

ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ХОЛОДОВОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

¹Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, Благовещенск, Россия

²Отдел респираторной медицины второй госпитальной клиники Чунцинского медицинского университета, КНР

РЕЗЮМЕ

Проведено обследование 75 пациентов с бронхиальной астмой. Изучены базовые уровни показателей оксидативного стресса в конденсате выдыхаемого воздуха и сыворотке крови, а также их динамика после проведения бронхопровокационной пробы с холодным воздухом. Установлено, что в сыворотке крови у пациентов с признаками холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП) более высокие показатели оксидативного стресса, чем у пациентов без признаков ХГДП. После холодового воздействия отмечается достоверное повышение H_2O_2 и диеновых конъюгатов в конденсате выдыхаемого воздуха у больных с ХГДП. Установлена прямая корреляционная связь между концентрацией H_2O_2 и выраженностью холодовой гиперреактивности дыхательных путей.

Ключевые слова: бронхиальная астма, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, оксидативный стресс, конденсат выдыхаемого воздуха.

SUMMARY

N.M.Goriachkina, S.D.Zhou, C.Li

SIGNIFICANCE OF OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN BRONCHIAL ASTHMA IN PATIENTS WITH COLD AIRWAY HYPERRESPONSIVENESS

75 patients with bronchial asthma were examined. The basic levels of oxidative stress parameters in the exhaled breath condensate and blood serum as well as their dynamics after bronchial provocation test by cold air were studied. It was established that patients with the signs of cold airway hyperresponsiveness (CAHR) had higher level of oxidative stress parameters in the blood serum than the patients without any signs of CAHR. After cold air hyperventilation there was a significant increase of H_2O_2 and diene conjugates in exhaled breath condensate in the patients with CAHR. The direct correlation between H_2O_2 concentration in exhaled breath condensate and cold airway hyperresponsiveness intensity was found out.

Key words: bronchial asthma, cold airway hyperresponsiveness, oxidative stress, exhaled breath condensate.

В последние годы во всем мире, в том числе и в России, прогрессивно увеличивается число больных, страдающих бронхиальной астмой (БА). Кардинальным клиническим признаком этого заболевания яв-

ляется гиперреактивность дыхательных путей. Механизмы формирования неспецифической и специфической гиперреактивности дыхательных путей гетерогенны и еще мало изучены, однако известно, что одним из факторов служит нарушение защитных механизмов слизистой оболочки бронхов: увеличение количества и вязкости бронхиального секрета, потеря эпителиальными клетками ресничек, метаплазия эпителия, снижение бактерицидных свойств слизи и активности ингибиторов протеаз [3].

Клинические и экспериментальные данные последних лет убедительно свидетельствуют, что хроническое воспаление дыхательных путей и оксидативный стресс играют ключевую роль в патогенезе развития и прогрессирования БА и других заболеваний респираторного тракта [1]. Различные поллютанты, аллергены и микроорганизмы вызывают активацию эозинофилов, нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов, продуцирующих при этом значительные количества активных форм кислорода, которые запускают процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [8]. Развитие окислительного стресса и деструктивное воздействие свободнорадикального окисления может являться важной причиной хронизации патологического процесса в легких: окислительный стресс поддерживает воспаление у больных БА посредством усиления радикальных окислительных процессов в легочной ткани, интенсификации ПОЛ в сыворотке крови и снижения антиокислительной активности [6]. Оксидативный стресс также может индуцировать гиперреактивность дыхательных путей, повышать секрецию слизи.

Активация окислительных процессов в тканях в ответ на действие на организм низких температур, составляя важнейшее звено биохимической терморегуляции, может включать интенсификацию не только реакций окисления субстратов дыхания в дыхательной цепи митохондрий, но и реакций свободнорадикального окисления. При длительном холодовом воздействии на организм увеличивается накопление в крови продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, гидроперекиси липидов). Изменения в легочной ткани также характеризуются увеличением продуктов ПОЛ и снижением активности каталазы и витамина Е в значительно большей степени, чем в печени и сердечной мышце. Данные изменения вполне понятны, так как из всех органов именно легкие подвержены непосредственному воздействию холодного воздуха [2].

В современном представлении так называемый феномен холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП) довольно часто (в 60-70% случаев) регистрируется у больных БА, включая и легкие формы заболевания. Синдром холодового бронхоспазма имеет довольно сложный патогенетический механизм формирования и развития бронхиальной обструкции под влиянием эндо- и экзогенных факторов [5]. Малоизучена роль оксидативного стресса в формировании ХГДП. Отсутствуют данные о роли активных форм кислорода в процессе реализации холодовой бронхоконстрикции.

Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния оксидативного стресса на формирование ХГДП.

Материалы и методы исследования

Обследовано 75 больных с фармакотерапевтически неконтролируемой БА, из них 60 пациентов с легким и 15 – со среднетяжелым течением заболевания. Группу 1 составили 35 больных с ХГДП (средний возраст обследуемых $36,5 \pm 2,5$ лет, рост $168 \pm 1,3$ см, вес $75,8 \pm 3,3$ кг), группу 2 составили 40 пациентов без признаков ХГДП (средний возраст обследуемых $36,8 \pm 1,7$ лет, рост $171 \pm 1,5$ см, вес $80,35 \pm 2,8$ кг). Различий между группами по антропометрическим данным не выявлено.

Вентиляционную функцию легких оценивали по данным спирометрического исследования на аппарате «Флоускрин» (Erich Jaeger, Германия). Бронхопровокационный тест выполняли методом изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (ИГХВ) в течение 3 минут охлажденной до -20°C воздушной смесью, содержащей 5% CO_2 . Функция легких исследовалась до и после холодовой бронхопровокации на 1 и 5 минутах восстановительного периода [4].

Сбор конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) проводили с помощью аппарата «ECoScreen II» (Erich Jaeger, Германия), снабженного клапанной системой, которая позволяет осуществлять вдох из окружающей атмосферы, а выдох – в устройство с конденсатором паров выдыхаемого воздуха, т.е. клапан не позволяет смешиваться выдыхаемому и вдыхаемому воздуху. Двухсторонний клапан используется также как уловитель слюны. Метод основывается на так называемом принципе противотока. Вещества охлаждаются приблизительно до -20°C . В день исследования исключались курение, прием лекарственных препаратов, а именно симпатомиметиков, блокаторов М-холинорецепторов, комбинированных препаратов, нитратов, ингаляционных глюкокортикостероидов. Сбор КВВ проводился в положении сидя, в утренние часы после двукратного ополаскивания ротовой полости водой, в течение 20 минут при спокойном дыхании обследуемого, до и после 3-минутной изокапнической гипервентиляции холодным воздухом. Забор венозной крови производился также до и после 3-минутной ИГХВ в сухую чистую пробирку в количестве 5 мл.

Содержание пероксида водорода в КВВ определяли электрохимическим методом с помощью биоанализа-

тора «БИО 3» (Практик НЦ, Россия). В качестве сенсора использовали электроды на основе берлинской лазури, которая является высокоэффективным электрокатализатором восстановления пероксида водорода. Диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены и сопряженные триены в КВВ определяли в хлороформной фазе липидного экстракта. В крови определяли показатели продуктов ПОЛ и ферменты антиокислительной защиты по общепринятым методикам. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли в цельной крови по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой. Количество гидроперекисей липидов (ГЛ) определяли на основе их способности окислять ионы Fe^{2+} с последующей реакцией на Fe^{3+} с тиоцианатом аммония. Величину гидроперекисей выражали в нмоль на мл крови. Содержание витамина Е определяли в липидных экстрактах из крови по цветной реакции с дипиридилем и FeCl_3 .

Статистический анализ полученных данных выполнялся с помощью стандартных методов вариационной статистики. Уровень значимости различий определялся посредством парного и непарного критериев Стьюдента (t). Значимость результатов корреляционного анализа определяли по критерию Фишера.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ параметров функции внешнего дыхания показал достоверные различия в группах больных (табл. 1). Больные с ХГДП исходно имели более низкие значения параметров бронхиальной проходимости. При проведении холодовой бронхопровокационной пробы среднее падение ОФВ_1 в 1 группе составило $16,6 \pm 1,7\%$, во 2 группе только $3,8 \pm 0,5\%$ ($p < 0,001$).

В результате проведенных исследований установлено, что базовый уровень показателей оксидативного стресса в КВВ не имел существенных различий в 1 и 2 группах (рис. 1). Однако концентрация МДА, ДК и ГЛ сыворотки крови в 1 группе достоверно превышала содержание указанных продуктов ПОЛ во 2 группе и показатели составляли $5,32 \pm 0,34$ и $4,15 \pm 0,45$ нмоль/мл ($p < 0,05$); $27,02 \pm 3,0$ и $18,6 \pm 2,4$ нмоль/мл ($p < 0,05$); $21,2 \pm 2,2$ и $13,2 \pm 3,4$ нмоль/мл ($p < 0,05$), соответственно. Уровень витамина Е был более высоким во 2 группе по сравнению с 1 группой и составил $34,3 \pm 2,3$ и $26,8 \pm 1,4$ мкг/мл, соответственно, $p < 0,01$ (рис. 2).

После пробы ИГХВ у пациентов повторно проводился забор КВВ и венозной крови. После холодовой бронхопровокации уровень H_2O_2 в КВВ больных в 1 группе вырос в среднем на 28,3%, а среднее его значение составило $1,36 \pm 0,08$ нмоль/мл ($p < 0,05$), во 2 группе прирост составил лишь 10%, а среднее значение статистически недостоверно выросло до $1,21 \pm 0,08$ нмоль/мл ($p > 0,05$).

Установлена реакция ДК на холодовое воздействие, характеризующаяся приростом показателей. Так, в 1 группе уровень ДК составил $0,56 \pm 0,02 \text{ E}_{233/\text{мл}}$ (+12%), а во 2 группе среднее значение концентрации

ДК достигло $0,5 \pm 0,02 E_{233/мл}$ (+8,6%). Нами установлена прямая корреляционная связь между концентрацией H_2O_2 и выраженностью холодового бронхоспазма ($r=0,63$; $p<0,05$).

Показатели оксидативного стресса в сыворотке

крови после воздействия холодным воздухом также подверглись изменению. Отмечался прирост диеновых конъюгатов, гидроперекисей липидов, малонового диальдегида и уменьшение эндогенного витамина Е, как показателя антиоксидантной защиты (рис. 2).

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей вентиляционной функции легких ($M \pm m$)

Показатели	1 группа	2 группа	p
ФЖЕЛ, % долж.	$102,9 \pm 3,2$	$108,6 \pm 2,2$	$>0,05$
ОФВ ₁ , % долж.	$85,3 \pm 3,3$	$97,17 \pm 2,3$	$<0,01$
ИТ, % долж.	$82,4 \pm 1,9$	$90,3 \pm 1,4$	$<0,01$
МОС ₅₀ , % долж.	$53,5 \pm 3,7$	$73,1 \pm 3,9$	$<0,001$
МОС ₇₅ , % долж.	$45,5 \pm 3,4$	$61,5 \pm 3,2$	$<0,01$
МОС ₂₅ , % долж.	$47,6 \pm 6,1$	$71,8 \pm 4,9$	$<0,01$
Δ ФЖЕЛ, %	$-8,8 \pm 1,7$	$-3,3 \pm 0,6$	$<0,01$
Δ ОФВ ₁ , %	$-16,6 \pm 1,7$	$-3,8 \pm 0,5$	$<0,001$
Δ ПОС, %	$-13,5 \pm 3,2$	$-4,9 \pm 6,6$	$<0,001$
Δ МОС ₅₀ , %	$-23,5 \pm 5,4$	$-5,3 \pm 1,6$	$<0,001$
Δ МОС ₇₅ , %	$-9,8 \pm 11,6$	$-1,5 \pm 3,4$	$>0,05$
Δ МОС ₂₅ , %	$-18,0 \pm 5,9$	$-4,8 \pm 1,7$	$<0,05$

Примечание: p – достоверность различий между 1 и 2 группами.

Известно, что H_2O_2 является активной формой кислорода и инициатором окисления [7]. С целью оценки состояния ПОЛ в клинике и эксперименте чаще всего определяются показатели промежуточных и вторичных продуктов свободнорадикального окисления: ДК, ГЛ, МДА в крови, клеточных мембранах и тканях. О состоянии антиокислительной защиты организма судят по активности ряда ферментов и по уровню эндогенного токоферола. Окислительно-восстановительный дисбаланс на уровне отдельных органов и организма в целом, обусловленный чрезмерной активацией процессов ПОЛ и нарушениями в системе антиоксидантной защиты клетки, в настоящее время

рассматривается как один из основных патохимических механизмов воспаления, в том числе и аллергического [1].

Таким образом, полученные нами данные могут свидетельствовать о том, что у больных БА с ХГДП имеет место высокий уровень оксидативного стресса, что проявляется повышенной концентрацией пероксида водорода в КВВ после холодовой бронхопровокационной пробы. Недостаточность антиоксидантной защиты может служить важным фактором формирования чрезмерной бронхоконстрикторной реакции на вдыхание холодного воздуха.

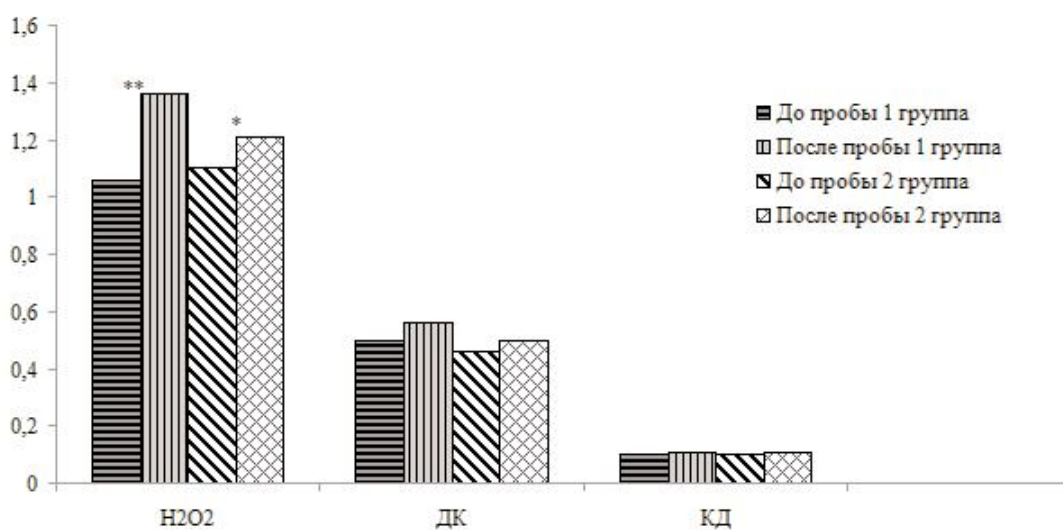


Рис 1. Динамика показателей оксидативного стресса в КВВ после пробы ИГХВ.

Примечание: H_2O_2 – пероксид водорода (нмоль/мл), ДК – диеновые конъюгаты ($E_{233/мл}$), КД – кетодиены и сопряженные триены ($E_{278/мл}$); * – $p<0,05$, ** – $p<0,01$ – уровень значимости различий показателей до и после пробы ИГХВ.

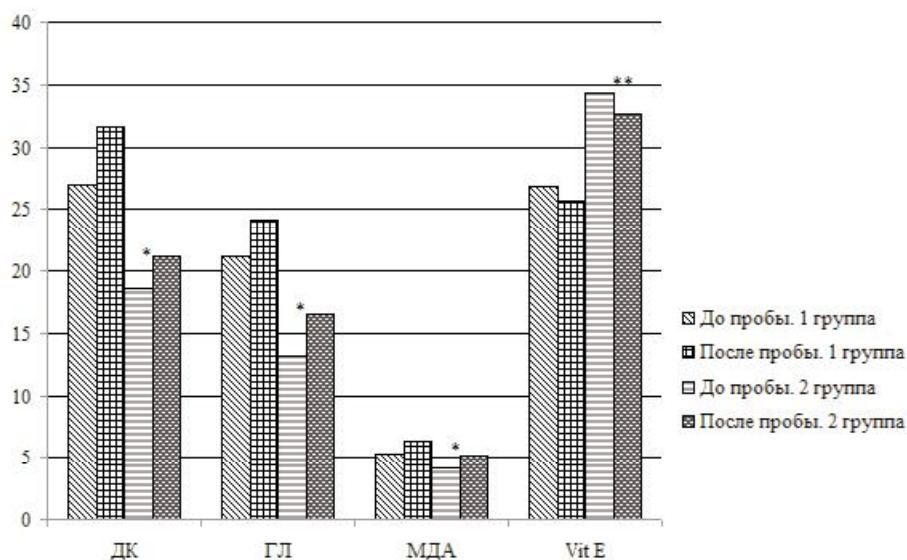


Рис 2. Динамика показателей оксидативного стресса в сыворотке крови после пробы ИГХВ.

Примечание: ДК – диеновые конъюгаты (нмоль/мл), ГЛ – гидроперекиси липидов (нмоль/мл), МДА – малоновый диальдегид (нмоль/мл), Vit E – витамин E (мкг/мл). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ – уровень значимости различий показателей до и после пробы ИГХВ.

Выводы

1. У больных БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей отмечается повышенная концентрация диеновых конъюгатов, гидроперекисей липидов, малонового диальдегида и низкое содержание эндогенного витамина E в сыворотке крови.

2. Холодовое воздействие влияет на активность процессов перекисного окисления липидов, увеличивая концентрацию H_2O_2 и диеновых конъюгатов в КВВ. При этом имеется прямая корреляционная связь между концентрацией H_2O_2 и выраженностью холодового бронхоспазма.

3. Оксидативный стресс можно рассматривать как одну из важных составляющих механизма формирования холодовой гиперреактивности дыхательных путей.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №10-04-91160).

ЛИТЕРАТУРА

1. Болевич С.С. Бронхиальная астма и свободнорадикальные процессы. Патогенетические, клинические и терапевтические аспекты. М.: Медицина, 2006. 253 с.

2. Доровских В.А., Целуйко С.С., Бородин Е.А. Антиоксиданты в профилактике и коррекции холодового

стресса. Благовещенск: АГМА, 2001. 183 с.

3. Ермакова Е.В., Перельман Ю.М. Особенности пространственной организации биоэлектрической активности головного мозга у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2008. Вып.29. С.22–24.

4. Перельман Ю.М., Приходько А.Г. Методика комбинированной диагностики нарушений кондиционирующей функции и холодовой гиперреактивности дыхательных путей // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2002. Вып.12. С.22–28.

5. Пирогов А.Б., Семиреч Ю.О. Достижение контроля над бронхиальной астмой у больных с холодовой гиперреактивностью бронхов // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2009. Вып.33. С.27–29.

6. Соодаева С.К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания // Пульмонология. 2006. №5. С.122–126.

7. Федосеев Г.Б. Механизмы обструкции бронхов. СПб., 1995. 333 с.

8. Wood L.G., Gibson P.G., Garg M.L. Biomarkers of lipid peroxidation, airway inflammation and asthma // Eur. Respir. J. 2003. Vol.21. P.177–186.

Поступила 07.12.10

Нелли Михайловна Горячкина, аспирант,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22;
Nelly M. Goriachkina,
22 Kalinin Str., Blagoveshensk, 675000;
E-mail: cfpd@amur.ru