

СОДЕРЖАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В КОНДЕНСАТЕ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ КОНТРОЛЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

УДК 612.014.464:616.248—053.2/.5

Поступила 25.06.2010 г.

Т.И. Елисеева, к.м.н., доцент¹;Ю.С. Кульпина, интерн фармацевтического факультета¹;С.К. Соодаева, д.м.н., профессор, зав. лабораторией клинической и экспериментальной биофизики²;Н.И. Кубышева, к.б.н., зав. лабораторией иммунологии³¹Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород;²НИИ пульмонологии ФМБА России, Москва;³Детская городская клиническая больница №27, Н. Новгород

Цель исследования — установить закономерности изменения содержания метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) у детей с различным уровнем контроля бронхиальной астмы, оцененного с использованием дневной и недельной шкал ACQ (Asthma Control Questionnaire).

Материалы и методы. Проанализировано суммарное содержание нитритов и нитратов в конденсате выдыхаемого воздуха у 61 ребенка с различным уровнем контроля бронхиальной астмы, у части из них — в динамике заболевания.

Результаты. У пациентов с абсолютным и полным контролем бронхиальной астмы, не получавших терапию глюкокортикостероидами, суммарное содержание метаболитов оксида азота в КВВ было достоверно выше, чем у пациентов, получавших эту терапию. Установлена достоверная зависимость между суммарным содержанием метаболитов оксида азота в КВВ и уровнем контроля бронхиальной астмы у пациентов, получающих однотипную терапию (с включением глюкокортикостероидов).

Ключевые слова: нитриты, нитраты, конденсат выдыхаемого воздуха, контроль бронхиальной астмы, тест ACQ.

English

Content of the nitrogen oxide metabolites in a condensate of exhaling air in children with a bronchial asthma control different level

T.I. Eliseeva, c.m.s., assistant professor¹;Yu.S. Kulpina, intern of a pharmaceutical faculty¹;S.K. Soodaeva, M.D., professor, head of a clinical and experimental biophysics laboratory²;N.I. Kubysheva, c.b.s., head of immunology laboratory³¹Nizhny Novgorod state medical academy, N. Novgorod;²SRI of pulmonology of the FMBA of Russia, Moscow;³Infantile city clinical hospital №27, N. Novgorod

Aim of investigation is establishment of regularity of the nitrogen oxide metabolite content change in the exhaling air condensate (EAC) in children with a bronchial asthma control different level, assessed with a use of the ACQ day and week scales (Asthma Control Questionnaire).

Materials and methods. A summarized content of nitrites and nitrates in the exhaling air condensate in 61 infants with a bronchial asthma control different level is analyzed; it is analyzed in a disease dynamics in a part of them.

Results. A summarized content of the nitrogen oxide metabolites in the EAC in patients with an absolute and full control of a bronchial asthma, not receiving the glucocorticosteroid therapy, was trustworthy higher than in patients, receiving that therapy. A trustworthy dependence between a summarized content of the nitrogen oxide metabolites in the EAC and a level of a bronchial asthma control in patients, receiving a similar therapy (with the glucocorticosteroid inclusion), is established.

Key words: nitrites, nitrates, exhaling air condensate, control of a bronchial asthma, ACQ test.

Для контактов: Елисеева Татьяна Ивановна, тел. моб +7 920-291-15-87; e-mail: ignatov@ichem.unn.ru.

Согласно современным согласительным документам, бронхиальная астма (БА) — хроническое заболевание респираторного тракта, целью терапии которого является контроль симптомов заболевания [1, 2]. Оценка уровня контроля, достигнутого в ходе терапии, рассматривается многими исследователями в качестве одной из важнейших проблем астмологии [3, 4]. В настоящее время диагностика контроля астмы базируется прежде всего на субъективной оценке клинических симптомов, в связи с чем активно ведется поиск объективных критериев контроля данного заболевания [3]. Особое внимание при этом уделяется методам детекции воспаления в шоковом органе (в респираторном тракте), так как именно воспаление, по мнению современных исследователей, лежит в основе патогенеза данного заболевания [5, 6]. Купирование воспаления рассматривается в качестве одной из целей терапии астмы и в качестве основного способа достижения контроля [7]. По заключению «Брюссельской декларации» [8], в настоящее время многие пациенты имеют неконтролируемое или плохо контролируемое течение заболевания. В том же документе отмечается, что имеется необходимость улучшения диагностики воспалительного компонента с целью оптимизации проведения последующей противовоспалительной терапии в условиях реальной клинической практики [8].

Среди потенциальных маркеров воспаления дыхательных путей при БА особое место занимают оксид азота (NO) и стабильные продукты его метаболизма, в частности нитриты и нитраты. Современными исследованиями продемонстрировано, что содержание NO в выдыхаемом воздухе и его стабильных метаболитов в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) отражает особенности воспалительного процесса в дыхательных путях [9—13]. В связи с этим многие авторы рассматривают определение NO в выдыхаемом воздухе в качестве потенциального метода объективизации уровня контроля БА [14, 15]. Однако в последнее время появляются работы, в которых возможности метода мониторинга NO для контроля астмы оцениваются критически [16, 17]. В основном это связано с недопониманием свободно-радикальной природы NO и особенностей его метаболизма. В настоящее время установлено, что более точная оценка свободно-радикальных процессов в организме может быть проведена на основе определения суммарного содержания стабильных метаболитов NO, к числу которых относятся нитриты и нитраты жидких субстратов и тканей воздушных путей, обнаруживаемые в КВВ человека.

Определению стабильных метаболитов оксида азота (нитратов и нитритов) в выдыхаемом воздухе у пациентов с астмой с целью контроля заболевания посвящены единичные исследования [18, 19]. В настоящей работе предпринимается попытка исследования суммарного содержания метаболитов оксида азота в КВВ пациентов детского возраста с различным уровнем контроля БА и определения потенциальной значимости данного метода для объективизации уровня контроля бронхиальной астмы.

Цель исследования — установить закономерности

изменения суммарного содержания метаболитов оксида азота в КВВ у детей с различным уровнем контроля бронхиальной астмы.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе аллергологического отделения Детской городской клинической больницы №1 Н. Новгорода. Обследован 61 ребенок с БА в возрасте от 6 до 17 лет. Все дети получали лечение в связи с обострением заболевания, недостаточным уровнем контроля его в амбулаторных условиях, а также в связи с проведением аллергенспецифической иммунотерапии. 20 пациентов обследовано в динамике с интервалом 10 дней (всего выполнено 81 исследование). Верификация диагноза проводилась с учетом рекомендаций Национальной программы «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» [1]. Среди обследованных пациентов 22 ребенка не получали терапии ингаляционными (и/или системными) глюкокортикостероидами (ГКС) — «стероид-наивные» пациенты, 39 пациентов получали терапию ингаляционными ГКС, часть пациентов по поводу купирования обострений БА получали и системные ГКС коротким курсом парентерально.

Помимо стандартного общеклинического, функционального и аллергологического обследования у пациентов был оценен уровень контроля БА по тесту ACQ (укороченная версия) [20] и измерено суммарное содержание нитратов и нитритов в КВВ [12, 21]. Тест ACQ выполнялся по двум вариантам опросника, первый из которых позволял оценить субъективное восприятие симптомов астмы в течение предшествующей недели, второй — в течение предшествующих суток. При значении теста <0,7 балла астма рассматривалась как хорошо контролируемая, при значении теста >1,5 балла — как неконтролируемая, при значениях теста от 0,7 до 1,5 балла — как недостаточно контролируемая [20]. В отдельную группу — абсолютного контроля заболевания — были выделены дети, не имевшие на момент осмотра никаких жалоб (0,0 балла по шкале ACQ).

Сбор конденсата выполнялся в утренние часы с использованием устройства сбора КВВ R-tube (Respiratory Research, США), исключающего загрязнение собираемого конденсата слюной (рис. 1).



Рис. 1. Процедура сбора конденсата выдыхаемого воздуха с использованием устройства R-tube

Определение суммарного содержания стабильных метаболитов оксида азота (нитритов и нитратов) в КВВ проводили фотометрическим методом Грисса—Илосвая в модификации И.А. Климанова и С.К. Соодаевой [12, 22]. Статистический анализ выполнен с использованием программы Statgraphics, v. 5.

Результаты и обсуждение. Данные исследования суммарного содержания нитритов и нитратов в КВВ у пациентов с различным уровнем контроля БА без учета проводимой терапии (табл. 1, 2) демонстрируют, что при группировке пациентов по уровню контроля, оцененного с использованием недельной шкалы АСQ, различий в суммарном содержании нитритов и нитратов в КВВ не обнаруживается (табл. 2). При группировке пациентов с использованием дневной шкалы АСQ (симптомы БА в течение предшествующих суток) выявляется определенная тенденция к прогрессивному повышению суммарного содержания нитритов и нитратов в КВВ по мере снижения уровня контроля (табл. 1).

Результаты многочисленных исследований показывают, что метаболизм оксида азота у пациентов с астмой во многом зависит от проведения противовос-

палительной терапии, в частности от применения ГКС. Установлено, что под влиянием терапии ГКС уровень оксида азота в выдыхаемом воздухе и его метаболитов в КВВ снижается вследствие ингибирующего их влияния на индуцируемую NO-синтазу [19, 23—25].

В связи с этим проведен анализ суммарного содержания метаболитов оксида азота в КВВ у пациентов с астмой с учетом проводимой терапии. При формировании когорты больных были выделены: 1) группа пациентов, в момент обследования которых ГКС в терапии заболевания еще не использовались («стероид-наивные» пациенты), и 2) группа пациентов, в терапии которых использованы ингаляционные ГКС, у части пациентов — в сочетании с системными (парентерально вводимыми).

Анализ уровня контроля БА у пациентов обеих групп продемонстрировал, что все дети, не получавшие в процессе терапии ГКС, имели абсолютный или полный контроль заболевания (вследствие этого они, возможно, и получали более мягкий вариант базисной терапии).

На основании этих данных проведено сравнение суммарного содержания нитритов и нитратов в КВВ у

Таблица 1

Суммарное содержание нитритов и нитратов в КВВ у пациентов с различным уровнем контроля БА, оцененного по дневной шкале АСQ, мкмоль/л

Характеристики	Уровень контроля/уровень АСQ, баллы			
	1/0,0 (n=30)	2/0,0—0,75 (n=39)	3/0,75—1,5 (n=6)	4/>1,5 (n=4)
Среднее	4,83	6,02	7,48	7,55
Стандартное отклонение	2,78	2,41	3,04	3,61
Минимум—максимум	1,5—13,3	2,8—11,7	4,6—13,2	5,0—10,1
Статистика (ANOVA)	F=2,56; p=0,061			

Таблица 2

Суммарное содержание нитритов и нитратов в КВВ у пациентов с различным уровнем контроля БА, оцененного по недельной шкале АСQ, мкмоль/л

Характеристики	Уровень контроля/уровень АСQ, баллы			
	1/0,0 (n=15)	2/0,0—0,75 (n=39)	3/0,75—1,5 (n=6)	4/>1,5 (n=4)
Среднее	5,02	5,50	6,39	6,52
Стандартное отклонение	2,47	2,82	2,58	2,62
Минимум—максимум	2,1—11,1	1,5—13,3	2,1—11,1	4,0—13,2
Статистика (ANOVA)	F=1,09; p=0,36			

Таблица 3

Сопоставление суммарного содержания нитритов и нитратов в КВВ у пациентов с абсолютным и полным контролем астмы с учетом характера терапии, n — количество исследований

Терапия	Контроль абсолютный		Контроль полный	
	NO ₂ +NO ₃ , мкмоль/л	Статистика	NO ₂ +NO ₃ , мкмоль/л	Статистика
АСQ день				
Без ГКС	6,30±2,95 (n=15)	T=3,35; p=0,003	6,36±2,82 (n=27)	T=2,40; p=0,019
С ГКС	3,37±1,66 (n=15)		4,92±2,24 (n=45)	
АСQ неделя				
Без ГКС	5,64±2,50 (n=10)	T=3,24; p=0,008	6,23±2,77 (n=25)	T=2,37; p=0,022
С ГКС	2,88±0,64 (n=4)		4,58±2,35 (n=29)	

«стероид-наивных» пациентов с абсолютным/полным контролем БА и пациентов с абсолютным/полным контролем БА, получавших ингаляционные ГКС (табл. 3). Установлено, что как при абсолютном, так и при полном контроле БА, оцененной как по дневной, так и по недельной шкалам АСQ, уровень суммарного содержания нитритов и нитратов в КВВ был достоверно выше у пациентов, не получавших ГКС, по сравнению с пациентами другой группы.

Полученные результаты согласуются с литературными данными [9, 12], свидетельствующими о том, что метаболизм оксида азота под влиянием терапии ГКС в значительной степени редуцируется.

Отметим, что при сопоставлении уровней метаболитов оксида азота у пациентов с БА обязательным является учет характера проводимой терапии.

Анализ индивидуальных значений суммарного содержания метаболитов оксида азота в КВВ у пациентов с астмой, имевших в момент обследования абсолютный уровень контроля заболевания по шкале «АСQ-день» (с учетом проводимой терапии), показал, что у «стероид-наивных» пациентов разброс индивидуальных значений суммарного содержания составил от 2,7 до 13,3 мкмоль/л (рис. 2). Этот факт свидетельствует, что абсолютный контроль заболевания возможен и при достаточно высоком содержании метаболитов оксида азота в КВВ. С одной стороны, это может отражать сохраняющуюся персистенцию аллергического воспаления в дыхательных путях данных пациентов. Однако, с другой стороны, это может свидетельствовать о включении в процесс компенсационных механизмов, механизмов саморегуляции, эндогенной бронхорелаксации за счет бронхорасширяющего действия оксида азота и его метаболитов. Полученные данные в определенной степени согласуются с результатами исследований И.А. Климанова, продемонстрировавшего рост содержания метаболитов оксида азота в КВВ у пациентов с астмой на фоне улучшения харак-

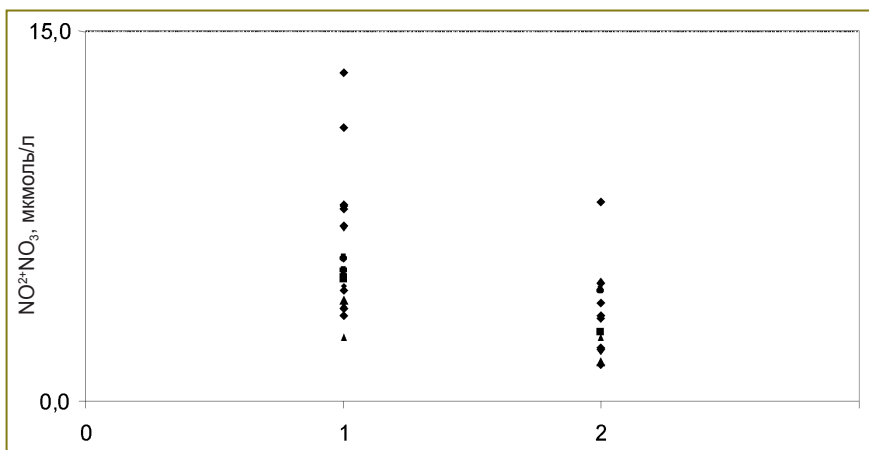


Рис. 2. Сопоставление индивидуальных параметров суммарного содержания нитритов и нитратов в КВВ у пациентов с БА, получающих ГКС (2) и не получающих ГКС (1), в период абсолютного контроля БА, оцененного по дневной шкале АСQ (АСQ-день составляет 0,0 баллов)

теристик контроля БА в процессе проведения реабилитационной терапии [12]. Индивидуальные значения суммарного содержания нитратов и нитритов в КВВ у пациентов с абсолютным контролем БА на фоне терапии ингаляционными ГКС преимущественно не превышают 6,0 мкмоль/л.

Пациенты, получавшие в составе комплексной терапии ГКС, имели разный уровень контроля, что позволило сопоставить у них суммарное содержание нитритов и нитратов (табл. 4 и 5).

У пациентов с различным уровнем контроля БА, однородных по характеру проводимой терапии, суммарное содержание нитритов и нитратов в КВВ имеет достоверные различия (табл. 6). При этом в целом у пациентов с абсолютным/полным уровнем контроля суммарное содержание нитритов и нитратов в КВВ достоверно ниже, чем у пациентов с неполным уровнем контроля или с его отсутствием. Данные закономерности характерны как при группировке пациентов по уровню контроля с использованием дневной шкалы АСQ, так и при группировке пациентов с использованием недельной шкалы АСQ.

Обращает на себя внимание отсутствие достоверных различий суммарного содержания нитритов и нитратов в КВВ между группами пациентов с непол-

Таблица 4

Суммарное содержание нитритов и нитратов в КВВ у пациентов с различным уровнем контроля БА на фоне терапии ингаляционными ГКС, оцененного по дневной шкале АСQ, мкмоль/л

Характеристики	Уровень контроля/уровень АСQ, баллы			
	1/0,0 (n=15)	2/0,0–0,75 (n=30)	3/0,75–1,5 (n=7)	4/>1,5 (n=4)
Среднее	3,37	5,69	7,97	7,55
Стандартное отклонение	1,66	2,11	3,06	3,61
Минимум—максимум	1,6—8,1	2,8—11,1	4,6—13,2	5,0—10,1
95% доверительный интервал	2,57—4,17	5,12—6,25	6,80—9,14	5,36—9,73
Статистика (ANOVA)	F=8,41; p=0,0001			

Таблица 5

Суммарное содержание нитритов и нитратов в КВВ у пациентов с различным уровнем контроля БА на фоне терапии ингаляционными ГКС, оцененного по недельной шкале ACQ, мкмоль/л

Характеристики	Уровень контроля/уровень ACQ, баллы			
	1/0,0 (n=4)	2/0,0–0,75 (n=24)	3/0,75–1,5 (n=13)	4/>1,5 (n=13)
Среднее	2,88	4,65	6,48	6,52
Стандартное отклонение	0,64	2,26	2,67	2,62
Минимум—максимум	2,1—3,4	1,6—9,6	2,1—11,1	4,0—13,2
95% доверительный интервал	2,20—4,54	3,96—5,35	5,53—7,42	5,57—7,46
Статистика (ANOVA)	F=4,08; p=0,0115			

Таблица 6

Статистическая значимость различий суммарного содержания нитритов и нитратов в КВВ у пациентов с различным уровнем контроля БА, оцененного по дневной шкале ACQ (в числителе) и по недельной шкале ACQ (в знаменателе), на фоне терапии ингаляционными ГКС

Группы	Кoeffициент межгруппового различия (предел по Multiple Range Test)	Достоверность различия между группами
1—2	2,31 (1,38)/1,82 (2,57)	+/-
1—3	4,59 (2,00)/3,60 (2,72)	+/+
1—4	4,18 (3,29)/3,64 (2,72)	+/+
2—3	2,29 (1,84)/1,78 (1,64)	+/+
2—4	1,86 (3,19)/1,82 (1,64)	-/+
3—4	0,42 (3,51)/0,04 (1,87)	-/-

ным контролем и отсутствием контроля БА при оценке как по дневной, так и по недельной шкалам ACQ. При этом у пациентов с частичным контролем БА при оценке по дневной шкале ACQ среднее значение суммарного содержания нитратов и нитритов в КВВ даже чуть выше, чем у пациентов с отсутствием контроля БА. Схожие закономерности были отмечены И.А. Климановым с соавт., обратившими внимание на то, что у пациентов с тяжелым течением БА уровень метаболитов оксида азота в КВВ ниже, чем у пациентов с более легким течением заболевания [12].

Заключение. Суммарное содержание нитритов и нитратов в конденсате выдыхаемого воздуха у детей с бронхиальной астмой зависит от варианта проводимой терапии (наличие/отсутствие глюкокортикостероидов), что должно быть учтено при оценке результатов подобных исследований.

У пациентов, получающих однотипную терапию, установлена зависимость между суммарным содержанием метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха и уровнем контроля заболевания, оцененного по дневной и недельной шкалам ACQ. Это свидетельствует о том, что определение уровня суммарной концентрации нитритов и нитратов в конденсате выдыхаемого воздуха может быть использовано для дополнительной характеристики и объективизации

уровня контроля бронхиальной астмы, получения «патогенетического портрета» пациента.

Литература

1. Национальная программа. Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика. М: Русский врач, 2008.
2. GINA Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2007 г.). М: Атмосфера; 2008.
3. Hanania N.A. Revisiting asthma control: how should it best be defined? *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2007; 20(5): 483—492.
4. Ильина Е.В., Курбачева О.М., Ильина Н.И. Способы оценки контроля бронхиальной астмы. *Российский аллергологический журнал* 2009; 2: 6—17.
5. Bousquet J., Jeffery P.K., Busse W.W. et al. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1720—1745.
6. Jeffery P.K., Haahtela T. Allergic rhinitis and asthma: inflammation in a one-airway condition. *BMC Pulmonary Medicine* 2006; 6(Suppl. 1): 1—12.
7. Barnes P.J. How corticosteroids control inflammation: Quintiles prize lecture 2005. *Br J Pharmacol* 2006; 148(3): 245—254.
8. Holgate S., Bisgaard H., Bjermer L., Haahtela T., Haughney J., Horne R., Mclvor A., Palkonen S., Price D.B., Thomas M., Valovirta E., Wahn U. The Brussels Declaration: the need for change in asthma management. *Eur Respir J* 2008; 32: 1433—1442.
9. Barnes P.J., Liew F.Y. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Today* 1995; 16(3): 128—130.
10. Ganas K., Loukides S., Papatheodorou G., Panagou P., Kalogeropoulos N. Total nitrite/nitrate in expired breath condensate of patients with asthma. *Respir Med* 2001; 95(8): 649—654.
11. Ojoo J.C., Mulrennan S.A., Kastelik J.A., Morice A.H., Redington A.E. Exhaled breath condensate pH and exhaled nitric oxide in allergic asthma and in cystic fibrosis. *Thorax* 2005; 60(1): 22—6.
12. Климанов И.А. Изучение метаболизма оксида азота при бронхиальной астме. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М; 2006.
13. Геппе Н.А., Соодаева С.К., Белоусова Е.Г., Клима-

- нов И.А., Сафронова А.Н., Бабушкина Н.Г. Оксид азота как маркер воспаления при бронхиальной астме. Вопросы практической педиатрии 2007; 2(4): 27—31.
14. Baraldi E., Carraro S. Exhaled NO and breath condensate. Paediatr Respir Rev 2006. 7(Suppl 1): S20—S22.
 15. Lim K.G., Mottram C. The use of fraction of exhaled nitric oxide in pulmonary practice. Chest 2008; 133(5): 1232—1242.
 16. Jones S.L., Kittelson J., Cowan J.O., Flannery E.M., Hancock R.J., McLachlan C.R., Taylor D.R. The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control. Am J Respir Crit Care Med 2001; 164(5): 738—743.
 17. de Jongste J.C., Carraro S., Hop W.C., Baraldi E. Daily telemonitoring of exhaled nitric oxide and symptoms in the treatment of childhood asthma. Am J Respir Crit Care Med 2009; 179(2): 93—97.
 18. Ratnawati, Morton J., Henry R.L., Thomas P.S. Exhaled breath condensate nitrite/nitrate and pH in relation to pediatric asthma control and exhaled nitric oxide. Pediatr Pulmonol 2006; 41(10): 929—936.
 19. Козырицкая Д.В. Клиническое значение метаболитов оксида азота при бронхиальной астме у детей. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск; 2007.
 20. Juniper E.F., Bousquet J., Abetz L., Bateman E.D. Identifying «well-controlled» and «not well controlled» asthma using the asthma control questionnaire. Respiratory Medicine 2006; 100: 616—621.
 21. Климанов И.А., Соодаева С.К., Лисица А.В., Чучалин А.Г. Изменения метаболизма оксида азота при поллинозе и бронхиальной астме. Пульмонология 2006; 4: 30—38.
 22. Griess P. Bemerkungen zu der Abhandlung der HH. Wesselky und Benedikt «Ueber einige Azoverbindungen». Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft 1879; 12: 426—428.
 23. Kharitonov S.A., Yates D.H., Barnes P.J. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. Am J Respir Crit Care Med 1996; 153(1): 454—457.
 24. Smith A.D., Cowan J.O., Brassett K.P., Filsell S., McLachlan C., Monti-Sheehan G., Peter Herbison G., Robin Taylor D. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. Am J Respir Crit Care Med 2005; 172(4): 453—459.
 25. Огородова Л.М. Определение содержания оксида азота в дыхательных путях для оценки эффективности различных подходов к стартовой фармакотерапии при среднетяжелом течении бронхиальной астмы у детей. Педиатрическая фармакология 2003; 1(4): 18—20.