

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 ин витро 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. Стрелмоухов 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

S u m m a r y

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.

Р е з ю м е

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

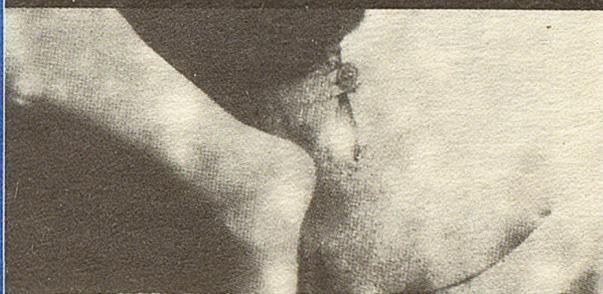
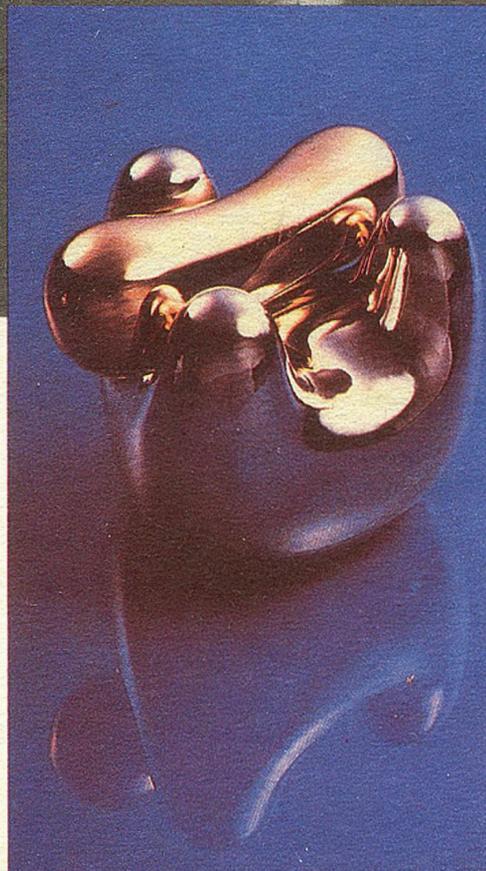
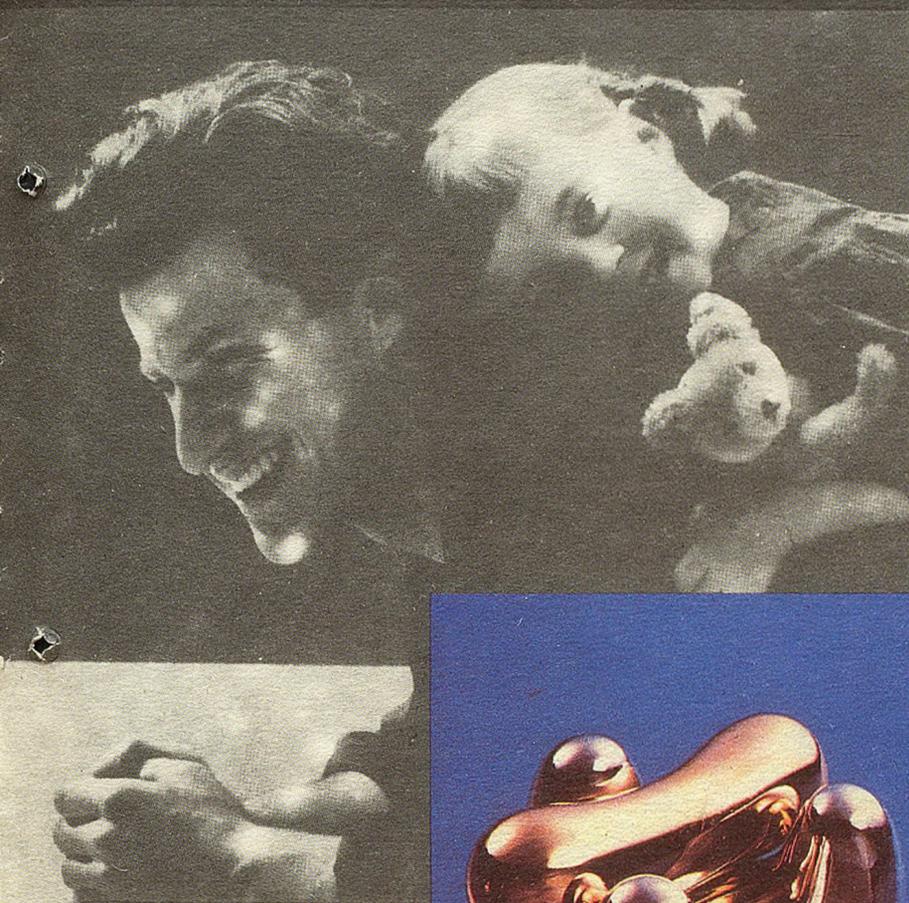
РИБОМУНИЛ ЗАЩИТА ОТ БОЛЕЗНЕЙ НИКОГДА НЕ БЫВАЕТ ИЗЛИШНЕЙ

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 плазмоцитами 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 десенситизации 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 десенситизации.

Проблема эффективности лечения бронхиальной астмы (БА) тесно связана с дифференциальной диагностикой различных клинико-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
$M \pm m$			$1,1 \pm 0,11^*$

Примечание. Звездочка — $p < 0,01$.

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±0,01*
	аспизол	9	0,56±0,024*
Контрольная группа	анальгин	22	1,33±0,02
	аспизол	6	1,49±0,1

Примечание. Звездочка — $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

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 хемилюминометр 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

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 ($K_{хл}=0,18$). Через несколько дней после обследования прием таблетки реопирин (для купирования головной боли) вызвал лекарственную токсикодермию.

Таким образом, снижение $K_{хл}$ 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, $K_{хл}$ повышался, нередко достигая нормальных значений ($K_{хл}=0,85$). Так, у приведенной выше больной З., 62 лет, $K_{хл}$ до десенситизации составил 0,45. При исследовании через 8 месяцев на фоне десенситизации аспирином с хорошим клиническим эффектом $K_{хл}$ возрос до 0,92, т.е. ХЛ-тест стал отрицательным. У больного В., 42 лет, находившегося на десенситизации аспирином, $K_{хл}$ с 0,72 повысился через месяц лечения до 0,86. В дальнейшем больной прекратил прием поддерживающей дозы аспирина, что сопровождалось обострением заболевания и снижением $K_{хл}$ 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.