

Э.Е. Назаретян, М.З. Нариманян, Т.В. Мартиросян, А.Ю. Гаспарян

СОДЕРЖАНИЕ ОКИСИ АЗОТА В СЛЮНЕ И ЛЕГОЧНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Кафедра внутренних болезней Ереванского государственного медицинского университета

SHIFTS IN THE CONTENTS OF NITRIC OXIDE IN SALIVA OF BRONCHIAL ASTHMATIC PATIENTS UNDER CONDITIONS OF PULMONARY HYPERTENSION FORMATION

E.Ye. Nazaretyan, M.Z. Narimanyan, T.V. Martirossyan, A.Yu. Gasparyan

Summary

The involvement of nitric oxide in the formation of bronchial hyperresponsiveness and pulmonary hypertension in bronchial asthma was studied. Shifts of nitric oxide were assessed by measuring nitric anion content in saliva using Griess reaction in 67 patients with non-atopic bronchial asthma. We assessed a pulmonary hypertension level and a condition of left and right ventricles by echocardiography.

It was shown that nitrite level in saliva depends on severity of airway limitation. Significant increase in nitrite content was revealed in mild bronchial asthma patients, especially during exacerbation. However, nitrite level in patients with status asthmaticus was significantly decreased. Based on data obtained we have suggested that changes in saliva nitric oxide reflect adaptive capacities of upper and lower airways and cardiovascular system in asthmatic patients with pulmonary hypertension. Nitric oxide produced in upper respiratory tract and oral cavity and self-inhaled thought to provide remarkable improvement in asthma and pulmonary hypertension course.

The investigation findings allow us to conclude that measurement of nitrite saliva level in bronchial asthma patients could be used for diagnostic purpose and its results could constitute an alternative approach to anti-asthmatic and hypotensive treatment.

Резюме

Показано, что сдвиги в содержании нитрита в слюне больных бронхиальной астмой связаны с выраженностью бронхообструкции и изменениями в сердечно-сосудистой системе в условиях гипоксического стресса и формирования легочной гипертензии. Рекомендовано определение уровня нитрита в слюне для оценки выраженности бронхообструкции и корректирования схем противовоспалительной и противоастматической терапии при бронхиальной астме.

Легочная артериальная гипертензия часто осложняет течение хронических обструктивных заболеваний легких, в том числе и бронхиальной астмы (БА), приводя к развитию хронического легочного сердца, легочно-сердечной недостаточности и стойкой инвалидизации больных [21]. Поэтому изучение многогранного патогенеза данного синдрома и разработка методов комплексного лечения, направленных на снижение повышенного давления в малом круге кровообращения, по сей день представляют одну из наиболее актуальных проблем пульмонологии [2, 8, 10].

Как показали исследования последних лет, в патогенезе легочной гипертензии, развивающейся в условиях выраженных в той или иной степени бронхообструкции, гипоксемии и дисфункции правого и левого желудочков, существенное значение имеет нару-

шение функций сосудистого эндотелия легких, выражающееся в снижении продукции мощной вазодилаторной субстанции — эндотелиального расслабляющего фактора, одним из основных производных которого является окись азота (NO) [4, 7]. Показано также, что в поддержании нормального уровня воздухопроводимости нижних дыхательных путей важную роль играют образование в полости носа и рта NO и его аутоингалирование, которые значительно страдают у больных с дыхательной недостаточностью [7]. Вместе с тем результаты исследований ряда авторов свидетельствуют, что ингаляции NO в смеси с кислородом у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких способствуют понижению давления в легочной артерии и улучшению показателей насыщения крови кислородом [12, 16, 22].

К настоящему времени остаются неизученными многие вопросы, связанные с влиянием NO на ремоделирование легочных сосудов и функции правого и левого желудочков у больных неспецифическими заболеваниями легких, в том числе и БА, в условиях формирования легочной гипертензии.

Целью настоящего исследования явилось изучение сдвигов в содержании NO в слюне больных БА с различной тяжестью течения и выраженностью легочной гипертензии.

Обследовано в фазе обострения 67 больных инфекционно-зависимой формой БА в возрасте 28—47 лет (40 мужчин, 27 женщин) с давностью заболевания от 4 до 7 лет и 17 практически здоровых лиц. Двенадцать больных поступили и стационар в астматическом статусе I стадии. У 11 больных было легкое течение болезни, у 46 — среднетяжелое, у 10 — тяжелое.

Состояние сердечно-сосудистой системы больных во внеприступном периоде оценивали с помощью ультразвукового исследования на аппарате "Ultramark 5" фирмы ATL (США) с датчиком с частотой 2, 5 МГц из верхушечного, парастернального и субкостального доступов. При этом вычисляли систолическое давление в легочной артерии (СДЛА), конечный диастолический размер (КДР) правого желудочка, конечные систолический и диастолический размеры (КСР и КДР) левого желудочка, относительное изменение малой оси левого желудочка в период систолы (S), толщину межжелудочковой перегородки (МЖП), среднюю скорость кругового укорочения волокон миокарда (V_{cf}), фракцию выброса (ФВ) левого желудочка. Методом доплерэхокардиографии регистрировали транстрикуспидальный кровоток и определяли максимальную скорость раннего наполнения правого желудочка (V_e), максимальную скорость предсердного наполнения правого желудочка (V_a), а также их соотношение (V_e/V_a).

Впервые в слюне больных БА определяли содержание конечного стабильного продукта окисления окиси азота (NO), нитрит-аниона (NO_2^-), образующегося в результате взаимодействия NO с водой. При этом следует отметить, что сравнительно недавно впервые было проведено исследование уровня NO в слюне человека [11]. Для обнаружения NO_2^- использовали реактив Griess, содержащий равные объемы 0,1% N-(1-нафтил)-этилендиамин гидрохлорида, 1% сульфаниламида и 5% фосфорной кислоты, которые способствуют превращению NO_2^- в сиреневое азосоединение, имеющее максимум оптического поглощения при 545 нм [13]. Для исследования слюну собирали в специальные силиконизированные пробирки натошак после предварительного ополаскивания полости рта дистиллированной водой. Исследование проводили через 3—5 минут. Предварительное центрифугирование не проводили, а для очистки от инородных частиц (остатки пищи, губной помады и др.) слюну отфильтровывали через ватный тампон. Образцы очищенной смешанной слюны объемами 50 микролитров инкубировали в микрокувете с равными объемами реагента Griess в течение 10 минут при 22°C, а затем определяли концентрацию NO_2^- , выраженную в микромолях (мкМ) с помощью спектрофотометрического ридера (Microplate reader MRX). При этом использовали калибровочную кривую стандартных растворов нитрита натрия в диапазоне концентраций от 10 до 1000 мкМ. Пациенты с выраженной кариозной и некариозной патологией зубов, воспалительно-деструктивными изменениями в пародонте, а также курильщики в число обследуемых не включались.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики с использованием t-теста Стьюдента, U-теста Манна—Уитни и методом ранговой корреляции Спермана.

Таблица 1

Эхо- и доплерэхокардиографические показатели у больных БА

Показатель	Группа обследованных			
	Контроль (n=17)	1-я (n=11)	2-я (n=46)	3-я (n=10)
СДЛА, мм рт. ст.	22,4±0,8	24,3±1,1	31,5±1,5	49,2±2,3*
V_e , см/с	60,2±1,3	57,3±1,6	56,6±1,4*	42,3±1,8*
V_a , см/с	44,1±2,3	48,2±3,1	56,6±1,3*	58,3±2,4*
V_e/V_a	1,36±0,08	1,2±0,09	1,0±0,05*	0,72±0,06*
КДР правого желудочка, мм	15,8±1,4	15,5±1,2	19,7±1,5	29,4±1,3*
Толщина МЖП, мм	8,6±0,3	9,5±0,2	9,7±0,5	12,9±0,3*
КДР левого желудочка, мм	44,3±0,8	43,1±0,7	46,5±1,1	58,3±1,8*
КСР левого желудочка, мм	29,4±1,0	28,3±1,3	29,6±1,0	44,7±2,0*
S	33,6±2,4	34,3±3,1	36,4±2,0	23,3±2,9*
V_{ef} , с ⁻¹	0,91±0,02	0,94±0,03	0,98±0,01	0,8±0,04*
ФВ, %	63±3	61,5±4,6	60,6±6	51,3±5,0*

Примечание. Здесь и в таблицах 2 и 3: 1-я группа — больные БА легкой степени тяжести, 2-я группа — средней тяжести, 3-я группа — тяжелой БА. * — достоверность различий показателей групп больных и здоровых (контроль) — $p < 0,05$.

Проведенные эхокардиографические исследования показали, что параллельно утяжелению течения БА нарастала выраженность легочной гипертензии и дисфункции правого и левого желудочков, достигая максимума у больных с тяжелой БА (табл. 1).

Как видно из табл. 1, у обследованных больных 1-й и 2-й групп отмечалась тенденция к повышению СДЛА (соответственно $24,3 \pm 1,1$ и $31,5 \pm 1,5$ мм рт.ст.), однако достоверное по сравнению с контролем повышение СДЛА имело место лишь у больных 3-й группы ($49,2 \pm 2,3$ мм рт.ст., $p < 0,05$). Результаты доплеровского исследования транстрикуспидального кровотока свидетельствовали о наличии диастолической дисфункции правого желудочка, выражающейся в постепенном снижении величины соотношения V_e/V_a (до $0,72 \pm 0,06$ в 3-й группе, $p < 0,05$) вследствие нарушения релаксации стенок правого желудочка и перераспределения наполнения желудочка в пользу предсердного компонента. Диастолическая дисфункция сопровождалась нарастанием дилатации правого желудочка и утолщением межжелудочковой перегородки. Относительные показатели систолической функции левого желудочка (S, V_{cf} , ФВ) достоверно ($p < 0,05$) понижались у больных БА 3-й группы.

Изучение сдвигов в содержании нитрита в слюне обследованных показало, что в межприступном периоде у больных 1—3-й групп имело место повышение нитрита по сравнению с контролем, наиболее выраженное у больных БА среднетяжелого течения ($348,3 \pm 30,4$ мкМ; $p < 0,05$). В период астматических приступов в условиях резкого нарастания бронхиальной обструкции и гипоксемии у больных 1-й группы уровень нитрита достоверно ($p < 0,05$) повышался на 119% по сравнению с межприступным периодом, у больных 2-й группы — на 28%, а у больных 3-й группы, наоборот, понижался на 38,6%. Примечательно, что у больных БА в астматическом статусе также понижалось содержание нитрита в слюне, достигая критически низкой отметки ($30,4 \pm 9,2$ мкМ) — табл. 2.

Проведенное изучение корреляционной взаимосвязи между содержанием нитрита в слюне больных БА 1—3-й групп в межприступном периоде и эхокардиографическими показателями свидетельствует о том, что нарастание уровня легочной гипертензии находится в тесной связи с уровнем NO в слюне у больных тяжелой БА ($r = -0,88$, $p < 0,05$) — табл. 3.

Как видно из табл. 3, у больных 2-й и 3-й групп тесная достоверная связь отмечалась между уровнем нитрита и одним из наиболее информативных показателей диастолической функции правого желудочка — соотношением V_e/V_a (соответственно $r = 0,7$ и $0,82$). Следует также отметить наличие у больных тяжелой астмой связи между содержанием нитрита в слюне, с одной стороны, и КДР правого и левого желудочков ($r = -0,75$ и $-0,73$ соответственно; $p < 0,05$), с другой, указывающей на роль NO в поддержании определенного уровня сократительной функции обоих отделов сердца в условиях выраженной легочной гипертензии и дилатации полостей сердца.

Представленные данные о сдвигах нитрита в слюне больных БА, осложненной легочной гипертензией, на наш взгляд, следует рассматривать с позиций концепции общего адаптационного синдрома, в развитии и течении которого ключевую роль играет состояние баланса между стрессреализующими и лимитирующими системами. В этой связи отмеченное нами повышение синтеза NO в организме больных БА легкой и средней тяжести, выраженное в период приступов, можно объяснить потребностью организма, находящегося в условиях гипоксического стресса, в активации системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники, на которую NO оказывает прямое индуцирующее влияние [19]. Наряду с этим, защитное действие оптимально повышенного уровня NO заключается в расслабляющем действии NO на спазмированную гладкую мускулатуру бронхов и сосудов малого круга кровообращения [17], что в свою очередь отражается на систолической и диастолической функциях правого и левого желудочков сердца, являющегося одним из реализующих звеньев стресс-реакции.

Таблица 2

Содержание нитрита в слюне больных БА

Группа обследованных	Число обследованных	Нитрит, мкМ	Различие между показателями межприступного и приступного периодов, %
1-я группа			
в межприступном периоде	11	$130,1 \pm 20,5$	
в период приступа	11	$284,8 \pm 25,4^*$	+119
2-я группа			
в межприступном периоде	40	$348,3 \pm 30,4^*$	
в период приступа	37	$446,0 \pm 38,5^*$	+28
3-я группа			
в межприступном периоде	10	$208,5 \pm 26,7^*$	
в период приступа	10	$128,0 \pm 35,5$	-38,6
Больные в астматическом состоянии I стадии	12	$30,4 \pm 9,2$	
Контроль	17	$93,4 \pm 8,3$	

Таблица 3
Коэффициент корреляции (r) между эхокардиографическими показателями и содержанием нитрита в слюне у больных БА

Показатель	Группа обследованных		
	1-я (n=11)	2-я (n=40)	3-я (n=10)
СДЛА	0,24	-0,5	-0,88*
V _e	0,27	0,73*	0,82*
V _a	0,35	-0,43	-0,77*
V _e /V _a	0,15	0,7*	0,82*
КДР правого желудочка	0,23	0,53	-0,75*
Толщина МЖП	-0,05	-0,3	-0,6
КДР левого желудочка	-0,05	-0,48	-0,73*
КСР левого желудочка	-0,15	-0,23	-0,51
S	0,05	0,33	0,77*
V _{сг}	0,15	0,25	0,7
ФВ	0,23	0,48	0,66

Известно, что синтез NO является защитной реакцией, которая может охватить весь организм, о чем свидетельствует обнаружение индуцибельной изоформы синтазы NO практически во всех органах и клетках [3]. Установлено участие NO в различных стресс-реакциях, процессах воспаления и иммунного ответа, развитии бронхиальной гиперреактивности, а также взаимосвязь функционирования NO и эйкозаноидов, интерлейкина-1, других цитокинов и супероксидного анион-радикала [5, 14, 15, 20]. При этом активация синтазы NO, в частности ее индуцибельной изоформы, может происходить под влиянием липополисахаридов микробов, фактора некроза опухоли, гамма-интерферона, провоспалительных интерлейкинов и, что очень важно, активных форм кислорода [6, 9]. Последние, как известно, усиливают перекисное окисление липидов мембран, необходимое для активации клеточного метаболизма в острой фазе адаптации организма к стрессовым факторам, в том числе и гипоксии [1]. У обследованных нами больных тяжелой БА и в астматическом статусе имело место понижение уровня NO в слюне, что, по-видимому, связано с гипервентиляцией, приводящей к удалению из верхних дыхательных путей и полости рта NO, а также истощением клеток, продуцирующих данный медиатор в условиях воздействия сверхсильного стрессового фактора. Следует особо отметить, что в этих условиях утяжеления бронхообструкции и значительного повышения давления в легочной артерии наиболее выражена потребность организма в NO, являющегося одним из основных модуляторов функций сердечно-сосудистой системы [18], дефицит которого возможно пополнить введением его извне с помощью ингаляций.

Таким образом, отмеченные сдвиги уровня нитрита в слюне больных БА, связанные в первую очередь с изменениями продукции NO в верхних дыхательных путях и полости рта, можно рассматривать как отражение гипоксического стресса, развивающегося

вследствие хронического воспаления дыхательных путей, синдрома бронхиальной обструкции, осложняющейся легочной гипертензией и ведущей к значительному понижению аутоингаляции NO. Исходя из результатов проведенных нами исследований, можно рекомендовать определение уровня нитрита в слюне для оценки выраженности бронхообструктивного синдрома и на основании отмеченных сдвигов скорректировать схемы комплексной противовоспалительной и противоастматической терапии при БА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амануни В.Г., Нариманов М.З., Погосян Е.Ш. и др. Взаимосвязь иммунологических сдвигов и перекисного окисления липидов при кратковременной адаптации человека к высокогорью (3250 м) // Журн. exper. и клин. мед. — 1989. — Т. 29, № 2. — С. 111—117.
2. Бримкулов Н.Н. Острые гемодинамические эффекты финоптина у больных бронхиальной астмой, осложненной легочной гипертензией // Тер. арх. — 1987. — № 3. — С. 47—50.
3. Виноградов Н.А. Многоликая окись азота // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 1997. — № 2. — С. 6—11.
4. Заволовская Л.И., Орлов В.А. Современный взгляд на патогенез легочной гипертонии, формирование хронического легочного сердца и некоторые аспекты терапии // Пульмонология. — 1996. — № 1. — С. 62—67.
5. Манухина Е.Б., Покидышев Д.А., Малышев И.Ю. Предупреждение острой гипотензии и гиперактивации эндотелия при тепловом шоке с помощью адаптации к стрессорным воздействиям // Бюл. exper. биол. — 1997. — Т. 124, № 10. — С. 380—383.
6. Микоян В.Д., Кубрина Л.Н., Манухина Е.Б. и др. Различия в стимуляции синтеза NO при тепловом шоке у крыс генетически различных популяций // Там же — 1996. — Т. 121, № 6. — С. 634—637.
7. Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И. Роль окиси азота в регуляции легочных функций // Тер. арх. — 1997. — № 3. — С. 68—73.
8. Сабиров Дж. М., Насыров Ш.Н. Фармакодинамические эффекты каптоприла у больных с легочной гипертензией // 1-й конгресс пульмонологов и аллергологов Центральной Азии. — Ташкент, 1994. — № 143.
9. Тарасова Н.И., Микоян В.Д., Ванин А.Ф. СС1₄ как индуктор L-аргинин-зависимого синтеза NO // Бюл. exper. биол. — 1996. — Т. 121, № 4. — С. 414—416.
10. Файнберг И.Ф. Опыт применения каптоприла в лечении застойной сердечной недостаточности у больных с хроническим легочным сердцем // 1-й конгресс пульмонологов и аллергологов Центральной Азии. — Ташкент, 1994. — № 160.
11. Bodis S., Haregewoin A. Evidence for the release and possible neural regulation of nitric oxide in human saliva // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1993. — Vol. 194. — P. 347—350.
12. Conti C.R. Nitric oxide as a therapeutic agent [editorial] // Clin. Cardiol. — 1994. — Vol. 17, N. 5. — P. 227—228.
13. Ding A.H., Nathan C.F., Stuehr D.J. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages: comparison of activation cytokines and evidence for independent production // J. Immunol. — 1988. — Vol. 141. — P. 2407—2412.
14. Flak T.A., Goldman W.E. Autotoxicity of nitric oxide in airway disease // Am. J. Respir. Crit. care Med. — 1996. — Vol. 154. — P. S202—S206.
15. Janabi N., Chabrier S., Tardieu M. Endogenous nitric oxide activates prostaglandin F₂ alpha in human microglial cells but

not in astrocytes: a study of interactions between eicosanoids, nitric oxide, and superoxide anion (O₂⁻) regulatory pathways // *J. Immunol.* — 1996. — Vol. 157, N. 5. — P. 2129—2135.

16. *Katayama Y., Higenbottam T.W., Diaz-de-Atauri M.J. et al.* Inhaled nitric oxide and arterial oxygen tension in patients with chronic obstructive pulmonary disease and severe pulmonary hypertension // *Thorax* / — 1997 / — Vol. 52, N. 2. — P. 120—124.

17. *Kharitonov S.A., Yates D., Robbins R.A. et al.* Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients // *Lancet.* — 1994. — Vol. 343. — P. 133—135.

18. *Masini E., Gambassi F., Di-Bello M.G. et al.* Nitric oxide modulated cardiac and mast cell anaphylaxis // *Agents and Actions.* — 1994. — Vol. 41, Spec. No. — P. C89—C90.

19. *Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // *Pharmacol. Rev.* — 1991. — Vol. 43. — P. 109—142.

20. *Nijkamp F.P., Folkerts G.* Nitric oxide and bronchial reactivity // *Clin. Exp. Allergy.* — 1994. — Vol. 24, N. 10. — P. 905—914.

21. *Posival V.* The role of pulmonary hypertension in the pathogenesis of bronchial asthma // *Med. Hypothes.* — 1990. — Vol. 33, N. 1. — P. 7—9.

22. *Yoshida M., Taguchi O., Gabazza E.C. et al.* Combined inhalation of nitric oxide and oxygen in chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1997. — Vol. 155, N. 2. — P. 526—529.

Поступила 02.03.99

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2000

УДК 616.24-091

А.Э. Али-Риза, А.Л. Черныяев*, М.В. Самсонова*, Г.Я. Мельников**, В.А. Ковригин**, Е.В. Жога***

АНАЛИЗ ВРАЧЕБНЫХ ОШИБОК В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ЛЕГКИХ ПО ДАННЫМ АУТОПСИИ В Г. ЖЕЛЕЗНОГОРСКЕ

*НИИ пульмонологии МЗ РФ, г. Москва, **ЦМСЧ-51, г. Железнодорожск

ANALYSIS OF DIAGNOSTIC ERRORS IN LUNG PATHOLOGY BASED ON AUTOPSY DATA IN ZHELEZNOGORSK TOWN

A.E. Ali-Riza, A.L. Chernyaev, M.V. Samsonova, G.Ya. Melnikov, V.A. Kovrigin, E.V. Zhoga

Summary

Scientific and practical examination of diagnostic errors and statistical analysis of autopsies in lung pathology were carried out in Zheleznogorsk town situated in the neighbourhood of mining-and-chemical plant (radioactive industry). Protocols of 1259 postmortem examinations, which had been performed in 1990-1997, were studied. Lung pathology as the leading disease was found in 158 cases, that was 12.5% of all autopsies. Lung diseases as complications of other pathologies were revealed in 511 cases. Differences of diagnostics of leading diseases were in 29.7% and those of complications - in 44.4%. Hypodiagnosics of lung diseases was in the first place among other kinds of pathologies and it constituted 11.76%. Among diagnostic errors subjective reasons predominated both in hypodiagnosics and in hyperdiagnosics of lung diseases that took 77.3% and 86.7% respectively.

Резюме

Проведена научно-практическая экспертиза врачебных ошибок и статистика аутопсий при диагностике патологии легких в г. Железнодорожске, расположенном по соседству с горно-химическим комбинатом (радиоактивное производство). Были изучены протоколы 1259 аутопсий за период с 1990 по 1997г. Патология легких в качестве основного заболевания обнаружена в 158 наблюдениях, что составило 12,5% от всех аутопсий. В качестве осложнения болезни легких обнаружены в 511 наблюдениях. Расхождения по основному заболеванию легких составили 29,7%, по осложнениям — 44,4%. Гиподиагностика болезней легких стоит на первом месте среди других видов патологии и составляет 11,76%. Среди врачебных ошибок при гипо- и гипердиагностике болезней органов дыхания преобладают субъективные причины, составив 77,3 и 86,7% , соответственно.

Научно-практическая экспертиза, проводимая патологоанатомом при вскрытии трупа умершего, одной из важных своих задач ставит выявление врачебной ошибки, установление причин и условий её

возникновения на основе клинико-анатомического анализа. Врачебные ошибки — это ошибки медицинских работников при выполнении своих профессиональных обязанностей, являющиеся следствием доб-