первые 3 нед. после операции. Эмпиема без свища возникала, вероятнее всего, в результате инфицирования при пневмолитизе или вследствие загрязнения из культи бронха.

Основные причины развития эмпиемы и бронхиальных свищей — нарушение кровоснабжения бронха и инфекция.

Использовали следующие виды профилактики: антибактериальную терапию, промывание и ультразвуковую обработку плевральной полости.

Прения

А. И. Пирогов. В Институте им. П. А. Герцена и Онкологическом научном центре РАМН частота эмпием плевры значительно меньше. Большое значение для возникновения свища имеет способ обработки культи бронха. Имеют значение также инфицирование плевральной полости, хирургическая техника, кровоснабжение культи, дренирование плевральной полости (дренаж со временем становится источником инфекции). Играет роль свернувшийся гемоторакс.

Тема доклада очень важна и актуальна, так как освещает возможности профилактики эмпием плевры.

Ю. В. Бирюков (заключительное слово докладчика). Тема актуальна. На основании объективного анализа выявлена частота эмпием после пневмонэктомии, составившая 20%. Это реальная цифра. В материал включены больные с расширенными и комбинированными операциями, у которых очень высок риск развития осложнений. Разработанная программа позволяет выбирать индивидуальный путь профилактики развития эмпием и бронхиального свища.

А. П. Кузьмичев (заключительное слово председателя). Проблема очень сложная и актуальная и останется таковой еще очень длительное время. Данная работа намечает пути профилактики этих осложнений. Полезно опубликовать полученные данные. Целесообразно использовать возможности торакоскопии для удаления сгустков при свернушемся гемотораксе с целью профилактики развития эмпиемы.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛЕ "ПУЛЬМОНОЛОГИЯ" В 1994 г.

Передовые статьи

- Капранов Н.И. Современные проблемы и достижения в области изучения муковисцидоза в России. 3, 6
Клячкин Л.М. Реабилитация в пульмонологии. 1, 6
Стулбарг М.С. см. Феннелли К.П.
Феннелли К.П., Стулбарг М.С. Хронический бронхит. 2, 6
Яздовский В.В. HLA и аллергические заболевания. 4, 6

Оригинальные исследования

- Аваков А.А. см. Калинина Е.П.
Агафонов В.Е. см. Гervазиева В.Б.
Агафонов Ю.В. см. Зашихин А.Л.
Алексеева Р.С. см. Нестеровский Я.И.
Алиева К.М. см. Татарский А.Р.
Амоаший Г.С. см. Борисенко Л.В.
Амосов В.И. см. Борисенко Л.В.
Андреева И.И., Саперов В.Н., Остроносорова Н.С. Эффективность лазеропунктуры на поликлиническом этапе реабилитации больных хроническим обструктивным бронхитом. 1, 32
Базилевич Н.В. см. Новиков Ю.К.
Балаболкин И.И., Ширяева И.С., Реутова В.С., Рылеева И.В., Намазова Л.С., Герасимова Ю.В., Юсупов Г.А. Эффективность беродуала у детей с бронхиальной астмой. 2, 39
Беленков Ю.Н. см. Савченко А.П.
Белоногов М.А. см. Новожинов В.Г.
Бельских А.Н., Гуревич К.Я., Костюченко А.Л., Лищенко В.В., Пасхина М.Н., Ващенко В.И., Липидус А.В., Бойцова М.Ю., Петренко Г.И., Тулупов А.Н. Системная и регионарная экстракорпоральная иммунокоррекция при гнойных заболеваниях легких. 2, 59
Бичев А.А. см. Пашкова Т.Л.
Бобков Е.В. см. Татарский А.Р.
Бобков Е.В. см. Татарский А.Р.
Бойцова М.Ю. см. Бельских А.Н.
Бокелавадзе К.Р. см. Хаитов Р.М.
Болевич С. см. Даниляк И.Г.
Болевич Са. см. Даниляк И.Г.
Борисенко Л.В., Смирнова Т.Г., Амосов В.И., Амоаший Г.С. Клинико-функциональная эффективность резистивной тренировки дыхательной мускулатуры в реабилитации больных преастмой и бронхиальной астмой. 1, 48
Бражник В.А. см. Сахарова Г.М.
Бузуртанов В.И. см. Провоторов В.М.
Булатова Н.Ю. см. Колычев А.П.
Васильева И.И., Чучалин А.Г. Новые аспекты лечения атопической бронхиальной астмы с применением воздухоочистительных аппаратов "АЭР-О-МЕД 150". 1, 65
Васильева Ф.Р. см. Вахидова Г.А.
Вахидова Г.А., Мельстер Э.Ш., Васильева Ф.Р., Мухамеджанова Х.А., Убайдуллаев А.М. Эффективность иммунокорригирующей терапии у больных с заболеваниями органов дыхания с наличием в крови хлорорганических соединений. 4, 45
Ващенко В.И. см. Бельских А.Н.
Волков И.К., Рачинский С.В., Романова Л.К., Куликова Г.В., Орлова О.И. Клинико-цитологические параллели при хронических неспецифических заболеваниях легких у детей. 1, 59
Волкова Л.И. см. Штейнгардт Ю.Н.
Гайдашев Э.А., Новиков В.Н. Объективные критерии диагностики врожденных пороков развития бронхолегочной системы у детей. 3, 51
Гвоздева Э.А. см. Сахарова Г.М.
Герасимова Ю.В. см. Балаболкин И.И.
Гervазиева В.Б., Петрова Т.И., Агафонов В.Е. Эффективность специфической иммунотерапии у детей с заболеваниями респираторного тракта, обусловленными клещевой сенсibilизацией. 4, 26
Гervазиева В.Б. см. Желтикова Т.М.
Грачева Н.М. см. Калинина Е.П.
Григорьянц Р.А. см. Савченко А.П.
Гуревич К.Я. см. Бельских А.Н.
Гуцин И.С. см. Хаитов Р.М.

- Даниляк И.Г., Коган А.Х., Болевич С., Стремоухов А.А., Болевич Са. О влиянии тромбоцитов на генерацию активных форм кислорода лейкоцитами крови, перекисное окисление липидов и антиперекисную активность у больных бронхиальной астмой. 2, 43
Данияров Б.С. см. Савченко А.П.
Дуганов В.К. см. Яковлев В.Н.
Желтикова Т.М., Овсянникова И.Г., Gervазиева В.Б. Сравнительное изучение популяций клещей домашней пыли (Acari-formes: Pyroglyphidae) и экспозиции клещевых аллергенов (Der I, Der II) в квартирах больных с атопией. 4, 19
Жербина Л.А. см. Исаков В.А.
Журавлева Н.Е., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Червинская Т.А. Влияние специфической гипосенсибилизации на количественное содержание популяций и субпопуляций лимфоцитов у больных атопической формой бронхиальной астмы. 4, 54
Зашихин А.Л., Агафонов Ю.В. Динамика популяции мышечных клеток воздухоносных путей при изменении функциональной нагрузки легких. 3, 76
Зильбер Н.А. см. Клемент Р.Ф.
Зонис Я.М. Курортное лечение в комплексе реабилитационных мероприятий больных бронхиальной астмой. 1, 25
Ивичик Т.В. см. Мхеидзе М.О.
Исаков В.А., Цыбалова Л.М., Жербина Л.А., Шаманова М.Г., Чепик Е.Б. Генетические маркеры крови у больных гриппом и ОРЗ, осложненных пневмониями. 3, 54
Казанбиев Н.К. Диагностические критерии легочно-сердечной недостаточности и ее обратимость при лечении. 4, 63
Казачков Е.Л., Коваленко В.Л. Содержание и распределение гликопротеинов в эпителиоцитах бронхов при хроническом бронхите. (Лектиногистохимическое исследование). 2, 67
Калинина Е.П., Колганова Н.А., Фурман И.Е., Грачева Н.М., Щербаков И.Т., Аваков А.А., Соловьева А.И. О сочетанном поражении слизистых оболочек бронхов и желудочно-кишечного тракта при атопическом синдроме и крапивнице. 4, 37
Карзилов А.И. Оценка влияния электростимуляции диафрагмы на восприятие дыхания у больных и здоровых. 1, 42
Кириллов М.М., Шашина М.М. Функциональное состояние почек у больных гнойными заболеваниями легких. 2, 71
Клемент Р.Ф., Зильбер Н.А. Методологические особенности показателей кривой поток-объем у лиц моложе 18 лет. 2, 17
Клячкин Л.М. см. Яковлев В.Н.
Коваленко В.Л. см. Казачков Е.Л.
Коган А.Х. см. Даниляк И.Г.
Кокосов А.Н. Проблема реабилитации больных нетуберкулезными заболеваниями легких: перспективные направления и некоторые итоги. 1, 13
Кокосов А.Н. см. Мхеидзе М.О.
Кокосов А.Н. см. Осинин С.Г.
Колганова Н.А. см. Калинина Е.П.
Коломоев Н.М. см. Новожинов В.Г.
Колычев А.П., Минеев В.Н., Булатова Н.Ю., Федосеев Г.Б. Особенности инсулин-рецепторных взаимодействий при бронхиальной астме. 2, 48
Костюченко А.Л. см. Бельских А.Н.
Кузнецов П.О. см. Шакалите Ю.Д.
Кузьмина С.Ю. см. Мирошниченко И.И.
Куликова Г.В. см. Волков И.К.
Липидус А.В. см. Бельских А.Н.
Лебедин Ю.С. см. Татарский А.Р.
Лешукович Ю.В. Типовая эпидемиологическая характеристика основных форм хронических неспецифических заболеваний легких у взрослых. 3, 57
Лищенко В.В. см. Бельских А.Н.
Ловженко А.С. см. Шакалите Ю.Д.
Ляшенко Н.И., Усенко Ю.Д., Хвастухин М.Ю., Чайковский И.А. Применение спектрального анализа ЭКГ к проблеме диагностики гипертрофии правого предсердия при ХНЗЛ. 3, 65
Мхеидзе М.О., Ивичик Т.В., Кокосов А.Н., Фридлянд А.К. Генетические маркеры и болезни органов дыхания. 3, 42
Макаревич А.Э. Иммунологические и коагулогические сопоставления у больных хроническим бронхитом. 4, 50
Макаров В.М. Распространенность хронического бронхита, бронхиальной астмы в климато-географических условиях Якутии. 3, 62
Макаров В.М. Заболеваемость, распространенность болезней органов дыхания в республике Саха (Якутия) по обращаемости за 1988—1992 гг. 2, 75

- Макрецькая О.Н. см. Сахарова Г.М.
 Маньков Ю.У. см. Яковлев В.Н.
 Мельстер Э.Ш. см. Вахидова Г.А.
 Маркелов Ю.М., Ремизов Ю.Б. Легочная гипертензия и регионарные функции легких у больных бронхиальной астмой. 3, 69
 Минеев В.Н. см. Колычев А.П.
 Мирошниченко И.И., Титова Е.В., Цой А.Н., Кузьмина С.Ю., Скачилова С.Я. Фармакокинетика β -адреномиметика пролонгированного действия сальбута после однократного приема. 2, 29
 Михалева Л.М. см. Пашкова Т.Л.
 Молостова Т.Н. Эффективность применения Пульмикорт-Турбухалер в лечении больных бронхиальной астмой. 2, 32
 Мухамеджанова Х.А. см. Вахидова Г.А.
 Намазова Л.С. см. Балаболкин И.И.
 Наумов В.Г. см. Савченко А.П.
 Некрасов А.В. см. Хаитов Р.М.
 Нестеровский Я.И., Алексеева Р.С. Экологические аспекты болезней органов дыхания в промышленной области. 2, 14
 Новиков В.Н. см. Гайдашев Э.А.
 Новиков Ю.К., Базилевич Н.В. Некоторые особенности функциональной активности β -адренергических рецепторов лимфоцитов в различных вариантах иммунного ответа. 4, 42
 Новоженев В.Г., Коломоец Н.М., Белоногов М.А., Попова Н.С. Характер и взаимосвязь изменений перекисного окисления липидов и иммунитета у больных острой пневмонией. 2, 21
 Овсянникова И.Г. см. Желтикова Т.М.
 Орлова О.И. см. Волков И.К.
 Осинин С.Г., Кокосов А.Н. Разгрузочно-диетическая терапия как саногенетический метод в реабилитации больных бронхиальной астмой. 1, 28
 Остроносорова Н.С. см. Андреева И.И.
 Пасхина М.Н. см. Бельских А.Н.
 Пашкова Т.Л., Черняев А.Л., Черняк А.В., Михалева Л.М., Бичев А.А. Динамика сывороточного иммуноглобулина у больных бронхиальной астмой и хроническим бронхитом в процессе лечения. 3, 71
 Петренко Г.И. см. Бельских А.Н.
 Петрова Т.И. см. Гервасиева В.Б.
 Попова Н.С. см. Новоженев В.Г.
 Полсачева О.В. см. Хаитов Р.М.
 Польшнер С.А. см. Червинская Т.А.
 Порошина Ю.А. см. Хаитов Р.М.
 Порядин Г.В. см. Журавлева Н.Е.
 Провоторов В.М., Бузуртанов В.И. Жирнокислотный состав экспирата у больных пневмониями. 2, 52
 Пучкова Н.Г. см. Хаитов Р.М.
 Рачинский С.В. см. Волков И.К.
 Ремизов Ю.Б. см. Маркелов Ю.М.
 Реутова В.С. см. Балаболкин И.И.
 Решетников С.С. см. Серватинский Г.Л.
 Романова Л.К. см. Волков И.К.
 Рылеева И.В. см. Балаболкин И.И.
 Савченко А.П., Данияров Б.С., Самко А.Н., Григорьянц Р.А., Наумов В.Г., Беленков Ю.Н. Соотношение изменений гемодинамики малого круга кровообращения и сократимости желудочков сердца у больных с дилатационной кардиомиопатией. 3, 74
 Салмаси Ж.М. см. Журавлева Н.Е.
 Самильчук Е.И., Чучалин А.Г. Гетерозиготность по мутации $\Delta F508$ гена муковисцидоза среди больных с хронической обструктивной патологией органов дыхания. 3, 47
 Самко А.Н. см. Савченко А.П.
 Саперов В.Н. см. Андреева И.И.
 Сахарова Г.М., Гвоздева Э.А., Бражник В.А., Макрецькая О.Н., Чучалин А.Г. Анализ сродства гемоглобина к кислороду и потребление кислорода тканями. 1, 55
 Семенова Т.А. см. Яковлев В.Н.
 Серватинский Г.Л., Решетников С.С. Механизм отека легких при экспериментальной черепно-мозговой травме. 2, 55
 Сидорова Л.Д. см. Шакалите И.Д.
 Скачилова С.Я. см. Мирошниченко И.И.
 Смирнова Т.Г. см. Борисенко Л.В.
 Соловьева А.И. см. Калинина Е.П.
 Стремоухов А.А. см. Даниляк И.Г.
 Татарский А.Р., Лебедин Ю.С., Бобков Е.В., Эмирова А.С., Чучалин А.Г. Моноклональная анти-IgE-плазмонимносорбция в комплексном лечении больных атопической бронхиальной астмой. 2, 63
 Татарский А.Р., Эмирова А.С., Бобков Е.В., Алиева К.М. Тромбоцитаферез в комплексной терапии больных различными формами бронхиальной астмы. 4, 58
 Титова Е.В. см. Мирошниченко И.И.
 Тулупов А.Н. см. Бельских А.Н.
 Убайдуллаев А.М. см. Вахидова Г.А.
 Усенко Ю.Д. см. Ляшенко Н.И.
 Федосеев Г.Б. см. Колычев А.П.
 Фридлянд А.К. см. Мхеидзе М.О.
 Фурман И.Е. см. Калинина Е.П.
 Хадарцев А.А. Реабилитационные мероприятия как составная часть медицинских технологий. 1, 10
 Хаитов Р.М., Полсачева О.В., Порошина Ю.А., Бокелавадзе К.Р., Некрасов А.В., Гуцин И.С., Пучкова Н.Г., Шустова В.И. Специфическая иммунотерапия поллинозов новым отечественным конъюгированным аллергеном. 4, 31
 Хвастухин М.Ю. см. Ляшенко Н.И.
 Цой А.Н. см. Мирошниченко И.И.
 Цыбалова Л.М. см. Исаков В.А.
 Чайковский И.А. см. Ляшенко Н.И.
 Чепик Е.Б. см. Исаков В.А.
 Червинская Т.А. см. Журавлева Н.Е.
 Червинская Т.А., Польшнер С.А. Специфическая иммунотерапия бактериальными аллергенами ускоренным методом при инфекционно-аллергической бронхиальной астме. 4, 34
 Черняев А.Л. см. Пашкова Т.Л.
 Черняк А.В. см. Пашкова Т.Л.
 Чучалин А.Г. см. Сахарова Г.М.
 Чучалин А.Г. см. Самильчук Е.И.
 Чучалин А.Г. см. Васильева И.И.
 Чучалин А.Г. см. Татарский А.Р.
 Шакалите И.Д., Сидорова Л.Д., Логвиненко А.С., Кузнецов П.О. Активность холестеролэстеразы моноцитов крови и динамика липидных показателей у больных хроническим бронхитом. 2, 26
 Шаманова М.Г. см. Исаков В.А.
 Шашина М.М. см. Кириллов М.М.
 Ширяева И.С. см. Балаболкин И.И.
 Шихнебиев Д.А. Диспансеризация больных, перенесших острую пневмонию с нарушениями функционального состояния бронхов. 1, 38
 Штейнгардт Ю.Н., Волкова Л.И. Сравнительная оценка эффективности первичной и вторичной профилактики легочной гипертензии при хроническом бронхите. 1, 53
 Шустова В.И. см. Хаитов Р.М.
 Шурпик С.Л. см. Яковлев В.Н.
 Щегольков А.М. см. Яковлев В.Н.
 Щербаков И.Т. см. Калинина Е.П.
 Эмирова А.С. см. Татарский А.Р.
 Юсупов Г.А. см. Балаболкин И.И.
 Яковлев В.Н., Клячкин Л.М., Щегольков А.М., Маньков Ю.У., Дуганов В.К., Шурпик С.Л., Семенова Т.А., Ярошенко В.П. Комплексная медицинская реабилитация больных острой пневмонией и место физиотерапии в ней. 1, 19
 Ярошенко В.П. см. Яковлев В.Н.

Лекции

- Бусарова Г.А. см. Воробьев Л.П.
 Воробьев Л.П., Бусарова Г.А. Легочный шунт и пути воздействия на него при некоторых заболеваниях внутренних органов. 1, 69
 Гинтер Е.К., Петрова Н.В. Генетика муковисцидоза. 3, 33
 Гришина Г.О. см. Рославцева Е.А.
 Капранов Н.И. см. Рославцева Е.А.
 Каширская Н.Ю. см. Рославцева Е.А.
 Конфершмитт-Кюблер М.К. см. Поли Г.
 Ладодо К.С. см. Рославцева Е.А.
 Петрова Н.В. см. Гинтер Е.К.
 Поли Г., Солдатов Д.Г., Конфершмитт-Кюблер М.К. Методы диагностики профессиональной бронхиальной астмы, место тестов специфической бронхиальной провокации в диагностическом алгоритме заболевания. 4, 87
 Рославцева Е.А., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., Ладодо К.С., Гришина Г.О. Диетотерапия и заместительная ферментотерапия при муковисцидозе. 3, 37
 Солдатов Д.Г. см. Поли Г.

Заметки из практики

- Агеев А.Т. см. Дворецкий Л.И.
 Аксюк З.Н. см. Дворецкий Л.И.

Белевский А.С. см. Черняев А.Л.
 Воронина Л.М. см. Черняев А.Л.
 Воронина Л.М. см. Чучалин А.Г.
 Дворецкий Л.И., Агеев А.Т., Аксюк З.Н. Рецидивирующий спонтанный пневмоторакс как проявление синдрома Марфана. 3, 88
 Дуганов В.К. см. Синопальников А.И.
 Еловских И.В. см. Коваленко В.Л.
 Казачков Е.Л. см. Коваленко В.Л.
 Коваленко В.Л., Казачков Е.Л., Еловских И.В. Локализованный первичный трахеобронхиальный амилоидоз. 2, 81
 Кронина Л.А. см. Чучалин А.Г.
 Лазарева Я.В. см. Соловьева И.П.
 Лысенко Л.В. см. Овчаренко С.И.
 Мещерякова С.А. см. Овчаренко С.И.
 Новиков Ю.К. см. Черняев А.Л.
 Овчаренко С.И., Рехтина А.Г., Лысенко Л.В., Мещерякова С.А., Приблудный В.И. Случай системного мастоцитоза с бронхоспастическим синдромом. 4, 69
 Приблудный В.И. см. Овчаренко С.И.
 Рехтина А.Г. см. Овчаренко С.И.
 Самсонова М.В. см. Черняев А.Л.
 Симиличук Е.И. см. Чучалин А.Г.
 Синопальников А.И., Тихомиров Е.С., Смирнов И.П., Дуганов В.К., Харланов В.Д. Случай "амиодаронового легкого". 2, 83
 Смирнов И.П. см. Синопальников А.И.
 Соловьева И.П., Угрюмов А.И., Лазарева Я.В. Аденоматозная гамартома легкого. 1, 75
 Тихомиров Е.С. см. Синопальников А.И.
 Угрюмов А.И. см. Соловьева И.П.
 Харланов В.Д. см. Синопальников А.И.
 Черняев А.Л., Воронина Л.М. Клинико-морфологические особенности муковисцидоза взрослого. 3, 85
 Черняев А.Л., Новиков Ю.К., Белевский А.С., Самсонова М.В. Остеохондропластическая трахеобронхопатия. 2, 79
 Чучалин А.Г., Кронина Л.А., Воронина Л.М., Симиличук Е.И. Случай сочетания муковисцидоза с дефицитом α -1-антитрипсина. 3, 82

Обзоры

Александров О.В. см. Виноцкая Р.С.
 Анаев Э.Х., Черняев А.Л., Татарский А.Р., Воронина Л.М. Структурно-функциональная характеристика и роль эозинофилов в патогенезе и лечении бронхиальной астмы. 4, 82
 Бабарсков Е.В. см. Солдатов Д.Г.
 Биличенко Т.Н. Распространенность хронического бронхита и бронхиальной астмы (данные эпидемиологических исследований). 1, 78
 Виноцкая Р.С., Александров О.В., Неклюдова Г.В., Науменко Ж.К. Вопросы физиологического и токсического влияния гипероксии. 1, 83
 Воронина Л.М. см. Анаев Э.Х.

Воронина Л.М. см. Чучалин А.Г.
 Гембицкая Т.Е. см. Желенина Л.А.
 Желенина Л.А., Гембицкая Т.Е. Современные подходы к лечению инфекционного процесса при муковисцидозе (Обзор литературы). 3, 23
 Кронина Л.А. см. Чучалин А.Г.
 Кусякина И.А. см. Солдатов Д.Г.
 Маев И.В., Филиппова Е.В. Функция внешнего дыхания и газовый состав крови при нарушении сердечного ритма и проводимости. 2, 86
 Науменко Ж.К. см. Виноцкая Р.С.
 Неклюдова Г.В. см. Виноцкая Р.С.
 Нугманова Д.С. Специфическая иммунотерапия бронхиальной астмы. 4, 77
 Самсонова М.В. см. Чучалин А.Г.
 Солдатов Д.Г., Кусякина И.А., Бабарсков Е.В. Тесты специфической бронхиальной провокации в диагностике профессиональной астмы. 4, 72
 Татарский А.Р. см. Анаев Э.Х.
 Филиппова Е.В. см. Маев И.В.
 Черняев А.Л. см. Анаев Э.Х.
 Чучалин А.Г., Воронина Л.М., Кронина Л.А., Самсонова М.В. Муковисцидоз у взрослых: этиология, патогенез, перспективы лечения. 3, 17
 Шабалова Л.А. Антимикробная терапия при муковисцидозе у детей. 3, 27
 Шихнебиев Д.А. Гиперчувствительность и гиперреактивность холинэргических рецепторов бронхов и неспецифические заболевания легких. 2, 89

Юбилейные даты

К 70-летию профессора С.М.Гавалова. 1, 87
 Юрий Михайлович Лопухин. К 70-летию со дня рождения. 3, 91

Хроника. Информация

Белевский А.С. см. Булкина Л.С.
 Булкина Л.С., Белевский А.С. Образовательные программы для больных бронхиальной астмой: мировой опыт. 1, 89

Новое о лекарственных препаратах

Соколов А.С. см. Солдатов Д.Г.
 Солдатов Д.Г., Кусякина И.А., Соколов А.С. Новый ингаляционный препарат Биопарокс в лечении воспалительных заболеваний нижних дыхательных путей. 1, 91
 Кусякина И.А. см. Солдатов Д.Г.

Почтовый индекс — 73322

Научный редактор С. К. Соодаева
 Редактор И. В. Яшина
 Корректор И. В. Яшина

Компьютерная верстка А. С. Василейский
 Художественный редактор П. П. Ефремов

Подписано в печать 19.04.95. Формат 84 x 108 1/16. Печать офсет. Усл. печ. л. 8,22.
 Усл. кр.-отт. 16,80. Тираж 1200. Заказ 263.

Всероссийское научное общество пульмонологов
 Отпечатано АО «Рекламфильм».



Беродуал®

ФЕНОТЕРОЛ + ИПРАТРОПИУМ

Беродуал

функциональный синергизм бета-симпатомиметиков и холинолитиков

- немедленный, интенсивный и длительный спазмолитический эффект
- локальное действие без системных побочных эффектов
- отсутствие опасности передозировки ввиду небольшой дозы симпатомиметика
- возможность использования как при купировании приступов, так и при длительной терапии благодаря двойному принципу действия
- улучшение показателей функции внешнего дыхания при длительном лечении

Беродуал

функциональный синергизм бета-симпатомиметиков и холинолитиков

для лечения

- всех форм бронхиальной астмы
- хронического обструктивного бронхита
- эмфизематозного бронхита
- бронхолегочных заболеваний с бронхоспастическим компонентом

Дозировка

Взрослые и дети школьного возраста:

Профилактика, периодическое и длительное лечение: несколько раз в день вдыхать по 1–2 дозы аэрозоля, средняя суточная доза 3 раза по 1–2 дозы аэрозоля.

При приступе удушья 2 дозы аэрозоля, в случае необходимости через 5 минут еще 2 дозы аэрозоля.

Следующую ингаляцию нужно проводить не раньше, чем через 2 часа.

Форма выпуска

Дозированный аэрозоль по 15 мл с мундштуком (300 доз аэрозоля).

**Boehringer
Ingelheim**

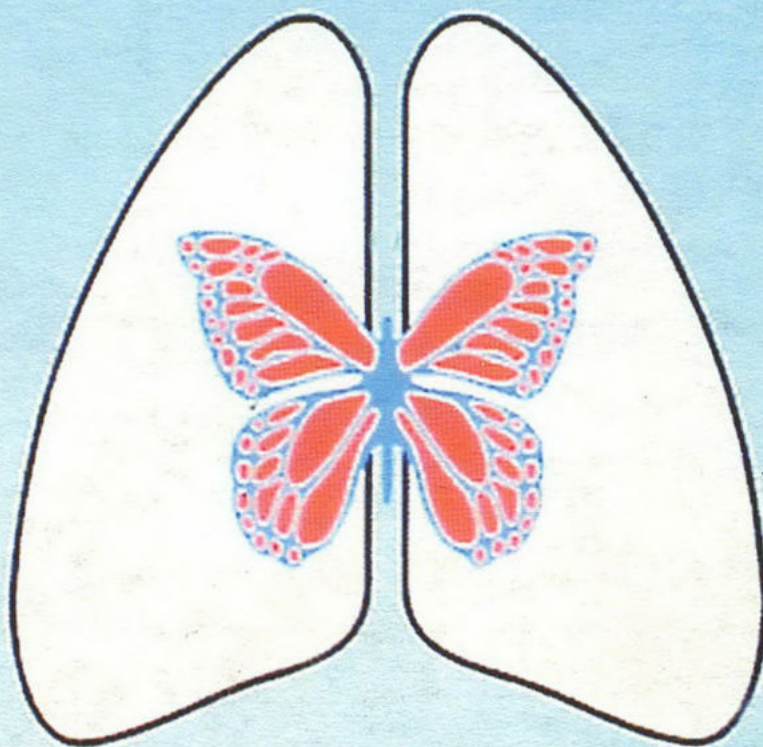


Берингер Ингельхайм Фарма Гез мбХ, Вена
Представительство в Москве: РФ 123007 Москва, Хорошевский проезд, 3
Тел: 941 11 16, 941 29 93. Факс: 941 11 00. Телекс: 413828 бимоссу

Ингакорт®

ФЛУНИЗОЛИД

Высокоэффективный кортикостероид для местной ингаляционной терапии обструктивных заболеваний дыхательных путей



Ингакорт® – хорошая эффективность

- подавляет воспаление слизистой бронхов
- снижает гиперреактивность
- облегчает течение астмы
- значительно снижает частоту приступов

**Boehringer
Ingelheim**



«Берингер Ингельхайм Фарма ГмбХ»
Представительство в Российской Федерации
123007, Москва, 3-й Хорошевский пр., 3/1

Тел.: 941 1116, 941 2993, 941 3521, 941 3697
Телекс: 413828 bimos su
Телефакс: 941 11 00