

*А.В.Емельянов, О.И.Краснощечкова, Абудуэйни Абулимити, К.А.Рудинский,
Т.М.Синицина, О.В.Лаврова*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Кафедра госпитальной терапии НИИ пульмонологии Санкт-Петербургского
государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова

USE OF EXHALED HYDROGEN PEROXIDE FOR ASTHMA MONITORING

*A.V.Yemelyanov, O.I.Krasnoschekova, Abuduani Abulimity, K.A.Rudinsky,
T.M.Sinitsina, O.V.Lavrova*

Summary

Exhaled hydrogen peroxide is a marker of airway inflammation. However, its utility for monitoring of asthma is still uncertain. The aim of this study was to assess the effect of short-acting β_2 -agonists and inhaled steroids on the hydrogen peroxide (H_2O_2) concentration in expired breath condensate in asthmatic patients. Fifteen patients with moderate atopic asthma were treated with salbutamol as required for 2 weeks followed 12-week treatment with budesonide (Pulmicort Turbuhaler, 400 mcg daily). The exhaled H_2O_2 concentration as measured using a colorimetric assay (Gallati&Pracht, 1985). FEV_1 was assessed using dry spirometer. Airway hyperresponsiveness was considered as a provocative concentration of inhaled histamine causing the 20%-fall in FEV_1 (PD_{20}).

The H_2O_2 baseline level in the asthmatic patients ($0.19 \pm 0.03 \mu M$) was elevated compared to healthy subjects (0.028 ± 0.003 , $p < 0.001$). The exhaled H_2O_2 concentration did not change during the treatment with salbutamol but it was diminished by Pulmicort Turbuhaler. This was associated with significant improvement in clinical symptom score, FEV_1 and PD_{20} in asthma patients.

We conclude that the short-acting β_2 -agonists do not influence the H_2O_2 concentration in the exhaled air condensate of the asthma patients but the inhaled steroids decrease it. This may reflect different anti-inflammatory activities of these medications.

Резюме

Целью настоящей работы явилось изучение влияния β_2 -агонистов и ингаляционных стероидов (ИГКС) на концентрацию пероксида водорода (H_2O_2) в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) у больных бронхиальной астмой (БА). Под наблюдением находилось 15 больных атопической БА средней тяжести течения, которые в течение 2 нед получали сальбутамол в режиме "по требованию", а затем в течение 12 нед получали будесонид (пульмикорт турбухалер в дозе 400 мкг/сут). Концентрацию H_2O_2 в КВВ изучали спектрофотометрическим методом ("Gallati&Pracht", 1985). Бронхиальную проходимость (ОФВ₁) изучали методом спирометрии. Для оценки гиперреактивности бронхов (PD_{20}) использовали бронхопровокационный тест с гистамином.

Уровень H_2O_2 в процессе лечения сальбутамолом ($0,19 \pm 0,03$ мкМ) существенно не изменялся по сравнению с исходным ($0,19 \pm 0,04$ мкМ), а при назначении будесонида достоверно снижался ($0,038 \pm 0,005$). Изменение H_2O_2 происходило параллельно с улучшением клинического состояния больных, увеличением ОФВ₁ и снижением PD_{20} .

Таким образом, β_2 -агонисты не влияют, а ИГКС снижают концентрацию H_2O_2 в КВВ у больных БА, что, вероятно, отражает их различное влияние на активность воспалительного процесса. Это подтверждает возможность использования H_2O_2 в качестве маркера воспаления в дыхательных путях у пациентов с астмой.

Бронхиальная астма (БА) является хроническим воспалительным заболеванием дыхательных путей [7]. Клетки, принимающие участие в развитии воспаления (эозинофилы, макрофаги, нейтрофилы), продуцируют активные формы кислорода, в том числе и пероксид водорода (H_2O_2). Повышение концентрации

H_2O_2 в дыхательных путях приводит к увеличению его уровня в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ). Установлено, что H_2O_2 может быть использован в качестве биохимического маркера воспалительного процесса у больных астмой. Его уровень в КВВ коррелирует с содержанием эозинофилов в индуцированной

мокроте, гиперреактивностью бронхов к гистамину и метахолину, концентрацией эозинофильного катионного протеина сыворотки крови у пациентов с БА [1,2,8]. Вместе с тем динамика H_2O_2 у больных БА в процессе лечения изучена пока недостаточно.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния β_2 -адреномиметиков короткого действия и ингаляционных глюкокортикоидов на концентрацию H_2O_2 в КВВ у больных астмой.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 15 некурящих больных (6 мужчин и 9 женщин) с atopической БА средней тяжести в возрасте от 27 до 65 лет (средний возраст 45 лет). Длительность болезни составляла от 3 мес до 31 года. Диагностику астмы осуществляли на основании критериев, предложенных международными согласительными документами [7], и классификации А.Д.Адо и П.К.Булатова (1969), дополненной Г.Б.Федосеевым (1984). Пациентов обследовали в фазе затихающего обострения основного заболевания.

Пациенты, курившие в прошлом, перенесшие острые респираторные заболевания верхних дыхательных путей в течение 4 нед, а также имевшие обострение аллергического ринита, из исследования исключались.

Первые 2 нед больные получали только сальбутамол в режиме "по требованию", а затем в течение 12 нед — будесонид (пульмикорт турбухалер, фирмы "AstraZeneca") в дозе 400 мкг/сут и сальбутамол в режиме "по требованию". В процессе лечения пациенты вели дневники самонаблюдения, где отмечали количество приступов затрудненного дыхания, частоту использования и дозы лекарственных средств, показатели пикфлоуметрии.

Контрольную группу составили 17 практически здоровых людей с благоприятным аллергологическим и наследственным анамнезом, не страдавших острыми респираторно-вирусными инфекциями в течение 6 мес перед исследованием и имевших нормальную величину объема форсированного выдоха за 1 с (ОФВ₁ 111,7±19,4% должного).

КВВ у всех обследованных собирали с помощью стеклянных приемников, погруженных в лед. Искользованные устройства имели резервуары для сбора слюны. После полоскания рта водой пациенты спокойно дышали через рот в течение 20 мин. Для исключения носового дыхания использовались специальные зажимы для носа. Объем КВВ, образующийся за это время, варьировал от 2 до 4 мл. Концентрацию H_2O_2 определяли спектрофотометрическим методом [6] по степени окисления 3,3', 5,5'-тетраметилбензидина в присутствии пероксидазы хрена (все реактивы фирмы "Sigma Chemicals Corp.", США) с последующим измерением экстинкции раствора при длине волны 450 нм (спектрофотометр СФ-46, ЛОМО, Санкт-Петербург) сразу же после сбора КВВ.

Регистрация ОФВ₁, характеризующего бронхиальную проходимость, проводилась методом спирографии ("Vitalograph", Великобритания). Неспецифическую гиперреактивность бронхов определяли с помощью бронхопровокационного теста с гистамином, который проводили в соответствии с рекомендациями Европейского респираторного общества. Исследование выполнялось на автоматическом спирометре "MasterScope", снабженном дозиметром "APS pro" ("Erich Jaeger", Германия). Для обозначения величины гиперреактивности бронхов использовали концентрацию гистамина, вызывающую снижение ОФВ₁ на 20% от исходной величины (ПД₂₀). Исследование функции внешнего дыхания выполнялось в один день с определением концентраций H_2O_2 .

Достоверность различий изучали с помощью *t*-критерия Стьюдента при $p < 0,05$. Статистический анализ проводился на компьютере "Pentium II-400" с помощью пакета программ (MS-Office 2000, Statistica for Windows 95).

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований представлены в табл.1 и 2. Исходная концентрация H_2O_2 в КВВ у пациентов с астмой оказалось достоверно выше, чем у здоровых людей (см.табл.1), что соответствует полученным

Таблица 1

Клинико-функциональное состояние больных БА и концентрация H_2O_2 в КВВ в процессе лечения сальбутамолом в режиме "по требованию" ($M \pm m$)

Показатель	Исходно	Через 15 мин после однократной ингаляции (100 мкг) сальбутамола	Через 2 нед
Количество приступов затрудненного дыхания	1,68±0,42	—	1,40±0,28
Количество ингаляций сальбутамола	2,35±0,45	—	2,33±0,41
ОФВ ₁ , % должного	69,06±2,29	85,59±3,17*	70,48±3,53
Концентрация, H_2O_2 , мкмоль/л	0,19±0,03**	0,21±0,03**	0,19±0,04**

Примечание. Здесь и в табл.2: * — показатели, достоверно ($p < 0,05$) отличающиеся от исходных, ** — показатели, достоверно отличающиеся от нормальных. Концентрация H_2O_2 в КВВ в контрольной группе составила 0,028±0,003 мкмоль/л.

Динамика клинических симптомов, бронхиальной проходимости и концентрации H_2O_2 в КВВ у больных БА в процессе лечения пульмикортом турбухалером ($M \pm m$)

Показатель	Исходно	Через 4 нед	Через 8 нед	Через 12 нед
Количество приступов в затрудненного дыхания	1,40±0,28	0,46±0,23*	0,13±0,09*	0,40±0,19*
Количество ингаляций сальбутамола	2,33±0,41	1,80±0,39	1,60±0,38	0,66±0,44*
ОФВ ₁ , % должного	70,48±3,53	90,89±3,11*	89,48±3,74*	88,97±3,10*
ПОС, л/мин	343,33±20,99	382,0±19,89*	410,0±20,50*	408,66±20,60*
ПД ₂₀ гистамина, мг/мл	0,88±0,27	-	-	1,79±0,31*
Концентрация H_2O_2 , мкмоль/л	0,19±0,04**	0,068±0,008**,**	0,062±0,007**,**	0,038±0,005**,**

ранее данным [1,2,8]. По-видимому, это обусловлено увеличением образования свободных радикалов и/или снижением функционирования антиоксидантной защиты (каталазы, глутатионпероксидазы, глутатиона) в дыхательных путях.

Следует отметить, что источниками H_2O_2 являются как полость носа и рта, так и нижние дыхательные пути. Для предупреждения попадания слюны устройства для сбора КВВ имели специальную ловушку, а пациенты полоскали рот водой перед исследованием. Для исключения носового дыхания у обследованных использовали зажим для носа. Больные с обострением аллергического ринита исключались из исследования. Таким образом, особенности использованной методики сбора КВВ позволяют считать, что местом образования H_2O_2 у пациентов с БА и здоровых служили нижние дыхательные пути.

Из табл.1 видно, что лечение сальбутамолом в режиме "по требованию" в течение 2 нед не сопровождалось достоверным изменением у больных БА частоты приступов затрудненного дыхания, ОФВ₁ и концентрации H_2O_2 в КВВ. Несмотря на существенный прирост бронхиальной проходимости после однократной ингаляции препарата (100 мкг), уровень H_2O_2 оставался неизменным. Вероятно, это можно объяснить отсутствием у сальбутамола противовоспалительного эффекта. Показано, что использование β_2 -адреноагонистов короткого действия не оказывает существенного влияния на активность клеток, принимающих участие в развитии воспаления дыхательных путей и являющихся продуцентами активных форм кислорода у больных БА [3,4].

Последующее лечение пациентов пульмикортом турбухалером (400 мкг/сут) приводило к уменьшению у них частоты приступов затрудненного дыхания и потребности в ингаляциях сальбутамола. Оно сопровождалось достоверным приростом ОФВ₁, снижением гиперреактивности бронхов к гистамину и концентрации H_2O_2 в КВВ (см. табл.2).

Известно, что ингаляционные глюкокортикоиды уменьшают количество и функциональную активность клеток (эозинофилов, макрофагов и др.), принимающих участие в развитии воспаления дыхательных путей. Они тормозят продукцию ими активных форм кислорода, в том числе и H_2O_2 [5]. Этим, вероятно, объясняется уменьшение неспецифической гиперреактивности бронхов и уровня H_2O_2 в выдыхаемом воздухе, являющихся неинвазивными маркерами воспаления дыхательных путей [8,9]. Следует отметить, что концентрация H_2O_2 в КВВ в отличие от клинических симптомов и ОФВ₁ была наиболее низкой через 12 нед лечения. Это подтверждает необходимость длительного назначения ингаляционных глюкокортикоидов пациентам с БА, несмотря на относительно быструю положительную динамику клинико-функциональных показателей.

Таким образом, сальбутамолом не влияет, а пульмикорт турбухалер достоверно снижает концентрацию H_2O_2 в КВВ у больных БА. По-видимому, это отражает различное воздействие β_2 -адреномиметиков и ингаляционных стероидов на воспалительный процесс. Полученные данные подтверждают возможность использования H_2O_2 КВВ в качестве маркера воспаления у пациентов с БА. Вероятно, H_2O_2 является более чувствительным показателем эффективности проводимой терапии, чем клинические симптомы и ОФВ₁. Измерение его концентрации может быть полезным для оценки продолжительности лечения и выбора дозы ингаляционных глюкокортикоидов. Для подтверждения этого предположения необходимы дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Емельянов А.В., Щербак И.Г., Абулимити А. и др. Пероксид водорода как маркер воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой. Тер. арх. 2000; 72 (12): 27-30.
2. Antzak A., Nowak D., Shariati B. et al. Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactive products in expired

- breath condensate of asthmatic patients. *Eur. Respir. J.* 1997; 9 (6): 1235–1241.
3. Barnes P. Beta-adrenergic receptors and their regulation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152 (3): 838–860.
 4. Barnes P. Effect of beta-agonists on inflammatory cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999; 104 (2, pt 2): S10–S17.
 5. Barnes P.J., Pedersen S., Busse W.W. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids. New development. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 157 (3, pt 2): 1S–53S.
 6. Gallati H., Pracht I. Horseradish peroxidase: kinetic studies and optimisation of peroxide activity determination using the sub-

strates H₂O₂ and 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1985; 23: 453–460.

7. Global Initiative for Asthma. NHLB/WHO Workshop Report. National Heart Lung Blood Institute. Publication number 95–3659, 1995.
8. Horvath I., Donnely L.E., Kiss A. et al. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998; 158 (4): 1042–1046.
9. Lim S., Chung K.F. Potential role of noninvasive markers of inflammation in clinical management of asthma. *Eur. Respir. Rev.* 1998; 8 (64): 1103–1107.

Поступила 20.04.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 618.3–06:616.24–036.12

Л.И. Колесникова, Б.С. Хышиктеев, Н.А. Хышиктеева

ПЕРЕКИСНЫЙ СТАТУС ПРИ ПАТОЛОГИИ ЛЕГКИХ У БЕРЕМЕННЫХ

Институт педиатрии ВСНЦ СО РАМН, Иркутск;
кафедра биохимии Читинской государственной медицинской академии

LIPID PEROXIDATION DISORDERS UNDER LUNG PATHOLOGY IN PREGNANCY

L.I. Kolesnikova, B.S. Khyshiktuev, N.A. Khyshiktueva

Summary

The lipid peroxidation and antioxidant defense in pregnant women with chronic nonspecific lung diseases were studied in various biological objects (blood plasma, erythrocyte membrane, amniotic fluid, exhaled air condensate). The pregnancy course in women with chronic nonspecific lung diseases was characterized by a decrease in the antioxidant enzymes activities (catalase, superoxididismutase) with an elevation of the lipid peroxidation products concentrations in all parts of the mother — extraembryonal organs system. The pregnancy in women with chronic nonspecific lung diseases resulted in the activation of lipid peroxidation in the lungs and redistribution of the antioxidant resources with the antiradical factors deficiency in the amniotic fluid.

Резюме

Изучено состояние процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты у женщин с хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ) в динамике беременности в различных биологических объектах (плазма крови, мембраны эритроцитов, амниотическая жидкость, конденсат выдыхаемого воздуха). Показано, что течение беременности у женщин с ХНЗЛ характеризуется снижением активности антиоксидантных ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза) на фоне увеличения содержания продуктов перекисного окисления во всех компонентах системы мать — внезародышевый орган. Установлено, что беременность у женщин с ХНЗЛ приводит к активации липопероксидации в системе органов дыхания и перераспределению антиоксидантных ресурсов организма, что сопровождается дефицитом факторов антирадикальной защиты в околоплодных водах.

В настоящее время в связи с ухудшением экологической обстановки, общепопуляционным снижением резистентности к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды продолжает увеличиваться заболеваемость населения хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ), которая определяет в значительной мере уровень временной утраты трудоспособности, инвалидности и смертности населения России [9]. В силу распространения различные формы ХНЗЛ часто встречаются у беременных (1,5–6%) [1,4] и оказывают неблагоприятное

влияние на течение гестации, состояние плода и впоследствии новорожденного [5,10]. При этом низкая эффективность традиционной терапии нарушений состояния плода у беременных с ХНЗЛ [6,12,13], не учитывающей глубоких изменений гомеостаза, требует дальнейшего изучения механизмов внутриутробного повреждения плода и особенностей течения беременности у таких женщин.

В настоящее время бесспорным являются 2 факта: первый свидетельствует о том, что даже физиологическая беременность протекает со значительными