

# Динамика биомаркеров оксидативного стресса у пациентов с бронхиальной астмой при ингаляционной терапии фосфолипидными наночастицами

✉ А.В. Лисица<sup>1</sup>, С.К. Соодаева<sup>2</sup>, И.А. Климанов<sup>2</sup>, А.В. Аверьянов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий, Москва

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт пульмонологии, Москва

Проведено проспективное простое слепое рандомизированное плацебоконтролируемое исследование по оценке динамики биомаркеров оксидативного стресса (суммарная концентрация нитрат- и нитрит-анионов в конденсате выдыхаемого воздуха и плазме крови, рН конденсата выдыхаемого воздуха, общая антиоксидантная активность плазмы крови) на фоне ингаляционного введения фосфолипидных наночастиц у пациентов с бронхиальной астмой. Полученные данные свидетельствуют о статистически значимом положительном влиянии предложенного метода терапии на динамику основных показателей оксидативного стресса у больных: снижение концентрации метаболитов оксида азота и повышение общей антиоксидантной активности плазмы крови. Клинически значимых нежелательных явлений в ходе исследования зарегистрировано не было.

*Ключевые слова:* бронхиальная астма, фосфолипидные наночастицы, оксидативный стресс, репарация мембран, суммарная концентрация нитрат- и нитрит-анионов в конденсате выдыхаемого воздуха и плазме крови, рН конденсата выдыхаемого воздуха, общая антиоксидантная активность плазмы крови.

## Введение

В настоящее время воздействие **активных форм кислорода (АФК)** и активных форм азота считают универсальным механизмом повреждения как белковых, так и липидных структурных компонентов клетки [1]. Они образуются в ходе окисления различных биологических молекул (в первую очередь фосфолипидов), повреждения внеклеточного матрикса, инактивации защитных свойств основных антиоксидантных систем [2].

Основными естественными антиоксидантами, в норме присутствующими в любой клетке любой ткани организма, являются [3]:

1) ферментные антиоксиданты: супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазы, глутатионредуктаза и восстановленный глутатион;

2) макромолекулярные неферментативные компоненты: трансферрин, церулоплазмин и другие белки, способные связывать ионы железа;

3) низкомолекулярные компоненты: стероидные гормоны, витамины А, Е, К, С, убихинон, биофлавоноиды.

При развитии воспалительного процесса естественная антиоксидантная система часто оказывается перегруженной и буквально “захлебывается” лавиной свободных радикалов. Такое состояние называется оксидативным стрессом. Оксидативный стресс представляет собой важнейшее

*Контактная информация:* Лисица Александр Валерьевич, afox03@mail.ru



Рис. 1. Схема сбора КВВ.

звено в молекулярном механизме развития многих хронических воспалительных заболеваний, в том числе **бронхиальной астмы** (БА) [4].

Наиболее значимыми АФК являются: пероксид водорода ( $H_2O_2$ ), супероксид-анион ( $O_2^-$ ), гидроксил-радикал ( $OH^-$ ) и некоторые другие, приводящие к наиболее существенным повреждениям биомолекул [5].

Повреждения структуры биомембран и нарушение функции большинства транс- и околочембранных белков (ферментов, рецепторов, транспортных и др.) нарушают нормальное течение многих внутри- и внеклеточных обменных процессов и функционирование клетки в целом [6]. Механизмы повреждения мембранных ферментов включают как повреждение самой белковой молекулы, так и ее микроокружения. Вызванное окислительным повреждением ингибирование активности мембранных ферментов усугубляется изменениями физико-химических свойств липидного бислоя.

Доказано, что введение липосом из фосфатидилхолина способствует стабилизации липидного матрикса мембран, замедлению инактивации цитохрома P450, нормализации его активности, восстановлению активности глюкозо-6-фосфатазы и снижению скорости развития некротических процессов [7, 8].

Что касается изучения системы цитохрома P450 в легких, то в настоящее время всё большее внимание специалистов, занимающихся проблемами диагностики и мониторинга легочных заболеваний, привлекает

изучение **конденсата выдыхаемого воздуха** (КВВ) [9, 10].

В составе КВВ на сегодняшний день достоверно идентифицировано более 100 соединений, в той или иной степени являющихся маркерами патологических процессов, происходящих в различных отделах бронхолегочной системы. С появлением новых методик и повышением их чувствительности число этих маркеров стремительно увеличивается. Исследование КВВ подразумевает использование неинвазивной методики сбора КВВ, которая необременительна как для пациента, так и для медицинского персонала [11].

В КВВ можно оценить содержание NO, определив его более стабильные метаболиты, такие как нитрат- и нитрит-анионы, 3-нитротирозин, нитрозотиолы. Нитрат- и нитрит-анионы являются наиболее стабильными из указанных метаболитов. Метаболизм оксида азота и метаболизм кислородных радикалов имеют общие точки соприкосновения, что влияет на концентрации определяемых молекул [12].

## Методы исследования

Для сбора КВВ наиболее широко используются коммерческие устройства — конденсор ECoScreen (Erich Jaeger, Германия) и трубка R-tubes (Respiratory Research Inc., Charlottesville, США), в то время как некоторые лаборатории используют свои оригинальные аппараты.

Использование коммерческих моделей оказывается оптимальным, так как позволяет избежать потенциальных проблем при использовании различных устройств. Они имеют однонаправленный клапан, который предотвращает случайное попадание охлажденного воздуха из конденсора при вдохе (рис. 1). Аппарат должен быть снабжен ловителем слюны с ротовым загубником, который имеет входную (ингаляционную) и выходную части.

Использование фильтра не рекомендуется, так как он может стать ловушкой мо-

лекул в выдыхаемом воздухе [13]. Наличие одностороннего клапана и сбор КВВ с использованием одноразовых устройств ограничивает риск инфекции (см. рис. 1).

В настоящем исследовании был использован аппарат для сбора КВВ R-tubes (Respiratory Research Inc., Charlottesville, США).

Сбор КВВ является безопасным методом получения информации о состоянии респираторного тракта. В 10000 измерений, выполненных в различных лабораториях с применением разных устройств и способов, никаких нежелательных явлений зафиксировано не было. До сих пор не было отмечено побочных эффектов у пациентов с тяжелым течением или обострением хронической обструктивной болезни легких [14, 15].

Сбор КВВ имеет преимущества перед получением бронхоальвеолярного лаважа, так как является неинвазивным методом. Кроме того, отсутствует необходимость введения лекарственных препаратов в дыхательные пути перед проведением процедуры. Жидкость, покрывающая альвеолы, находится в образцах КВВ в большом разведении. В образцах могут определяться не только альвеолярные компоненты, но и составляющие слизистого слоя дыхательных путей [13].

Сбор КВВ проводится с использованием носового зажима, который позволяет предотвратить любой случайный дыхательный маневр через нос (вдох или выдох), что является более надежным способом предотвращения попадания медиаторов воспаления из носовой полости. Использование носового зажима сводит к минимуму попадание частиц из носоглотки и предотвращает потерю образца через носовую полость [13].

Самый распространенный интервал времени при сборе КВВ составляет 10–30 мин, но в большинстве случаев используется 10-минутный промежуток. В среднем за 10 мин спокойного дыхания у взрослого человека можно получить 1–3 мл КВВ (средний объем КВВ – 100 мкл/мин, диапазон – 40–300 мкл/мин).

*Исследование общей концентрации нитратов/нитритов в КВВ.* Нитраты восстанавливались до нитритов оригинальным кадмиевым восстановителем с использованием реактива Грисса [16]; дальнейшее количественное определение проводилось с помощью времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF).

Метод применяют для определения нитрит-ионов в концентрациях от 0,005 до 0,5 мг/л. Присутствующие в пробе нитриты проходят через редуктор без изменения. Содержание нитратов в пробе определяют по калибровочному графику, построенному в диапазоне 1–50 мкмоль/л нитритов.

*Исследование общей концентрации нитратов/нитритов в крови.* Осаждение белков проводили с использованием 50% трихлоруксусной кислоты. К 900 мкг сыворотки крови добавляли 100 мкг 50% трихлоруксусной кислоты, перемешивали и центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 мин. Супернатант отбирали и доводили рН до 9,0 1-молярным раствором NaOH [17]. Нитраты восстанавливались до нитритов оригинальным кадмиевым восстановителем, и дальнейшее определение проводилось так же, как описано выше для определения суммарной концентрации нитратов и нитритов в КВВ.

*Исследование антиоксидантной активности плазмы крови.* **Антиоксидантная активность (АОА)** плазмы крови определялась методом, разработанным в лаборатории молекулярной и клеточной радиобиологии НИИ медицинской радиологии РАМН (г. Обнинск). Метод основан на спектрофотометрическом определении малонового диальдегида, образующегося в модельной системе в результате реакции перекисного окисления липосом лецитина, индуцированной ионами двухвалентного железа в присутствии анализируемого образца плазмы крови [18]. Антиоксидантная активность плазмы крови, определяемая в модельной системе “лецитин–ионы  $Fe^{2+}$ ” по выходу продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, отражает общее

состояние антиоксидантной системы организма. Преимущества этого методического подхода заключаются в способности интегрально оценить такие компоненты АОС, как связывание и окисление ионов железа, перехват свободных радикалов, восстановление и разрушение гидро- и липоперексидов, образующихся в ходе реакции. Данные представлены как средние значения и стандартные ошибки АОА в относительных единицах.

*Исследование рН КВВ* проводилось с использованием прибора “рН-302” (Hanna, Германия) непосредственно после сбора КВВ у пациента, а также после размораживания образца с целью контроля.

*Оценка безопасности.* С целью оценки безопасности применения и переносимости исследуемого препарата проводился учет нежелательных явлений в индивидуальных регистрационных картах и дневниках самоконтроля, клиническая оценка состояния больного, электрокардиография и биохимический анализ крови до начала лечебного периода и в конце его.

### Дизайн исследования

Положительное влияние ингаляционного введения фосфолипидов на клинико-функциональный статус пациента с БА уже было показано ранее, однако основные биомаркеры оксидативного стресса не определялись [19].

Поэтому с целью подтвердить либо опровергнуть возможность коррекции негативных последствий оксидативного стресса, играющего немаловажную роль в патогенезе БА, с помощью добавления ингаляций нанолипосом в комплексную терапию пациентов с БА было проведено клиническое исследование с участием 58 пациентов обоего пола (37 мужчин (63,8%) и 21 женщина (36,2%)). Средний возраст больных составил  $67,5 \pm 12,3$  года.

По дизайну исследование является проспективным простым слепым рандомизированным плацебоконтролируемым в

параллельных группах. Пациенты, соответствующие всем критериям включения/исключения, были рандомизированы в соотношении 1 : 1 в две группы. Рандомизация осуществлялась с помощью случайной выборки. Всем пациентам были присвоены порядковые номера от 1 до 58. Листки с кодом лечения (первая или вторая группа соответственно) в произвольном порядке были помещены в непрозрачные запечатанные конверты, конверты случайным образом перемешаны, и на них проставлен порядковый номер пациента от 1 до 58. По мере проведения скрининга вскрывался конверт, соответствующий номеру пациента в порядке возрастания, и назначалось соответствующее лечение.

Первая группа (основная) состояла из 30 пациентов, получавших ингаляции фосфолипидного препарата через компрессорный небулайзер 1 раз в сутки в дозе 1250 мг (300 мг фосфолипида) на фоне стандартной базисной терапии БА в соответствии с Глобальной стратегией лечения и профилактики бронхиальной астмы GINA 2007 (Global Initiative for Asthma) [20]. Во вторую группу (контрольную) вошли 28 пациентов, у которых лечение БА проводилось только по традиционной схеме согласно рекомендациям GINA 2007. В качестве плацебо использовался 5% раствор мальтозы, в качестве фосфолипидного нанолипосомального препарата — фосфатидилхолин/глицерризиновая кислота производства НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН. Длительность терапии составила 24 нед, количество визитов в клинику — 8. Общая продолжительность клинического исследования составила 3 года (2008—2011 годы), экспериментальная часть и анализ результатов длились с 2011 по 2013 г.

Основные критерии включения/исключения в исследование приведены в таблице.

*Статистическая обработка результатов* исследования проводилась путем оценки значимости различий между исходным и последующими измерениями при помощи парного t-критерия Стьюдента для связан-

## Критерии включения/исключения

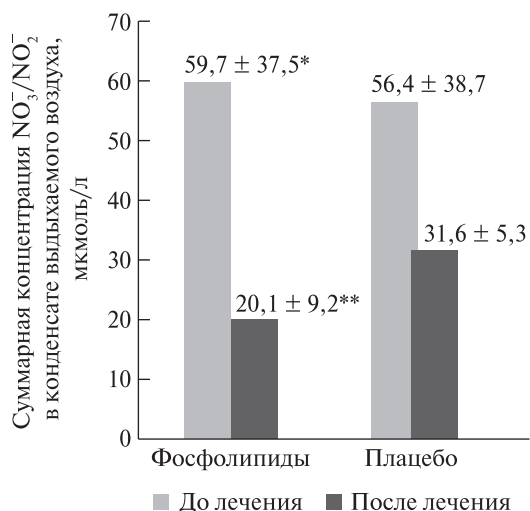
Критерии включения	Критерии исключения
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Взрослые дееспособные мужчины и женщины старше 18 лет.</li> <li>2. Наличие письменного информированного согласия, полученного от пациента до проведения любых процедур, связанных с исследованием.</li> <li>3. Диагноз частично контролируемой либо неконтролируемой БА, установленный согласно GINA 2007, за 6 мес до включения в исследование.</li> <li>4. Пациенты с объемом форсированного выдоха за 1-ю секунду от 50 до 80% от должного.</li> <li>5. Документально подтвержденный положительный тест на обратимость (в течение последних 6 мес до включения в исследование), определяемый как прирост объема форсированного выдоха за 1-ю секунду <math>\geq 12\%</math> и <math>\geq 200</math> мл относительно исходного уровня.</li> <li>6. Пациенты с БА, которые уже получали как средство базисной терапии фиксированную комбинацию ингаляционный глюкокортикостероид/<math>\beta</math>-агонист длительного действия (в виде одного комбинированного или нескольких разных ингаляторов), эквивалентную по дозировке салметеролу/флутиказону 100/500 мкг/сут, в неизменной дозе за 3 мес до включения в исследование.</li> <li>7. Некурящие или бывшие курильщики с индексом курения менее 5 пачек-лет и бросившие курить в течение как минимум 1 года до включения в исследование.</li> <li>8. Желание сотрудничать и достаточный комплайнс при выполнении процедур исследования.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Беременные или кормящие женщины.</li> <li>2. Наличие в анамнезе неблагоприятных исходов БА (например, госпитализации из-за обострения БА в отделение интенсивной терапии, проведение искусственной вентиляции легких, жизнеугрожающие состояния).</li> <li>3. Диагноз хронической обструктивной болезни легких, установленный согласно текущей версии руководства GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease).</li> <li>4. Госпитализация из-за обострения БА в течение 1 мес перед скрининговым визитом.</li> <li>5. Инфекция нижних дыхательных путей в течение 1 мес перед скрининговым визитом.</li> <li>6. Наличие в анамнезе муковисцидоза, бронхоэктазов, дефицита <math>\alpha_1</math>-антитрипсина и рестриктивного легочного процесса.</li> <li>7. Пациенты, получавшие пероральные или парентеральные глюкокортикостероиды в предыдущие 3 мес перед скрининговым визитом.</li> <li>8. Установленная или доказанная гиперчувствительность к исследуемому препарату (фосфатидилхолин/глицирризиновая кислота) или его компонентам.</li> <li>9. Участие в других клинических исследованиях в течение 1 мес перед скрининговым визитом.</li> <li>10. Наличие значимого медицинского анамнеза и/или лечения кардиологических, почечных, неврологических, печеночных, эндокринных, онкологических заболеваний или наличие любых отклонений от нормы лабораторных показателей, которые могут служить показателем клинически значимого заболевания, согласно мнению исследователя.</li> </ol>

ных выборок (для показателей с нормальным распределением) или при помощи непараметрического критерия Уилкоксона для связанных выборок с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0 (Statsoft Inc., USA). Анализ связи признаков проводился с помощью метода регрессионного анализа, и использовался коэффициент корреляции Пирсона ( $r$ ). Доверительная вероятность полагалась равной 95% ( $p = 0,05$ ), т.е. различия значений показателей при  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимые. Все регистрируемые

характеристики пациентов представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение.

## Результаты и обсуждение

Выдыхаемый оксид азота является весьма лабильным показателем степени воспаления в респираторном тракте [21]. Несмотря на кажущуюся простоту его измерения, возможны ошибки в определении уровня этого параметра, а имеющийся значительный разброс данных указывает на вари-



**Рис. 2.** Динамика суммарной концентрации нитратов/нитритов в КБВ в группах больных, получавших ингаляции фосфолипидов и плацебо, до начала и после окончания периода лечения. \*  $p > 0,1$ , \*\*  $p < 0,03$ .

бельность концентрации FeNO (выдыхаемая фракция оксида азота) у конкретных пациентов [22].

В связи с этим в настоящем исследовании было проведено изучение стабильных метаболитов оксида азота в КБВ для оценки эффективности проводимой терапии у пациентов, получающих базисную терапию БА. Оценивалась суммарная концентрация нитратов и нитритов в КБВ ( $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ), которая является интегральным показателем синтеза оксида азота в респираторном тракте, и использование этого показателя в качестве маркера активности воспалительного процесса при БА представлялось более предпочтительным.

При поступлении в стационар  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в КБВ была достоверно выше у пациентов обеих групп в сравнении с общепринятой нормой (до 5 мкмоль/л). В основной группе этот показатель составил  $59,7 \pm 37,5$  мкмоль/л; в контрольной —  $56,4 \pm 38,7$  мкмоль/л ( $p > 0,1$ ) (рис. 2).

К концу лечебного периода наблюдалось выраженное снижение  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в группе больных, получавших ингаляции

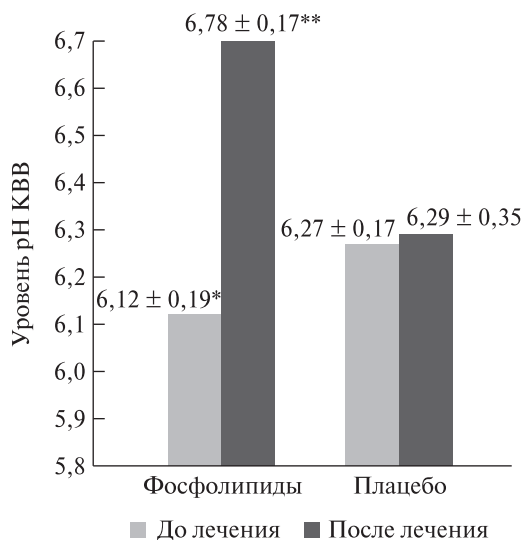
нанолипосом, в то время как при применении плацебо уровень нитратов/нитритов в КБВ уменьшался не столь значительно ( $20,1 \pm 9,2$  vs  $31,6 \pm 5,3$ ;  $p < 0,03$ ) (см. рис. 2). Полученные результаты указывают на выраженное подавление процессов оксидативного стресса в бронхиальном дереве при применении липосомальной терапии по сравнению с плацебо.

Для оценки степени воспалительных изменений в респираторном тракте был исследован такой показатель, как pH конденсата выдыхаемого воздуха, а также оценена его взаимосвязь с другими маркерами воспаления ( $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ).

Уровень pH КБВ измерялся непосредственно после сбора материала, до его замораживания. После размораживания образца производилось еще раз контрольное измерение pH, и высчитывался средний результат. Необходимо отметить, что ни в одном образце статистически значимой разницы между измерением pH до замораживания и после размораживания зафиксировано не было, а имеющиеся изменения находились в пределах ошибки среднего, что хорошо согласуется с результатами исследований, проведенных ранее [23].

В начале наблюдения уровень pH КБВ у пациентов обеих групп был статистически значимо ниже, чем нормальные значения данного показателя. В настоящем исследовании за норму принимались значения pH от 6,99 до 7,04. В основной группе этот показатель составил  $6,12 \pm 0,19$ , а в контрольной —  $6,27 \pm 0,17$  ( $p > 0,1$ ) (рис. 3).

После проведенного курса терапии было отмечено статистически значимое повышение уровня pH в группе больных, получавших терапию ингаляционными фосфолипидами, по сравнению с контрольной группой. Этот показатель составил  $6,78 \pm 0,17$  и  $6,29 \pm 0,35$  соответственно ( $p < 0,05$ ). Стоит отметить, что в группе пациентов, получавших плацебо, уровень pH статистически значимо не изменился по сравнению с исходным, в то время как в группе больных, получавших ингаляции нанолипосом, этот



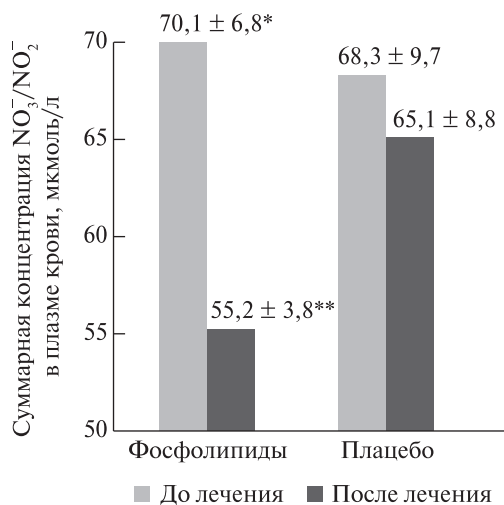
**Рис. 3.** Динамика уровня рН КВВ в группах больных, получавших ингаляции фосфолипидов и плацебо, до начала и после окончания периода лечения. \*  $p > 0,1$ , \*\*  $p < 0,05$ .

подъем был существенным. Приведенные результаты свидетельствуют о том, что ингаляционное введение наночастиц фосфолипидов существенно влияет на уровень рН КВВ, приближая его к нормальным значениям (см. рис. 3).

В целях комплексной оценки антиоксидантного статуса организма в настоящем исследовании была проведена оценка суммарной концентрации нитратов/нитритов в плазме крови и уровня АОА плазмы крови. Несмотря на то что препарат вводился ингаляционно и наибольший эффект был ожидаем в месте введения, нельзя было исключить того обстоятельства, что подавление активности АФК в респираторном тракте отразится на антиоксидантной системе организма в целом.

Согласно данным проведенных ранее исследований, при обострении БА наблюдается гиперпродукция свободных радикалов в плазме крови и, соответственно, снижение АОА последней [24].

Уровень  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови был выбран как маркер атопического воспа-

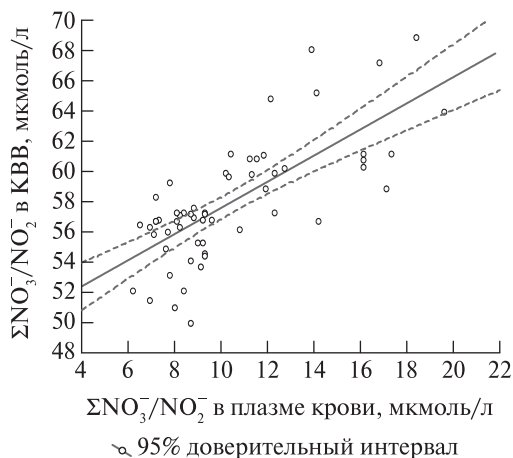


**Рис. 4.** Динамика суммарной концентрации нитратов/нитритов в плазме крови в группах больных, получавших ингаляции фосфолипидов и плацебо, до начала и после окончания периода лечения. \*  $p > 0,1$ , \*\*  $p < 0,001$ .

ния для последующего сравнения с уровнем  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в КВВ.

Значения  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови от 45 до 55 мкмоль/л в данном исследовании были приняты в качестве референсных. Исходно у пациентов обеих групп были повышенные значения указанного показателя, которые составили  $70,1 \pm 6,8$  мкмоль/л в основной группе и  $68,3 \pm 9,7$  мкмоль/л в контрольной группе ( $p > 0,1$ ) (рис. 4).

По окончании периода лечения было зафиксировано статистически значимое снижение  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови в группе пациентов, получавших ингаляции фосфолипидов по сравнению с контролем ( $55,2 \pm 3,8$  vs  $65,1 \pm 8,8$ ;  $p < 0,001$ ) (см. рис. 4). Несмотря на незначительную разницу по изучаемому показателю между двумя группами в абсолютных величинах (менее 10,0 мкмоль/л), достоверность полученного различия довольно высока, что свидетельствует о значимом влиянии препарата на процессы воспаления и оксидативного стресса, сопровождающиеся генерацией активных форм азота в респираторном тракте.



**Рис. 5.** График зависимости между суммарной концентрацией нитратов/нитритов в КВВ и плазме крови после окончания периода лечения в группе больных, получавших ингаляции фосфолипидов.  $r = 0,73039$ ,  $p < 0,0001$ .

Снижение концентрации свободных радикалов в респираторном тракте сопровождается уменьшением их содержания также и в плазме крови, т.е. на уровне организма в целом. Полученные результаты связаны скорее всего с репаративным воздействием фосфолипидов на мембраны поврежденных воспалением клеток и восстановлением морфофункциональной активности последних.

Таким образом, в ходе настоящего исследования были получены статистически значимые данные о снижении уровня  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  как в КВВ, так и в плазме крови при использовании ингаляционного введения фосфолипидов в комплексной терапии БА в сравнении с плацебо. В связи с этим представлялось чрезвычайно важным оценить корреляционную взаимосвязь между этими двумя показателями.

Была выявлена сильная положительная корреляция между  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в КВВ и  $\Sigma\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  в плазме крови ( $r = 0,73$ ;  $p < 0,0001$ ) (рис. 5). Такая взаимосвязь может служить признаком того, что ингаляционное введение наноразмерных липосом не только оказывает местное противовоспалительное действие, но и влияет на про-

цессы оксидативного стресса на уровне организма в целом.

Еще одним показателем, изученным в данном исследовании и характеризующим антиоксидантный статус организма, была АОА плазмы крови, которая оценивалась по уровню малонового диальдегида в модельной системе, что считается интегральным показателем, отражающим уровень процессов **перекисного окисления липидов** (ПОЛ) в организме.

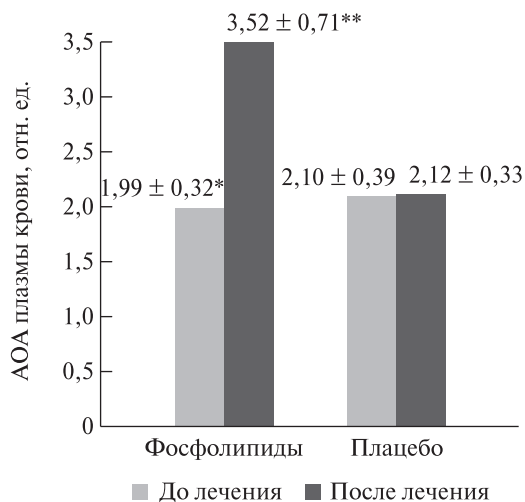
Показано, что у больных БА образуется замкнутый “порочный круг”: АФК, генерируемые фагоцитами крови и лаважа, инициируют ПОЛ, продукты которого стимулируют выброс биологически активных веществ из тучных клеток, что приводит к усилению атопического воспаления и усилению генерации АФК нейтрофилами и эозинофилами [25]. В результате развивается обострение БА – приступ удушья, который сопровождается гипоксией, усиливающей, в свою очередь, образование АФК и продуктов ПОЛ [26].

Введение фосфолипидных наночастиц, согласно нулевой гипотезе, может прервать развитие этого патогенетического “порочного круга”, в первую очередь за счет антиоксидантного действия препарата и репарации поврежденных клеточных мембран, что приводит к замедлению процессов ПОЛ. Таким образом, происходит снижение концентрации АФК и продуктов ПОЛ, что находит свое отражение в динамике уровня АОА плазмы крови.

У всех обследованных пациентов при поступлении в стационар наблюдалось выраженное снижение АОА плазмы крови. В основной группе этот показатель составил  $1,99 \pm 0,32$  отн. ед., в контрольной –  $2,10 \pm 0,39$  отн. ед. ( $p > 0,1$ ) (рис. 6).

После курса проведенной терапии было отмечено статистически значимое повышение уровня АОА в основной группе по сравнению с контролем ( $3,52 \pm 0,71$  vs  $2,12 \pm 0,33$  отн. ед.;  $p < 0,001$ ), хотя он и оставался более низким, чем в норме (см. рис. 6).





**Рис. 6.** Динамика АОА плазмы крови в группах больных, получавших ингаляции фосфолипидов и плацебо, до начала и после окончания периода лечения. \*  $p > 0,1$ , \*\*  $p < 0,001$ .

Завершая изложение результатов по исследованию эффективности ингаляционного введения фосфолипидных наночастиц в комплексной терапии БА, следует отметить, что при введении препарата ни у одного из полностью выполнивших протокол исследования пациентов не отмечалось значимых побочных эффектов, потребовавших отмены препарата или специального лечения. У 3,45% больных в начале курса лечения было отмечено субъективное ощущение затруднения дыхания, не подтвержденное пикфлоуметрически и проходившее самостоятельно после второй или третьей ингаляции препарата. Еще у 12,1% пациентов отмечалось увеличение объема мокроты при отхаркивании, однако к концу периода наблюдения этот симптом также купировался

самостоятельно. Никаких изменений в данных объективного обследования пациента, лабораторных анализах и электрокардиографии зарегистрировано не было.

### Заключение

Проведено простое слепое рандомизированное плацебоконтролируемое исследование, в котором впервые получены доказательные данные о выраженном положительном влиянии ингаляционного введения фосфолипидных наночастиц на динамику основных биомаркеров оксидативного стресса у пациентов, получающих базисную терапию БА.

Показана эффективность и безопасность ингаляционного введения фосфолипидных препаратов в комплексной терапии БА в течение длительного периода (срок наблюдения около 3 лет). Указанный метод лечения приводит к статистически значимому положительному изменению динамики биомаркеров оксидативного стресса при БА, что, безусловно, улучшает прогноз течения заболевания с точки зрения патогенеза последнего, хотя для подтверждения этого факта необходимо проведение дополнительных эпидемиологических исследований. Продемонстрированная в настоящем исследовании безопасность длительного применения препарата позволяет рекомендовать включение предложенной методики в дополнение к традиционным базисным методам лечения БА.

*Со списком литературы вы можете ознакомиться на нашем сайте [www.atmosphere-ph.ru](http://www.atmosphere-ph.ru)*

### Oxidative Stress Biomarkers in Patients with Asthma Treated with Inhaled Phospholipid Nanoparticles

A.V. Lisitsa, S.K. Soodaeva, I.A. Klimanov, and A.V. Averiyanov

Prospective, single-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group study was aimed to assess the dynamics of the main oxidative stress biomarkers (total nitrate/nitrite concentration in exhaled breath condensate and blood plasma, pH of exhaled breath condensate, total blood plasma antioxidant activity) in patients with asthma treated with inhaled phospholipid nanoparticles. The study showed that the treatment caused significant decrease in oxidative stress biomarkers compared to placebo. No clinically significant adverse events were registered.

**Key words:** asthma, phospholipid nanoparticles, oxidative stress, membrane reparation, total nitrite/nitrate level in exhaled breath condensate and blood plasma, pH of exhaled breath condensate, total blood plasma antioxidant activity.