

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1997

УДК 616.24-07:616-008.821-172.6-074

С.А.Харитонов, П.Дж.Барнс, А.Г.Чучалин

## ОКИСЬ АЗОТА (NO) В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ: НОВЫЙ ТЕСТ В ПУЛЬМОНОЛОГИИ

Отделение торакальной медицины, Национальный Институт Сердца и Легких,  
Ройал Бромптон Хоспитал, Лондон, Великобритания;  
НИИ пульмонологии МЗ РФ, Москва, Россия

Оксид азота (NO) продуцируется многими клетками респираторного тракта. Эндогенная окись азота может играть важную сигнальную роль в оценке функции дыхательных путей и в патофизиологии их заболеваний [1—3]. Эндогенная окись азота образуется из аминокислоты L-аргинина ферментом NO-синтазой (NOS), которая существует в трех изоформах.

Конститутивные изоформы NO-синтазы находятся в эндотелиальных клетках (eNOS, тип III) и в нейронах (nNOS, тип I) и активируются при увеличении концентрации внутриклеточного кальция (обычно в ответ на физиологические стимулы). Третья изоформа — индуцибельная NO-синтаза (iNOS, тип II) — индуцируется в некоторых типах клеток при экспозиции провоспалительных цитокинов и эндотоксина, причем эта индукция блокируется глюкокортикоидами. Все три изоформы были обнаружены в респираторном тракте человека [5—8].

Gustafsson *et al.* впервые показали, что NO может быть обнаружена в выдыхаемом воздухе у животных и здоровых людей [9], что в последующем было подтверждено во многих исследованиях [10—15]. Кроме того, концентрация выдыхаемой NO возрастала у пациентов с воспалительными заболеваниями дыхательных путей, такими, как астма [11,12,16] и бронхоэктазы [17]. Это позволило предположить, что выдыхаемая NO может использоваться для неинвазивного мониторинга воспаления в респираторном тракте. Это привлекло внимание к изменению выдыхаемого NO. Из-за большой вариабельности данных, полученных при измерении выдыхаемой NO, могут возникнуть сложности в их интерпретации, что подтверждает значимость технических факторов.

### Как измеряется NO в выдыхаемом воздухе?

В большинстве исследований NO измерялся в выдыхаемом воздухе методом хемилюминесценции, основанном на фотохимической реакции между NO и озоном, генерируемым прибором [18]. В настоящее время существует несколько моделей анализаторов

NO, реализуемых коммерческим путем, но они нуждаются в модификации для проведения анализа в режиме реального времени. Большинство анализаторов способны определять концентрации NO менее 1 части на миллиард (ppb), что достаточно для исследований выдыхаемого воздуха. Специфичность метода хемилюминесценции для измерений выдыхаемой NO была недавно подтверждена методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии [15]. NO может измеряться при непосредственном выдохе в анализатор или путем накопления в резервуаре с последующим анализом. Недостаток последнего способа — неконтролируемые потери NO, приводящие к занижению и недостоверности результатов.

Некоторые технические факторы могут сказаться на измерении выдыхаемой NO, поэтому для сравнения результатов разных исследований необходимо специфицировать технику измерения. Измерения NO при задержке дыхания показывают более высокие уровни NO, что может отражать накопление NO в верхних или нижних дыхательных путях [13]. Высокие концентрации NO были обнаружены в верхних отделах респираторного тракта, носоглотке и особенно в околоносовых пазухах [19—21]. Это позволяет предположить, что выдыхаемая NO в большей степени отражает уровни NO в верхних дыхательных путях, чем в нижних. Действительно, маневры, блокирующие верхние отделы респираторного тракта, значительно уменьшают концентрации NO [22], и наименьшие уровни NO получены в нижних отделах дыхательных путей у пациентов с трахеостомой [19,20].

### Факторы, действующие на выдыхаемую окись азота у здоровых лиц

Задержка дыхания вызывает значимое увеличение выдыхаемой NO [13,23]; при использовании носового зажима данные также могут быть выше из-за диффузии NO из верхних отделов дыхательных путей в носоглотку.

Отмечено увеличение NO в выдыхаемом воздухе при инфекциях верхних дыхательных путей [24], что

может быть отражением индукции в них индуцибельной NO-синтазы (iNOS) при действии вируса. У здоровых лиц прием внутрь L-аргинина (субстрата для NOS) приводил к росту выдыхаемой окиси азота в результате увеличения ее синтеза [25]. Физическая нагрузка влияет на выделение NO комплексно: с увеличением нагрузки происходит прогрессирующее падение выдыхаемой NO, однако при поправке на гипервентиляцию показан рост образования NO [13]. Гипервентиляция в покое также вызывает увеличение выдыхаемой NO, хотя и в меньшей степени, чем нагрузка [13]. Механизм увеличения NO в выдыхаемом воздухе при нагрузке и гипервентиляции не до конца ясен, но может включать в себя дополнительное поступление NO из верхних дыхательных путей.

У курильщиков сигарет более низкие уровни выдыхаемой NO по сравнению с некурящими [16,26,27], причем существует тесная связь между уменьшением NO и числом выкуриваемых сигарет [27]. Непосредственно во время курения происходит дальнейшее преходящее падение содержания NO, таким образом, выделение NO уменьшается вследствие как острых, так и хронических эффектов курения. Поскольку при курении сигарет образуется NO в очень высоких концентрациях, то, возможно, происходит торможение NO-синтазы окисью азота по типу обратной связи, как это показано для конститутивного и индуцибельного ферментов [28—30]. Так как NO играет важную роль в биении ресничек [31], торможение образования эндогенной NO в респираторном тракте у курящих может способствовать нарушению мукоцилиарного клиренса и повышению восприимчивости к инфекциям нижних дыхательных путей.

### Изменение выдыхаемого NO при различных заболеваниях

#### Астма

В нескольких исследованиях показано повышение выделения NO у пациентов с бронхиальной астмой [11,12,16,32,33], причем оно, видимо, не связано с тяжестью астмы или реактивностью дыхательных путей (измеренной в метахолиновом тесте). Выделение NO не увеличивается у пациентов с астмой, леченных ингаляционными стероидами [12]. Иммуноцитохимическое исследование биопсий бронхов показывает увеличение экспрессии индуцибельной NO-синтазы (в результате чего возрастает продукция NO в нижних дыхательных путях) при астме по сравнению с пациентами без астмы [6]. Предположительно, что этот эффект обусловлен противовоспалительными цитокинами, присутствующими в дыхательных путях при астме. После ингаляции аллергена выделение NO во время ранней фазы ответа не меняется, но прогрессивно повышается во время поздней фазы ответа на аллерген [34]. У пациентов, не имеющих поздней фазы реакции на аллерген, не наблюдается изменений в выделении NO за время наблюдения. Это подтверждает, что рост выделения NO связан с поздней, вос-

палительной фазой ответа и может быть отражением экспрессии iNOS при действии воспалительных цитокинов. У сенсibilизированных морских свинок ответ на аллерген связан с увеличением продукции NO в позднюю фазу, чему предшествует экспрессия мРНК iNOS [35]. Пока точно не выяснено, является ли повышенное образование NO только маркером цитокиноопосредованного воспаления или оно способствует сужению бронхов (вследствие вазодилатации и увеличения экссудации плазмы), поэтому необходимы исследования с ингибиторами NOS. В отличие от реакции на аллерген, не наблюдается роста выделения NO при бронхоконстрикции, вызванной гистамином (прямое действие на гладкие мышцы бронхов) или аденозином (через активацию тучных клеток) [33,36]. Отмечено увеличение выдыхаемой NO при обострении бронхиальной астмы [33,37] и при снижении поддерживающей дозы ингаляционных глюкокортикоидов [38]. Повышенные уровни выдыхаемой NO уменьшаются в течение 48 часов от начала терапии метилпреднизолоном [33]. Приведенные исследования свидетельствуют, что выдыхаемая окись азота может использоваться для мониторинга воспалительного процесса в нижних дыхательных путях, в том числе и при бронхиальной астме.

#### Бронхоэктазы

Повышенные уровни выдыхаемой NO также были обнаружены у пациентов с бронхоэктазами, причем уровень NO был связан с выраженностью заболевания, оцениваемой по данным компьютерной томографии [17]. Как и при астме, подъема уровня NO на наблюдалось у получавших ингаляционные стероиды [17]. Это позволяет предположить, что выдыхаемая NO при бронхоэктазах может отражать текущее воспаление в нижних дыхательных путях и использоваться для мониторинга активности заболевания.

Ограниченные исследования среди пациентов с кистозным фиброзом показали повышенные уровни выдыхаемой NO у части пациентов, однако у большинства уровни NO были нормальными, возможно, из-за приема ингаляционных стероидов [Харитонов С. и др., неопубликованные наблюдения].

#### Сосудистые заболевания

У пациентов с легочной гипертензией вследствие системной склеродермии обнаружено снижение выдыхаемой NO по сравнению со здоровыми людьми и пациентами с интерстициальными заболеваниями легких без легочной гипертензии [39], возможно, в связи с уменьшением экспрессии eNOS, описанной у пациентов с легочной гипертензией [40]. Сниженное образование NO в сосудах при легочной гипертензии может способствовать сужению легочных сосудов и увеличению пролиферации сосудистых миоцитов [41].

Снижение выделения NO также описано при системной гипертензии [26], что труднообъяснимо, но может быть отражением генерализованного дефекта функции эндотелиальной NOS.

## Заболевания носа

Высокие концентрации NO были обнаружены в носу здоровых людей [19,20,22,42] и очень высокие концентрации — в околоносовых синусах [21]. Отсюда NO может вдыхаться в нижние дыхательные пути и после выдоха способствовать увеличению концентрации, измеряемой во рту. Предполагается, что высокие концентрации NO обусловлены колонизацией в носу бактерий. Так, высокие значения NO получены у пациентов с пенициллинрезистентным золотистым стафилококком [19]. Бактерии могут сами синтезировать NO или индуцировать NO-синтазу [44,45]. Однако проведение курса антибиотиков здоровым субъектам не приводит к уменьшению назальных концентраций NO [20]. Повышение назальной NO описано при аллергическом и круглогодичном рините [46], что, вероятно, отражает аллергическое воспаление в носу. Очень низкие назальные уровни NO обнаружены у пациентов с синдромом Картагенера (врожденный дефект активности ресничек) [20]. Вероятно, эндогенная NO играет важную роль в биении ресничек [31], и при отсутствии NO может наблюдаться неподвижность ресничек.

### Эффекты терапии

Уровни выдыхаемой NO значимо ниже у пациентов с астмой или бронхоэктазами, получающих ингаляционные глюкокортикоиды [12,27]. Назначение преднизолона внутрь (30 мг на 3 дня) не оказывало влияния на выделение NO у здоровых, но уменьшало повышенные уровни NO у больных астмой [47]. Эти факты подтверждают, что выдыхаемая NO у здоровых людей образуется конститутивной NOS (стероидонезависимой), тогда как повышенные уровни при астме зависят от индуцибельной NOS, которую ингибируют глюкокортикоиды. В исследовании двойным слепым методом будесонида у больных астмой показано прогрессирующее уменьшение выдыхаемой NO до нормальных значений после 3 недель терапии [48]. Редукция выдыхаемой NO может отражать прямое ингибирующее действие глюкокортикоидов на индукцию iNOS через прямую блокаду транскрипции ядерного фактора каппа В (NF-κB) и непрямого эффект, зависящий от уменьшения синтеза провоспалительных цитокинов, приводящих к экспрессии iNOS в эпителиальных клетках дыхательных путей. Исследования биопсий подтвердили уменьшение экспрессии iNOS в эпителии дыхательных путей у пациентов с астмой, леченных ингаляционными стероидами [49]. Продукция NO у пациентов с ринитом, измеренная по концентрации нитратов и нитритов в назальном лаваже, не изменялась под действием местных глюкокортикоидов вследствие того, что назальная NO не образуется индуцибельной NOS или выделяется клетками, которых не достигают местные аппликации стероидов [50]. Высокие концентрации NO образуются в синусах энзимом, схожим с iNOS, но не подавляемым глюкокортикоидами [21].

В отличие от стероидов, ни короткодействующие, ни пролонгированные бета-2-агонисты не уменьшают

выделение NO у больных астмой [51]. Это согласуется с другими исследованиями, демонстрирующими отсутствие противовоспалительного эффекта ингаляционных бета-2-агонистов при астме [52,53], и дополнительно подтверждает возможность использовать выдыхаемый NO для оценки противовоспалительного эффекта ингаляционных лекарств при астме.

Некоторые аналоги L-аргинина, такие как Ng-монометил-L-аргинин (L-NMMA) и Ng-нитро-L-аргинин-метилэфир (L-NAME), действуют как ложный субстрат и блокируют активность NOS. Эти ингибиторы NOS имели неосценимое значение в исследованиях роли эндогенной NO на животных и имеют некоторый терапевтический потенциал. Однократная ингаляция L-NMMA или L-NAME через небулайзер приводит к уменьшению выделения NO как у здоровых лиц, так и у больных астмой [12,47,54]. Даже у пациентов с гиперреактивностью бронхов (при астме) не уменьшается FEV<sub>1</sub>, подтверждая то, что базальная продукция NO не определяет базальный тонус бронхов. Хотя инфузия L-NMMA у здоровых лиц приводит к повышению артериального давления [55,56], ингаляция L-NMMA или L-NAME не оказывает влияния на сердечный ритм и АД, то есть, видимо, блокирование NOS ограничено респираторным трактом. В отличие от L-NMMA и L-NAME, являющихся неселективными ингибиторами sNOS и iNOS, аминугуанидин обладает определенной селективностью по отношению к iNOS [57,58]. Ингаляция аминугуанидина не изменяет значений выдыхаемой NO у здоровых, но значимо уменьшает его уровни у больных астмой [54], таким образом дополнительно доказывая, что повышение выделения NO при астме зависит от iNOS.

### Источник NO в выдыхаемом воздухе

Клеточный источник NO в нижних дыхательных путях не до конца ясен. Исследования на перфузируемых легких убеждают, что выдыхаемая NO, вероятнее, образуется на поверхности альвеол, нежели попадает из легочных сосудов [59]. Ферментом, отвечающим за ее синтез, является eNOS, экспрессируемая в альвеолах нормальных легких [5]. Эксперименты с перфузируемыми и вентилируемыми легкими морских свинок показывают, что выделение выдыхаемой NO уменьшается при перфузии растворами, не содержащими кальция, подтверждая образование NO конститутивной NOS, являющейся кальцийзависимой [14]. Эпителиоциты дыхательных путей также содействуют образованию NO в нижних отделах респираторного тракта, экспрессируя как eNOS, так и nNOS [54,61]. Увеличение выделения NO при воспалительных заболеваниях, по-видимому, связано с индукцией легких при астме, муковисцидозе, облитеративном бронхолите [62]. Есть доказательства экспрессии iNOS в эпителии дыхательных путей у больных астмой [6]. Провоспалительные цитокины приводят к экспрессии iNOS в эпителиоцитах мулены и в культуре эпителиоцитов дыхательных путей человека [61,63,64], эти же цитокины высвобождаются при "астматическом" воспалении. iNOS, возможно, экспрессируется и другими

клетками, такими, как альвеолярные макрофаги и другие клетки воспаления, однако этого не наблюдалось при биопсии проксимальных дыхательных путей у пациентов с астмой [6]. Кроме того, глюкокортикоиды ингибируют индукцию i-NOS эпителиоцитами *in vitro* и *in vivo*, а также уменьшают уровни выдыхаемой NO у пациентов с астмой до нормальных [48]. Имеются некоторые доказательства, что при бронхоэктазах макрофаги пораженного легкого экспрессируют iNOS [7].

Уровни NO в носу и носоглотке значительно выше, чем регистрируемые при дыхании через рот, то есть верхние дыхательные пути являются главным источником NO, по крайней мере у здоровых [19,20,22,23,42]. Ингаляция высоких концентраций NO с последующей задержкой дыхания на 30—60 с не оказывает влияния на выдыхаемую NO здоровых лиц, подтверждая быстрый захват NO в дыхательном тракте [12]. Эти данные позволяют предположить, что верхние дыхательные пути не искажают значительно уровней NO, измеренных в нижних дыхательных путях. Видимо, часть выдыхаемой NO даже у здоровых людей образуется в нижних отделах респираторного тракта. NO была обнаружена в выдыхаемом воздухе у трахеостомированных пациентов, животных (кролики, крысы, морские свинки) [9,10], а также при бронхоскопии у здоровых людей [23]. Продукты метаболизма NO, нитриты и нитроглицерин, присутствуют в бронхоальвеолярном лаваже у нормальных субъектов [65]. Одновременное измерение выдыхаемого CO<sub>2</sub> и NO показало, что пик выдыхаемой NO предшествует пику CO<sub>2</sub>. Таким образом, NO, вероятнее, образуется в дыхательных путях, нежели в альвеолах [13]. Хотя назальная NO и изменяет уровни выдыхаемой NO у здоровых лиц, но она не оказывает такого влияния на повышенные уровни NO при воспалительных заболеваниях дыхательных путей. Прямое измерение уровня NO в трахее и главных бронхах при фибробронхоскопии у пациентов с астмой показало такое же ее повышение, как и при измерении во рту. Таким образом, при астме повышается образование NO в нижних дыхательных путях [23]. Действительно, имеется жесткая корреляция между уровнями NO, измеренными в бронхах и во рту [23].

### Функции NO

NO может служить маркером болезней легких и дыхательных путей, но она может также играть определенную роль в физиологических и патофизиологических реакциях. Высокие концентрации NO в околоносовых синусах могут иметь защитное значение для синусов и верхних дыхательных путей, так как NO токсична для бактерий, паразитов и вирусов [66]. NO, образуемая в нижних отделах респираторного тракта, может оказывать сходное действие. Быстрая экспрессия iNOS в эпителиоцитах может обеспечивать быстрый механизм неспецифической защиты респираторного тракта. Так, мыши, утратившие ген iNOS, имели значимо большую восприимчивость к инфекции [67].

В респираторной системе NO может влиять также на бронхиальную проходимость и легочное кровообращение. NO — мощный вазодилататор, и повышение ее образования при астме может обуславливать гиперемии дыхательных путей, возникающую при этом заболевании. Ингаляция высоких концентраций NO из верхних дыхательных путей и образование ее в нижних отделах может оказывать влияние на вентиляционно-перфузионные отношения в легких. Так, при воспалении, например при астме, аутоингаляция эндогенной NO вследствие легочной вазодилатации приводит к изменению отношения V/Q, вследствие шунтирования возрастает гипоксемия. Роль эндогенной NO в регуляции вентиляционно-перфузионных отношений нуждается в уточнении.

Хотя считается, что эндогенная NO является важным бронхорасширяющим нейротрансмиттером у человека [68,69], высокая концентрация выдыхаемой NO оказывает только слабый бронходилатирующий эффект [70,71], поэтому едва ли эндогенная NO играет значительную роль в регуляции бронхиальной проходимости. Действительно, подавление образования эндогенной NO ингаляцией ингибиторов NOS не меняло функционального состояния дыхательных путей даже у пациентов с астмой [47,54].

### Перспективы

Измерение выдыхаемой NO вызывает большой интерес в связи с возможностью использовать этот простой неинвазивный метод для оценки воспаления в дыхательных путях. В настоящее время существуют убедительные доказательства повышения уровней NO при воспалении в дыхательных путях и снижении их при противовоспалительном лечении. Необходимо получить корреляции с прямыми методами оценки воспаления в дыхательных путях (бронхоальвеолярный лаваж, биопсия бронха). Большое преимущество этого метода в его полной неинвазивности, возможности повторных измерений, в том числе у детей и пациентов с тяжелой обструкцией, когда не применимы инвазивные методы. Метод неспецифичен, и повышение NO определяется при астме, бронхоэктазах, инфекциях респираторного тракта, поэтому абсолютное значение при одиночном измерении менее важно, чем серия измерений у одного пациента. Ценность такого подхода показана у пациентов с астмой: при снижении дозы ингаляционных стероидов возрастали уровни NO, при увеличении дозы стероидов уровни снижались [38]. Поскольку выделение NO снижается в результате противовоспалительного лечения, это может использоваться для мониторинга адекватности терапии. Метод также применим для оценки противовоспалительного эффекта новых противоастматических препаратов, таких, как селективные ингибиторы фосфодиэстеразы, антагонисты и ингибиторы синтеза лейкотриенов, иммуномодуляторы. Так как метод точен и измерения достаточно воспроизводимы, он может облегчить оценку дозозависимых эффектов противовоспалительного лечения, затрудненную в настоящее время.

Сейчас доступные анализаторы для выдыхаемой NO дороги, но, вероятно, в будущем технологические достижения приведут к миниатюризации и удешевлению, что позволит использовать их даже в домашних условиях вместе с пикфлоуметрами, а также в эпидемиологических и скрининговых исследованиях.

Предметом нашей дискуссии была выдыхаемая окись азота, однако в выдыхаемом воздухе могут быть определены и другие летучие вещества. Так, этан и пентан, летучие продукты перекисного окисления липидов, а также перекись водорода могут быть использованы для оценки окислительных процессов и воспаления в респираторном тракте [72,73]. Несомненно, это стремительно развивающаяся сфера исследований.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Barnes P.J., Bevisi M.G. Nitric oxide and lung disease // *Thorax*.— 1993.— Vol.48.— P.1034—1043.
- Gaston D., Drazen J.M., Loscalzo J., Stamier J.S. The biology of nitrogen oxides in the airways // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1994.— Vol.149.— P.538—551.
- Barnes P.J., Liew F.Y. Nitric oxide and asthmatic inflammation // *Immunol Today*.— 1995.— Vol.16.— P.128—130.
- Nathan C., Xie Q. Regulation of biosynthesis of nitric oxide // *J. Biol. Chem.*— 1994.— Vol.269.— P.13725—13728.
- Kobzik L., Bredt D.S., Lowenstein C.J. et al. Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*— 1993.— Vol.9.— P.371—377.
- Hamid Q., Springall D.R., Riveros-Moreno V. et al. Induction of nitric oxide synthase in asthma // *Lancet*.— 1993.— Vol.342.— P.1510—1513.
- Tracey W.R., Xue C., Klinghoffer V. et al. Immunocytochemical detection of inducible NO synthase in human lung // *Am. J. Physiol.*— 1994.— Vol.266.— P.L722—L727.
- Ward J.K., Bevisi M.C., Springall D.R. et al. Human INANC bronchodilatation and nitric oxide-immunoreactive nerves are reduced in distal airways // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*— 1995.— Vol.13.— P.175—184.
- Gustafsson L.E., Leone A.M., Persson M., Wikiund N.P., Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea-pigs and humans // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1991.— Vol.181.— P.852—857.
- Borland C., Cox Y., Higenbottam T. Measurement of exhaled nitric oxide in man // *Thorax*.— 1993.— Vol.48.— P.1160—1162.
- Alving K., Weitzberg E., Lundberg J.M. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics // *Eur. Respir. J.*— 1993.— Vol.6.— P.1268—1270.
- Kharitonov S.A., Yates D., Robbins R.A., Logan-Sinclair R., Shinebourne E., Bames P.J. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients // *Lancet*.— 1994.— Vol.343.— P.133—135.
- Persson M.G., Wikiund N.P., Gustafsson L.E. Endogenous nitric oxide in single exhalation, and the change during exercise // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1993.— Vol.148.— P.1210—1214.
- Persson M.G., Midtvedt T., Leone A.M., Gustafsson L.E. Ca<sup>2+</sup>-dependent and Ca<sup>2+</sup>-independent exhaled nitric oxide, presence in germ-free animals and inhibition by arginine analogues // *Eur. J. Pharmacol.*— 1994.— Vol.264.— P.13—20.
- Leone A.M., Gustafsson L.E., Francis P.L., Persson M.G., Wikiund N.P., Moncada S. Nitric oxide in exhaled breath in humans: direct GC-MS confirmation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1994.— Vol.201.— P.883—887.
- Persson M.G., Zetterstrom O., Argenius V., Ihre E., Gustafsson L.E. Singlebreath oxide measurements in asthmatic patients and smokers // *Lancet*.— 1994.— Vol.343.— P.146—147.
- Khahtonov S.A., Wells A.U., O'Connor B.J., Hansell D.M., Cole P.J., Bames P.J. Elevated levels of exhaled nitric oxide in bronchiectasis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1995.— Vol.151.— P.1889—1893.
- Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models // *FASEB J.*— 1993.— Vol.7.— P.349—360.
- Gerlach H., Rossaint R., Pappert D., Knorr M., Falke K.J. Autoinhalation of nitric oxide after endogenous synthesis in nasopharynx // *Lancet*.— 1994.— Vol.343.— P.518—519.
- Lundberg J.O.N., Weitzberg E., Norvall S.L., Kuyjenstiema R., Lundberg J.M., Alving K. Primarily nasal origin of exhaled nitric oxide and absence in Kartagennens syndrome // *Eur. Respir. J.*— 1994.— Vol.8.— P.1501—1504.
- Lundberg J.O.N., Farkas-Szaiasi T., Weitzberg E., Rinder J., Lidholm J., Anggard A. et al. High nitric oxide production in human paranasal sinuses // *Nature Med.*— 1995.— Vol.1.— P.370—373.
- Kimberley B., Nejadnik B., Giraud G.D., Hoiden We. Nasal contribution to exhaled nitric oxide at rest and during breath holding in humans // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1995.— Vol.152: (in press).
- Kharitonov S., Chung K.F., Evans D.J., Logan-Sinclair R., O'Connor B.J., Bames P.J. The elevated level of exhaled nitric oxide in asthmatic patients is mainly derived from the lower respiratory tract // *Ibid.*— 1996: (in press).
- Kharitonov S.A., Yates D., Bames P.J. Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections // *Eur. Respir. J.*— 1995.— Vol.8.— P.295—297.
- Kharitonov S.A., Lubec G., Lubec B., Hjeim M., Barnes P.J. L-Arginine increases exhaled nitric oxide in normal human subjects // *Clin. Sci.*— 1995.— Vol.88.— P.135—139.
- Schilling J., Holzer P., Guggenbach M., Gyurech D., Marathia K., Geroulanos S. Reduced endogenous nitric oxide in the exhaled air of smokers and hypertension // *Eur. Respir. J.*— 1994.— Vol.7.— P.467—471.
- Kharitonov S.F., Robbins R.A., Yates D., Keatings V., Barnes P.J. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1995.— Vol.152.— P.609—612.
- Buga G.M., Griseavage J.M., Rogers N.E., Ignarro L.J. Negative feedback regulations of endothelial cell function by nitric oxide // *Circ. Res.*— 1993.— Vol.73.— P.808—812.
- Assreuy J., Cunha F.Q., Liew F.Y., Moncada S. Feedback inhibition of nitric oxide synthase by nitric oxide // *Br. J. Pharmacol.*— 1993.— Vol.108.— P.833—837.
- Rengasamy A., Johns R.A. Regulation of nitric oxide synthase by nitric oxide // *Mol. Pharmacol.*— 1993.— Vol.44.— P.124—128.
- Jain B., Lubinstein I., Robbins R.A., Leise K.L., Sisson J.H. Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1993.— Vol.191.— P.83—88.
- Robbins R.A., Floreani A.A. van Essen S.G., Sisson J.H., Hill G.E., Rubenstein I. et al. Measurement of nitric oxide by three different techniques // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1995.— Vol.152: (in press).
- Massaro A.F., Gaston B., Kita D., Fanta C., Stamier J., Drazen J.M. Exhaled nitric oxide levels during treatment for acute asthma // *Ibid.*— P.800—803.
- Kharitonov S.A., O'Connor B.J., Evans D.J., Barnes P.J. Allergen-induced late asthmatic are associated with elevation of exhaled nitric oxide // *Ibid.*— Vol.151.— P.1894—1899.
- Endo T., Uchida Y., Nomura A., Ninomiya H., Sakamoto T., Hasegawa S. Increased production of nitric oxide on the immediate and late response models of quinea pig experimental asthma // *Ibid.*— P. A1 77.
- Kharitonov S.A., Evans D.L., Bames P.J., O'Connor B.J. Bronchial provocation challenge with histamine or adenosine 5' monophosphate does not alter exhaled nitric oxide in asthma // *Ibid.*— P. A1 25.
- Kharitonov S.A., Yates D., Robbins R.A., Logan-Sinclair R., Shinebourne E.A., Bames P.J. Endogenous nitric oxide is increased in the exhaled air of asthmatic patients // *Ibid.*— 1994.— Vol.149.— P. A1 98.
- Kharitonov S.A., Yates D.H., Bames P.J. Changes in the dose of inhaled budesonide affect exhaled nitric oxide levels in asthmatics // *Ibid.*— 1995.— Vol.151.— P. A 699.
- Cailes J.B., Kharitonov S., Yates D., Bames P., Du Bois R.M. Decreased endogenous nitric oxide in the exhaled air of systemic sclerosis patients // *Thorax*.— 1995.— Vol.50.— P.452 P.

40. *Giaid A., Saieh D.* Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension // *N. Engl. J. Med.*— 1995.— Vol.333.— P.214—221.
41. *Barnes P.J., Liu S.* Regulation of pulmonary vascular tone // *Physiol. Rev.*— 1995.— Vol.47.— P.87—118.
42. *Du Bois A.B., Douglas J.S., Leaderer B.P., Mohsenin V.* The presence of nitric oxide in the nasal cavity of normal humans // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1994.— Vol.149.— P.A1. 97.
43. *Heiss L.N., Lancaster J.R., Corbett J.A., Goldman W.E.* Epithelial autotoxicity of nitric oxide: role in the respiratory cytopathology of pertussis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1994.— Vol.91.— P.267—270.
44. *Vosswinkel R., Neidt I., Bothe H.* The production and utilization of nitric oxide by a new denitrifying strain of *Pseudomonas aeruginosa* // *Arch. Microbiol.*— 1991.— Vol.156.— P.62—69.
45. *Cannons A.C., Barber M.J., Solomonson L.P.* Expression and characterization of the home-binding domain of Chiorelia nitrate reductase // *J. Biol. Chem.*— 1993.— Vol.268.— P.3268—3271.
46. *Martin U., Bryden K., Devoy M., Howarth P.H.* Exhaled nitric oxide levels are increased in association with symptoms of seasonal and perennial rhinitis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1995.— Vol.151.— P.A128.
47. *Yates D.H., Kharitonov S.A., Robbins R.F., Thomas P.S., Barnes P.J.* Effect of a nitric oxide synthase inhibitor and a glucocorticosteroid on exhaled nitric oxide // *Ibid.*— Vol.152.— P.892—896.
48. *Kharitonov S.A., Yates D.H., Barnes P.J.* Inhaled budesonide decreases nitric oxide concentration in the exhaled air of asthmatic patients // *Ibid.*— 1996.— Vol.153.— P.454—457.
49. *Springall D.R., Meng Q., Redington A., Howarth P.H., Evans T.J., Polak J.M.* Inducible nitric oxide synthase in asthmatic airway epithelium os reduced by corticosteroid therapy // *Ibid.*— 1995.— Vol.151.— P.A 833.
50. *Garrelds I.M., van Amsterdam J.G.C., de Graaf-in't Veld C, van Wijk G., Zijistra M.N.* Nitric oxide metabolises in nasal ravage fluid of patients with house dust mite allergy // *Thorax.*— 1995.— Vol.50.— P.275—279.
51. *Yates D.H., Kharitonov S.A., Scott D.M., Worsdell M., Barnes P.J.* Short and long acting  $\beta_2$ -agonists do not alter exhaled nitric oxide in asthma // *Am. J. Respir. Crit. Care Ved.*— 1995.— Vol.151.— P.A 129.
52. *Laitinen L.A., Laitinen A., Hahtela T.* A comparative study of the effects of an inhaled corticosteroid, budesonide, and of  $\beta_2$ -agonist, terbutaline, on airway inflammation in newly diagnosed asthma // *J. Allergy Clin. immunol.*— 1992.— Vol.90.— P.32—42.
53. *Gardiner P.V., Ward C., Booth H., Allison A., Hendrick D.J., Waiters E.H.* Effect of eight weeks of treatment with saimeterol on bronchoalveolar lavage inflammatory indices in asthmatics // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1994.— Vol.150.— P.1006—1011.
54. *Yates D.H., Khahtonov S.A., Worsdell M., Thomas P.S., Barnes P.J.* Exhaled nitric oxide is decreased after inhalation of a specific inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in asthmatic but not in normal subjects // *Ibid.*— 1995.— Vol.151.— P.A 699.
55. *Haynes W.G., Noon J.P., Walker B.R., Webb D.J.* Inhibition of nitric oxide synthesis increases blood pressure in healthy humans // *J. Hypertens.*— 1993.— Vol.11.— P.1375—1380.
56. *Stammier J.S., Loh E., Roddy M., Currie X.E., Creager M.A.* Nitric oxide regulates broad systemic and pulmonary vascular resistance in normal humans // *Circulation.*— 1994.— Vol.89.— P.2035—2040.
57. *Misko T.P., Moore W.M., Kasten T.P. et al.* Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase by aminoguanidine // *Eur. J. Pharmacol.*— 1993.— Vol.233.— P.119—125.
58. *Hasan K., Heesen B.J., Corbett J.A. et al.* Inhibition of nitric oxide formation by guanidines // *Ibid.*— Vol.249.— P.101—106.
59. *Cremona G., Higenbottam T., Takao M., Hall L., Bower E.A.* Exhaled nitric oxide in isolated pig lungs // *J. Appl. Physiol.*— 1995.— Vol.78.— P.59—63.
60. *Shaul P.W., North A.J., Wu L.C. et al.* Endothelial nitric oxide synthase is expressed in cultured bronchiolar epithelium // *J. Clin. Invest.*— 1994.— Vol.94.— P.2231—2236.
61. *Asano K., Chee C.B.E., Gaston B. et al.* Constitutive and inducible nitric oxide synthase gene expression, regulation and activity in human lung epithelial cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1994.— Vol.91.— P.10089—10093.
62. *Beivisi M.G., Barnes P.J., Larkin S et al.* Nitric oxide synthase activity is elevated in inflammatory lung diseases // *Eur. J. Pharmacol.*— 1995: (in press).
63. *Robbins R.A., Springall D.R., Warren J.B. et al.* Inducible nitric oxide synthase is increased in murine lung epithelial ceits by cytokine stimulation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1994.— Vol.198.— P.1027—1033.
64. *Robbins R.A., Barnes P.J., Springall D.R. et al.* Expression of inducible nitric oxide synthase in human bronchial epithelial cells // *Ibid.*— Vol.203.— P.209—218.
65. *Gaston B., Reilly J., Drazen J.M. et al.* Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosoithiols in human airways // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1993.— Vol.90.— P.10957—10961.
66. *Liew F.Y., Cox F.F.* Nonspecific resistance mechanisms: the role of nitric oxide // *Immunol. Today.*— 1991.— Vol.12.— P.A17—A21.
67. *Wei X., Chades I.G., Smith A. et al.* Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase // *Nature.*— 1995.— Vol.375.— P.408—411.
68. *Belvisi M.G., Stretton C.D., Barnes P.J.* Nitric oxide is the endogenous neurotransmitter of bronchodilator nerves in human airways // *Eur. J. Pharmacol.*— 1992.— Vol.210.— P.221—222.
69. *Ward J.K., Beivisi M.G., Fox A.J. et al.* Modulation of cholinergic neural bronchoconstriction by endogenous nitric oxide and vasoactive intestinal peptide in human airways in vitro // *J. Clin. Invest.*— 1993.— Vol.92.— P.736—743.
70. *Hbgman M., Frostell C.G., Hedenstrbm H., Hedestiema C.* Inhalation of nitric oxide modulates adult human-bronchial tone // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1993.— Vol.148.— P 1474—1478.
71. *Sanna A., Kurtansky A., Veriter C., Stanescu D.* Bronchodilator effect of inhaled nitric oxide in healthy men // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*— 1994.— Vol.150.— P.1702—1709.
72. *Habib M.P., Clements N.C., Garewal H.S.* Cigarettw smoking and ethane exhalation in humans // *Ibid.*— 1995.— Vol.151.— P.1368—1372.
73. *Dohiman A.W., Black H.R., Royall J.A.* Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma // *Am. Rev. Respir. Dis.*— 1993.— Vol.148.— P.955—960.

Поступила 15.01.97.