

© Коллектив авторов, 2003

*Т.Г. Решетова, А.И. Рывкин, Н.С. Побединская, Е.Н. Ангрианова,  
Р.М. Ларюшкина, Вагаккаил Ассан, Е.Е. Стеблецова,  
О.В. Кузнецова, Т.В. Крупина*

### МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ЛЕГКИХ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ

Государственная медицинская академия, г. Иваново, РФ

**У 100 больных бронхиальной астмой изучены показатели функционального состояния сурфактанта, минерального баланса на клеточном, органном и организменном уровнях, концентрации макроэргов, продуктов оксида азота в различных биологических средах, уровень циркулирующих эндотелиоцитов во взаимосвязи с респираторной функцией легких. Наличие изменений изучаемых параметров, отражающих апоптотические процессы, в периоде ремиссии заболевания требует разработки новых методов лечения, направленных на устранение факторов, поддерживающих воспалительный процесс в респираторном тракте.**

**Authors studied parameters of surfactant functional state, state of mineral homeostasis in cells, in organs and in whole organism; macroergs concentration, level of nitrogen oxide products in different biological fluids; level of circulated endotelioocytes in correlation with lung respiratory function. Examination included 100 patients with bronchial asthma (BA). Presents in studied parameters changes in BA remission, reflected processes of apoptosis, proves the necessity of new therapeutic pathways for correction of factors maintaining inflammatory process in respiratory tract.**

Бронхиальная астма (БА) до настоящего времени остается актуальной проблемой клинической педиатрии, так как, несмотря на существенный прогресс в понимании ее сущности и возможности лечения, медицинская статистика свидетельствует об увеличении заболеваемости и смертности среди больных детей. Прогноз заболевания определяется адекватностью и своевременностью противовоспалительной терапии, которая необходима для предотвращения ремоделирования бронхов и формирования изменений в дыхательных путях.

В механизмах персистирующего течения БА существенная роль принадлежит респираторным и нереспираторным функциям легких, которые во многом зависят от состояния минерального гомеостаза, сурфактантной системы, активности воспалительного процесса. Взаимосвязь последних при данной патологии изучена недостаточно. В связи с этим нами предпринята попытка комплексного и многоуровневого изучения некоторых показателей газообменной и метаболической активности легких.

#### Материалы и методы исследования

Обследовано 100 детей 6—14 лет, страдающих БА. Диагноз ставили в соответствии с критериями, рекомендованными Национальной программой «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» (1998). Все дети были распределены по степени тяжести заболевания. 20% пациентов имели легкую БА, менее чем у половины обследованных (44%) диагностирована среднетяжелая БА. Тяжелая степень верифицирована у 36% больных. Контрольную группу составили 20 здоровых детей соответствующего возраста и пола.

Функциональное состояние легочного сурфактанта изучали по изменению фосфолипидного состава конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ). Липидный экстракт исследуемых сред получали по методу Фолча; разделение липидов на фракции осуществляли тонкослойной хроматографией на стандартных пластинах «Армсорб», «ТСХ-КСКГ-4Ф-254» [1]. Полученные данные сопоставляли с электролитным балансом, оцениваемым по уровню ионов кальция и цинка в эритроцитах, сыворотке крови и КВВ [2], состоянием адениловой системы крови [3], концентрацией стабильного продукта окисления оксида азота —

нитрит-иона ( $\text{NO}_2^-$ ) в эритроцитах, КВВ и цельной крови с использованием реактива Griess [4] и уровнем циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭ). Функцию внешнего дыхания (ФВД) определяли по данным прибора SPIROSIFT 3000 (Япония). Исследуемые легочные объемы и скоростные параметры оценивали в процентном выражении ФВД от должностных значений, что позволило сравнить проходимость воздухоносных путей и легочную вентиляцию у детей различного возраста и пола. Мукоцилиарный клиренс (МЦК) изучали путем регистрации времени перемещения крахмально-агарового геля с индикатором (1% водный раствор метиленового синего) по поверхности нижней носовой раковины от ее переднего конца до носоглотки [5].

### Результаты и их обсуждение

Как показали наши исследования, обострение БА сопровождалось (см. таблицу) дезорганизацией фосфолипидного слоя сурфактанта, катионным, энергетическим дисбалансом, гиперпродукцией оксида азота и повышением уровня ЦЭ. Выраженность отмеченных изменений зависела от тяжести заболевания.

Так, в КВВ выявлено снижение процентного содержания фосфатидилхолина (ФХ) — основного структурного компонента поверхностно-активной

выстилки легких, минимальное содержание которого отмечалось при тяжелом варианте заболевания (рис. 1). Уровни фосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина и сфингомиелина, наоборот, нарастали. Выявлялся фосфатидилсерин (ФС). Отмеченные изменения отражают асимметрию липидного слоя сурфактанта. Выраженное повышение уровня ФС в КВВ у больных с тяжелой БА, как мы полагаем, является следствием экспрессии данного фосфолипида на наружной поверхности клеточных мембран.

Развитие БА сопровождалось и нарушением баланса изучаемых электролитов, обусловленным внутри- и внеклеточным дефицитом цинка на фоне повышения содержания кальция в форменных элементах крови (рис. 2). Степень выраженности изменений зависела от тяжести заболевания. Минимальные отклонения внутриклеточных концентраций кальция и цинка зафиксированы при обострении легкой БА. Среднетяжелый и тяжелый приступы характеризовались максимально выраженными изменениями гомеостаза катионов.

Эндобронхиальный дисбаланс минералов при легком и среднетяжелом приступе характеризовался

Таблица

Показатели метаболической и респираторной функции легких в зависимости от периода бронхиальной астмы

Параметры		Контрольная группа (n=15)	Периоды бронхиальной астмы	
			обострение (n=56)	ремиссия (n=44)
Лизофосфатидилхолин, %		5,06±0,58	8,90±0,67 <sup>1)</sup>	5,28±0,72
Фосфатидилсерин, %		—	4,68±0,68	4,19±0,77
Сфингомиелин, %		4,90±0,87	13,40±0,87 <sup>1), 2)</sup>	6,71±0,96
Фосфатидилхолин, %		77,67±2,6	56,06±2,0 <sup>1), 2)</sup>	63,30±1,08
Фосфатидилэтаноламин, %		11,37±2,18	17,07±1,18 <sup>1)</sup>	15,99±2,31
КВВ	Цинк, мкмоль/л	18,43±1,5	9,67±0,76 <sup>1)</sup>	12,63±1,08 <sup>1)</sup>
	Кальций, ммоль/л	0,15±0,01	0,0148±0,01	0,145±0,012
Кровь	Цинк, мкмоль/л	25,77±1,67	18,33±1,35 <sup>1)</sup>	21,90±1,44
	Кальций, ммоль/л	2,38±0,09	2,41±0,08	2,41±0,12
Эритроцит	Цинк, мкмоль/л	317,6±15,3	258,97±10,54 <sup>1), 2)</sup>	300,0±20,19
	Кальций, ммоль/л	2,16±0,08	2,88±0,09 <sup>1), 2)</sup>	2,31±0,18
АМФ, ммоль/л		0,063±0,001	0,084±0,002 <sup>1), 2)</sup>	0,066±0,002
АДФ, ммоль/л		0,34±0,02	0,53±0,01 <sup>1), 2)</sup>	0,37±0,02
АТФ, ммоль/л		0,97±0,05	0,85±0,03 <sup>1), 2)</sup>	0,96±0,04
Нитританион, ммоль/л	КВВ	0,050±0,004	0,065±0,005 <sup>1), 2)</sup>	0,053±0,002
	Эритроцит	0,19±0,001	0,24±0,002 <sup>1), 2)</sup>	0,020±0,0015
	Кровь	0,012±0,002	0,031±0,002 <sup>1), 2)</sup>	0,015±0,001
ЦЭ, · 10 <sup>4</sup> /л		5,5±0,01	29,9±0,1 <sup>1), 2)</sup>	23,2±0,1 <sup>1)</sup>
МЦК, мин		10,9±0,8	25,1±0,7 <sup>1), 2)</sup>	17,6±0,4 <sup>1)</sup>

Достоверность различия показателей: <sup>1)</sup> при сравнении с контрольной группой, <sup>2)</sup> при сравнении с периодом ремиссии БА.

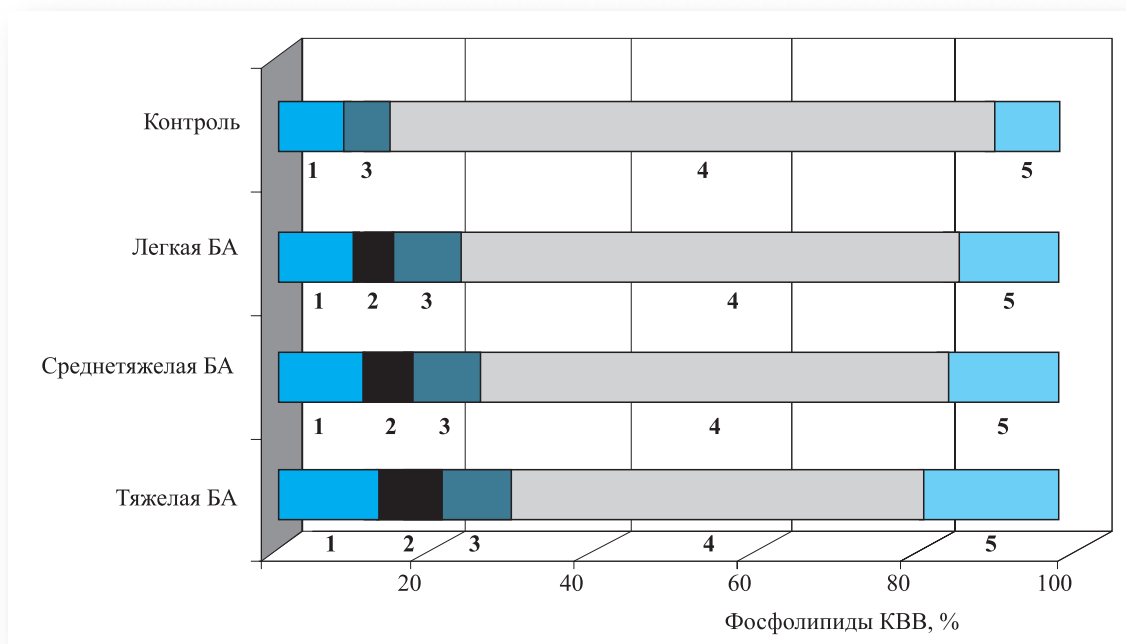


Рис. 1. Фосфолипидный спектр КВВ в периоде ремиссии БА в зависимости от степени тяжести заболевания.  
1 — ЛФХ, 2 — ФС, 3 — СМ, 4 — ФХ, 5 — ФЭА.

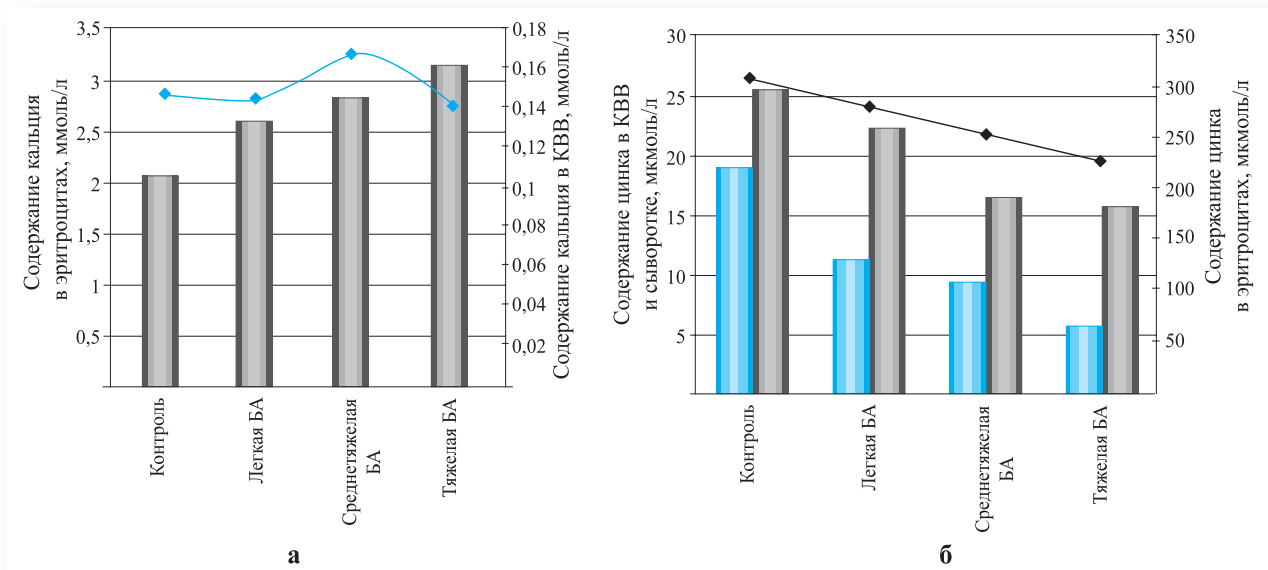


Рис. 2. Содержание кальция (а) и цинка (б) в КВВ, сыворотке крови и эритроцитах в периоде обострения БА в зависимости от степени тяжести заболевания.  
На рис. 2а: столбик — эритроцит, — КВВ; на рис. 2б: 1-й столбик — КВВ, 2-й столбик — сыворотка крови, — эритроцит.

снижением концентрации цинка и повышением кальция. При тяжелом приступе, наряду с отчетливым дефицитом цинка, выявлялся и дефицит кальция.

Изменения концентрации электролитов в клетке были сопряжены с повышенными энергозатратами, о чем свидетельствовали относительно высокие концентрации АМФ и АДФ и низкий уровень АТФ.

Обострение БА сопровождалось повышением концентрации нитрит-ионов в различных биологических средах, а также увеличением ЦЭ (рис. 3). В остром периоде легкой БА уровень нитрит-ионов в цельной крови и количество десквамированных эндотелиоцитов возрастали в 2 раза. Обострение заболевания средней степени тяжести характеризовалось увеличением концентрации нитрит-ионов

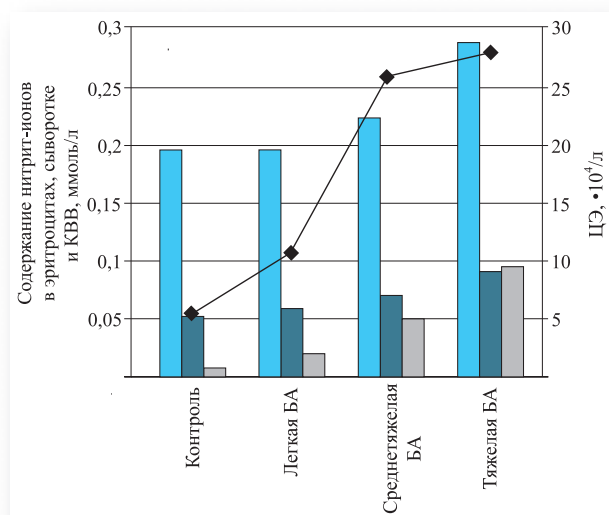


Рис. 3. Концентрация нитрит-ионов в различных биологических средах и уровень ЦЭ в периоде обострения БА в зависимости от степени тяжести заболевания. 1-й столбик — эритроцит, 2-й столбик — КВВ, 3-й столбик — сыворотка крови, ◆ — ЦЭ.

в КВВ, крови и эритроцитах, а также значительным повышением ЦЭ. Наконец, в остром периоде тяжелой БА регистрировалась наибольшая концентрация продуктов окисления оксида азота как внутри-, так и внеклеточная. Десквамация эндотелиальных клеток достигала максимальных значений.

Известно, что повышение эндобронхиального уровня ФС, внутриклеточных концентраций кальция, нитрит-ионов и увеличение ЦЭ, дефицит цинка и энергетических ресурсов являются маркерами апоптоза [6].

Причиной программированной гибели клеток при БА может служить их свободнорадикальное повреждение на фоне снижения уровня цинка и повышенной продукции оксида азота вследствие активации воспалительного процесса в бронхах. В результате изменяется липидный спектр биологических мембран с дефицитом ФХ и флип-флопом ФС, снижая барьерные свойства клеток и уменьшая продолжительность их жизни. В процессе регенерации тканей усиленно расходуется цинк, относящийся к ингибиторам апоптоза экзогенного происхождения, участвующий в синтезе нуклеиновых кислот и ферментов [6].

Кроме того, гиперпродукция оксида азота приводит к образованию пероксинитрита, который является мощным ДНК-расщепляющим агентом [7], что в сочетании с активацией свободнорадикального окисления приводит к увеличению апоптотизирующих клеток как бронхиальной, так и сосудистой стенки. Высокие концентрации нитрит-ионов в клетках через накопление внутриклеточного кальция и высвобождение гистамина и ацетилхолина способствуют развитию бронхоспазма и нарушению реологических свойств слизи дыхательных путей.

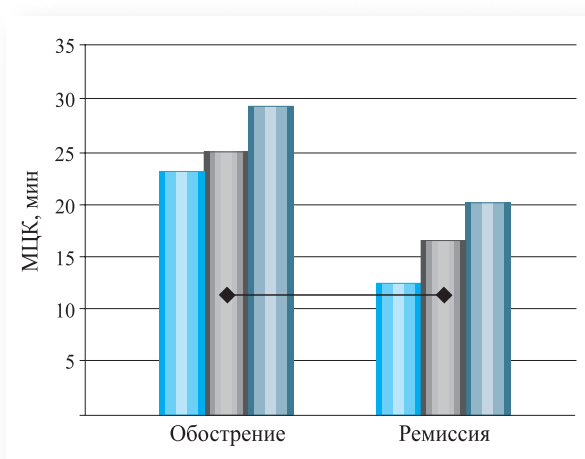


Рис. 4. Показатели мукоцилиарного клиренса в различные периоды БА в зависимости от степени тяжести болезни.

1-й столбик — легкая БА, 2-й столбик — среднетяжелая БА, 3-й столбик — тяжелая БА, ◆ — контроль.

Дисбаланс электролитов, гиперпродукция оксида азота и реорганизация фосфолипидного слоя были взаимосвязаны с угнетением МЦК (рис. 4). Направленность взаимосвязей концентраций макроэргов с показателями МЦК свидетельствовали о том, что у больных с легким и среднетяжелым вариантами заболевания имела место напряженная, но малоэффективная работа ресничек мерцательного эпителия, а у больных с тяжелой БА отмечалась декомпенсация эскалаторной функции бронхов на фоне повышенных энергетических затрат.

Выраженность отмеченных отклонений в периоде ремиссии уменьшалась, тем не менее сохранялись фосфолипидный, минеральный, энергетический дисбаланс, гиперпродукция оксида азота и эндотелиальная дисфункция, наиболее значимые у больных с тяжелой БА.

Наши исследования показали, что маркеры апоптоза (высокая эндобронхиальная концентрация ФС, внутриклеточная концентрация кальция, нитрит-ионов и ЦЭ, низкий внутриклеточный уровень цинка и макроэргов) имели отчетливую взаимосвязь с таким объективным с позиций доказательной медицины критерием тяжести БА, как  $ОФВ_1$ .

При легком и среднетяжелом вариантах заболевания изменение метаболической и респираторной функции не приводило к нарушению гомеостаза организма, в связи с чем отмеченные сдвиги можно расценивать как адаптивную реакцию в ответ на воспалительный процесс в бронхолегочной системе. Повышение внутриклеточного уровня кальция и нитрит-ионов, снижение цинка и макроэргов являются маркерами контролируемого апоптоза.

Нарушение вентиляционной функции легких, характеризующееся снижением показателей ФВД, угнетением МЦК в сочетании с метаболическими сдвигами (фосфолипидным, минеральным дисбалан-

сом на фоне повышенных энергетических затрат), является показателем дезадаптивной реакции организма у больных с тяжелой БА. Вероятно, выраженные изменения маркеров апоптоза, тесно коррелирующие с  $\text{ОФВ}_1$ , можно рассматривать в качестве критериев неконтролируемой клеточной гибели.

Таким образом, индукция чрезмерного апоптоза, связанная с активностью воспалительного процесса, ведущая к нарушению структуры и ремоделированию бронхолегочной системы, диктует необходимость разработки современных медицинских технологий, корригирующих выявленные сдвиги.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Покровская Е.А., Каргаполов А.В. // Лаб. дело. — 1972. — № 6. — С. 337—341.
2. Методические указания по применению унифицированных и лабораторных методов исследования. / Под ред. В.В. Меньшикова. — М., 1997. — С. 65—71.
3. Гущина Л.А., Кудрявцева Г.В., Макаров С.А., Стрижак И.Г. // Лаб. дело. — 1984. — № 4. — С. 223—225.
4. Фланаган Р.Дж., Брейтуэйт Р.А., Браун С.С. и др. Основы аналитической токсикологии. — ВОЗ, Женева, 1997. — 7 с.
5. Власова А.С. Применение лекарственных веществ на основе крахмально-агарового геля в диагностике заболеваний легких: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Иваново, 1991. — 22 с.
6. Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С. // Каз. мед. журнал. — 2000. — Т. 81, № 3. — С. 217—222.
7. Мохорт Т.В., Мельнов С.Б., Горанов В.А. // Пробл. эндокринологии. — 2000. — Т. 46, № 2. — С. 8—13.

© Коллектив авторов, 2003

*А.В. Богданова, Е.В. Бойцова, Г.Л. Мурыгина, Т.П. Сесь,  
Е.А. Суркова, Б.Г. Лисочкин, М.М. Голобородько*

### ОСОБЕННОСТИ МЕСТНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ХРОНИЧЕСКОМ БРОНХИОЛИТЕ У ДЕТЕЙ

НИИ пульмонологии им. акад. И.П. Павлова, Областная детская клиническая больница, Санкт-Петербург

Авторы провели обследование 57 детей 8—15 лет с хроническим бронхиолитом с облитерацией (ХБО) и 30 больных 9—14 лет с тяжелой бронхиальной астмой (БА). Оценивали характер воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева при цитологическом исследовании жидкости бронхоальвеолярного лаважа, а также при определении содержания в ней интерлейкинов  $1\beta$  (IL $1\beta$ ) и 8 (IL8), фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), активности эластазы (Э) и  $\alpha_1$ -ингибитора протеиназы ( $\alpha_1$ ИП). При ХБО выявлены нейтрофильно-лимфоцитарный тип воспаления с увеличением числа эозинофилов и повышение уровня TNF $\alpha$ , IL $1\beta$ , IL8, Э и  $\alpha_1$ ИП. При БА выявлены эозинофильно-лимфоцитарное воспаление с увеличением числа нейтрофилов и повышение концентрации изученных цитокинов, Э и  $\alpha_1$ ИП, значительно менее выраженное, чем у больных ХБО. Полученные результаты могут быть использованы при проведении дифференциальной диагностики БА и ХБО.

Authors examined 57 children in age 8—15 years old with chronic bronchiolitis with obliteration (CBO) and 30 children in the age 9—14 years old with severe bronchial asthma (BA). They studied character of bronchial mucosa inflammation by cytological examination of bronchial lavage fluid and also by determination of interleukines  $1\beta$  (IL $1\beta$ ) and 8 (IL8), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), elastase (E) and  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor ( $\alpha_1$ PI) in this fluid. CBO was characterized by neutrophilic and lymphocytic type of inflammation with increased eosinophiles number and increased level of TNF $\alpha$ , IL $1\beta$ , E and  $\alpha_1$ PI. BA was characterized by eosinophilic and lymphocytic type of inflammation with increased neutrophiles number; concentration of studied cytokines and E and  $\alpha_1$ PI activity were increased significantly more than in CBO cases. These results can be used for CBO and BA differential diagnosis.

Хронический бронхиолит с облитерацией (ХБО) и тяжелая бронхиальная астма (БА) рассматриваются как формы хронической обструктивной патологии легких в детском возрасте. При проведении дифференциальной диагностики тяжелых вариантов БА, характеризующейся персистирующим,

плохо контролируемым воспалением в бронхах, и ХБО возникают значительные трудности, что связано не только с определенным клиническим сходством этих заболеваний, но и с недостаточной изученностью особенностей местного воспаления при них.