

© ВОЛКОВА Л.И., КАПИТАНОВА Д.В.

РОЛЬ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ОБОСТРЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Л.И. Волкова, Д.В. Капитанова

Сибирский государственный медицинский университет, ректор – д.м.н., проф.,
акад. РАМН В.В. Новицкий; кафедра внутренних болезней педиатрического
факультета, зав. – д.м.н., проф. Л.И. Волкова.

Резюме. Изучен клеточный состав индуцированной мокроты и содержание оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха у больных с обострением бронхиальной астмы и динамика этих показателей на фоне терапии глюкокортикоидами. Включено 76 больных с различной степенью тяжести бронхиальной астмы. Показано, что мониторинг показателей индуцированной мокроты и содержания оксида азота является информативным в оценке эффективности противовоспалительной терапии бронхиальной астмы.

Ключевые слова: бронхиальная астма, индуцированная мокрота, оксид азота, глюкокортикоиды.

В настоящее время разработан новый подход к терапии бронхиальной астмы (БА) – использование противовоспалительных средств, направленное на подавление воспаления и контроль заболевания [3]. Наиболее эффективными противовоспалительными препаратами являются глюкокортикоиды (ГКС). Они угнетают синтез цитокинов, миграцию эозинофилов в дыхательные пути и высвобождение медиаторов воспаления [3, 5, 12]. Мониторинг течения БА под влиянием противовоспалительной терапии очень важен, так как больные могут нуждаться в длительном, иногда пожизненном, применении препаратов. В клинической практике уменьшение интенсивности воспаления и эффективность лечения БА оценивают косвенно по уменьшению симптомов и улучшению показателей функции внешнего дыхания. Для прямого определения бронхиального воспаления используются исследования брашбиоптатов и биоптатов из проксимальных бронхов, полученных при помощи

фибробронхоскопии. Однако к недостаткам этих методик относится инвазивность и обременительность для больного. Они не рекомендуется при обострениях БА, выраженной дыхательной недостаточности и не могут быть использованы многократно для контроля лечения, особенно в клинической практике [1, 11]. В последнее время ведётся поиск других маркёров бронхиального воспаления, которые должны отражать активность процесса, быть неинвазивны и легко выполнимы. Показана достоверность и высокая информативность таких неинвазивных методик, как исследование клеточного состава индуцированной мокроты (ИМ) и определение уровней оксида азота воздухе или в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) [1, 10, 14].

Цель нашего исследования – изучить динамику клеточного состава ИМ и содержание метаболитов NO в КВВ у больных с обострением БА на фоне терапии ГКС.

Материалы и методы

Включено 76 больных в возрасте от 18 до 75 лет (средний возраст $53,1 \pm 12,4$ лет), находившихся на стационарном лечении по поводу обострения БА. Степень тяжести и фаза заболевания определялись согласно международным рекомендациям [3]. У 24 больных диагностирована БА легкого персистирующего течения, у 44 – средней степени и у 8 – тяжёлой степени. Критерием исключения из исследования было обострение крайне тяжёлой степени («астматический статус»), гормонозависимое течение БА, сочетание БА и хронической обструктивной болезни легких. Группу контроля составили 20 некурящих, практически здоровых добровольца.

Сбор ИМ осуществляли после последовательно проводимых ингаляций 3, 4 и 5 процентного раствора натрия хлорида через небулайзер. До начала этой процедуры больные с БА получали 200 мкг сальбутамола через дозированный аэрозольный ингалятор. Ингаляции гипертонического раствора натрия хлорида проводились сеансами по 5 минут, до и после каждого сеанса определяли показатель пиковой скорости выдоха (ПСВ). После ингаляции больной тщательно полоскал ротоглотку и старался откашлять мокроту в контейнер.

Исследовалась ИМ не позднее 2 часов после ее получения. Обработку мокроты и подсчёт клеточного состава производили по описанной в литературе методике [1, 9, 13].

Для сбора КВВ использовали конденсирующую систему, представленную γ-образной полипропиленовой трубкой, конец которой был опущен в стеклянную пробирку. Трубка и пробирка помещались в емкость, заполненную льдом [2]. Измерение уровней метаболитов NO выполняли по методике с использованием реактива Griess, регистрацией оптической плотности на микропланшетном спектрофотометре. Определяли концентрацию NO по калибровочной кривой [4].

У всех больных с БА ежедневно оценивали клинические симптомы БА (кашель, одышка, количество мокроты) по шкале от 0 до 5 баллов, количество приступов удушья и потребность в β₂-агонистах короткого действия. Дважды в сутки измерялась ПСВ. До и после купирования обострения осуществлялось спирографическое исследование с пробой на обратимость с бронхолитиком на аппарате «Masterscreen Pneumo» (Erich Jaeger, Германия), исследование клеточного состава ИМ и уровней NO в КВВ.

Статистическую обработку проводили, используя программу «Statistica 6.0». Данные представлены в виде M±SD, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение. Оценку достоверности различий при нормальном распределении выполняли с использованием t-критерия Стьюдента. При анализе распределений, отклоняющихся от нормального, использовали непараметрические критерии (критерии Вилкоксона, Манна-Уитни).

Больные получали терапию обострения БА – бронхолитик (беродуал, сальбутамол) через небулайзер, суспензию будесонида (Пульмикорт) 2-4 мг в сутки через небулайзер в течение 5-10 дней (46 больных), или преднизолон перорально в начальной дозе 30 мг/сутки, с дальнейшим снижением дозы и полной его отменой на 7-11 сутки (30). Эффективность лечения обострения БА оценивалась по уменьшению приступов удушья и потребности в β₂-агонистах короткого действия, восстановлению нормальной физической активности,

увеличению ПСВ. После купирования обострения БА базисная противовоспалительная терапия ИГКС или их комбинацией с длительнодействующими β_2 -агонистами назначалась согласно степени тяжести заболевания.

Результаты и обсуждение

У здоровых лиц в ИМ преобладали альвеолярные макрофаги и нейтрофилы (табл. 1). У больных с БА по сравнению с контролем отмечено достоверно большее общее количество клеток в 1 мл (цитоз), а также относительное количество нейтрофилов и эозинофилов и меньшее количество альвеолярных макрофагов, причём при обострении заболевания эти изменения были более выражены (табл. 1).

Сравнение клеточного состава ИМ в зависимости от степени тяжести заболевания показало, что при тяжёлой БА отмечается достоверно более высокое содержание нейтрофилов, как в стадию обострения, так и после его купирования, а также меньшее количество эозинофилов при обострении, чем при лёгкой и среднетяжёлой БА (табл. 2). Достоверных различий в клеточном составе ИМ у больных с легкой и среднетяжелой БА не получено.

В литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что клеточный состав ИМ зависит от предшествующей базисной терапии [7, 8]. Наше исследование показало, что в группе среднетяжёлой БА у больных, принимавших до настоящего обострения препараты базисной терапии, в период обострения было большее содержание альвеолярных макрофагов и нейтрофилов и меньшее содержание эозинофилов по сравнению с не получавшими ИГКС (табл. 3). Сравнить клеточный состав ИМ в зависимости от наличия базисной терапии для лёгкой и тяжёлой БА не представилось возможным, поскольку подавляющее большинство (92%) больных с лёгкой БА не имели базисной терапии до поступления в стационар, а все с тяжёлой БА принимали ИГКС.

Содержание метаболитов NO в КВВ в контрольной группе составило $0,88 \pm 0,2$ мкМ/л. Повышение концентрации NO наблюдалось у всех больных с БА и было максимальным в период обострения (табл. 1).

Достоверных различий в содержании метаболитов NO в зависимости от степени тяжести БА при её обострении не обнаружено (табл. 2). Однако оно варьировало в зависимости от предшествующей терапии на амбулаторном этапе. У больных со среднетяжёлой БА без предшествующей терапии ИГСК уровень NO был более высоким, чем у использующих ИГКС (соответственно $12,5 \pm 2,3$ и $9,3 \pm 3,0$ мкМ/л, $p < 0,05$). Вероятно, это обусловлено подавлением кортикостероидами транскрипции генов, ответственных за синтез NO-синтазы [6, 10]. Установить различие показателей NO при отсутствии или наличии базисной терапии для лёгкой и тяжёлой БА не представлялось возможным по причинам, указанным выше.

К окончанию курса терапии обострения БА, который продолжался от 5 до 11 дней (в среднем $6,5 \pm 1,6$ дней), отмечалось улучшение состояния у всех больных. В среднем по группе наблюдалось уменьшение симптомов БА с $6,6 \pm 1,8$ до $1,8 \pm 1,5$ баллов ($p < 0,001$), приступов удушья – с $5,5 \pm 2,4$ до $0,8 \pm 1,2$ в сутки ($p < 0,001$), потребности в β_2 -агонистах – с $5,0 \pm 2,6$ до $0,8 \pm 1,2$ ингаляций в сутки ($p < 0,001$). Показатель ПСВ увеличился с $54,8 \pm 14,4$ до $81,3 \pm 17,1\%$ должного ($p < 0,001$), ОФВ₁ – с $57,0 \pm 19,9$ до $79,9 \pm 22,5\%$ от должного ($p < 0,001$), снизилась недельная вариабельность ПСВ – с $37,9 \pm 13,6$ до $22,4 \pm 9,8\%$ ($p < 0,001$).

Хороший эффект лечения (достижение ПСВ 80% от должных или наилучших значений, отсутствие приступов удушья, восстановление нормальной физической активности), который оценивался как достижение полного контроля, наблюдался у 48 (63,2%) больных, из них у 19 – с легкой персистирующей и у 29 – со среднетяжёлой БА. Неполный контроль симптомов был у 28 (36,8%) больных, из них у 5 – с легкой персистирующей, у 15 – со среднетяжёлой и у 8 – с тяжёлой БА.

После купирования обострения в среднем по всей группе больных отмечалось уменьшение цитоза ИМ, количества нейтрофилов и эозинофилов, увеличение количества альвеолярных макрофагов, что свидетельствует об уменьшении активности воспаления и может быть использовано для контроля эффективности терапии БА. Однако вышеперечисленные показатели не достигали значений таковых контрольной группы (табл. 1).

Анализ клеточного состава ИМ в зависимости от уровня достижения контроля симптомов БА показал, что в группе больных, не достигших полного контроля, в стадии обострения БА наблюдается большее относительное содержание нейтрофилов и меньшее содержание эозинофилов по сравнению с имеющими хороший эффект лечения. К окончанию курса терапии обострения заболевания в обеих группах происходило снижение количества нейтрофилов и эозинофилов, но у больных с неполным контролем сохранялась достоверно более выраженная нейтрофиля ИМ и меньшее количество альвеолярных макрофагов (табл. 4).

Что касается содержания метаболитов NO, то отмечено достоверное снижение их уровня, более выраженное в группе больных, достигших полного контроля симптомов БА (табл. 4). Все больные с тяжёлой БА имели неполный контроль симптомов, и содержание NO в КВВ у них было достоверно выше, чем с лёгкой и средней степенью тяжести, что может быть связано с большей выраженностью воспаления в дыхательных путях (табл. 2).

Таким образом, наши данные свидетельствуют о снижении активности эозинофильного воспаления во время обострения БА на фоне терапии ГКС. Кроме того, неполный контроль симптомов после лечения обострения и тяжелое течение заболевания, по-видимому, ассоциированы с более высоким уровнем метаболитов NO и нейтрофильным компонентом воспаления. С одной стороны, это может быть проявлением продолжающегося воспаления в дыхательных путях. С другой – сохранение нейтрофилии ИМ может быть причиной недостаточной эффективности ГКС у этих больных.

Согласно современным рекомендациям, достижение контроля лечения больных с БА основано на минимизации клинических проявлений и улучшении показателей вентиляции легких [3]. В нашем исследовании показано, что уменьшение или исчезновение симптомов БА и нормализация показателей функции внешнего дыхания опережают динамику таких неинвазивных маркеров воспаления, как изменения цитограммы ИМ и содержание NO в КВВ. По-видимому, это можно рассматривать как доказательство персистенции воспаления в бронхах, что в свою очередь обуславливает необходимость более длительной противовоспалительной терапии под контролем маркеров воспаления.

Таким образом, такие неинвазивные методы, как исследование клеточного состава индуцированной мокроты и уровней оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха, высоко информативны для оценки эффективности противовоспалительной терапии. Данные методы диагностики могут быть использованы в повседневной практике, так как неинвазивны, легко применимы и не требуют дорогостоящего оборудования и реагентов.

SIGNIFICANCE OF INFLAMMATORY MARKERS FOR ASSESSMENT OF TREATMENT EFFICACY IN ACUTE EXACERBATION OF BRONCHIAL ASTHMA

D.V. Kapitanova, L.I. Volkova

Siberian state medical university

Induced sputum cytology, nitric-oxide content in exhaled breath condensate and dynamics of these parameters on a background of glucocorticosteroid therapy were studied in patients with bronchial asthma exacerbation. 76 patients with different degree of bronchial asthma were included. It is shown, that monitoring of induced sputum and nitric-oxide indices is informative to assess efficiency of anti-inflammatory therapy in bronchial asthma.

Литература

1. Авдеев С.И., Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. Применение метода индуцированной мокроты для оценки интенсивности воспаления дыхательных путей // Пульмонология. – 1998. – № 2. – С. 81-85
2. Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. Исследование конденсата выдыхаемого воздуха в пульмонологии (обзор зарубежной литературы) // Пульмонология. – 2002. – №1. – С. 57-66.
3. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы / Под ред. А.Г. Чучалина. – М.: Атмосфера, 2002. – 160 с.
4. Назаретян Э.Е., Нариманян М.З., Мартиросян Т.В., Гаспарян А.Ю. Содержание окиси азота в слюне и легочная гипертензия у больных с различной степенью тяжести бронхиальной астмы // Пульмонология. – 2000. – №2. – С. 23-27.
5. Barnes P.J., Pedersen S., Busse W.W. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1998. – Vol. 157. – P. 1-53.
6. Barnes P.J. The effect of drugs on exhaled nitric oxide // Eur. Respir. Rev. – 1999. – Vol. 68. – P. 231-233.
7. Fahy J.V., Boushey H.A. Effect of low-dose beclomethasone dipropionate on asthma control and airway inflammation // Eur. Respir. J. – 1998. – Vol. 11. – P. 1240-1247.
8. Jatakanon A., Kharitonov S.A., Lim S., Barnes P.J. Effect of different doses of inhaled budesonide on markers of airway inflammation in patients with mild asthma // Thorax. – 1999. – Vol. 54. – P. 108-114.
9. Jayaram L., Parameswaran K., Sears M.R., Hargreave F.E. Induced sputum cell counts: their usefulness in clinical practice // Eur. Respir. J. – 2000. – Vol. 16. – P. 150-158.
10. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Exhaled markers of pulmonary disease // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – Vol 163. – P. 1693-1722.
11. Lim S., Chung K.F. Potential role of noninvasive markers of inflammation in clinical management of asthma // Eur. Respir. Rev. – 1998. – Vol. 64. – P. 1103–1107.

12. Liu M.C., Proud D., Lichtenstein L.M. et al. Effects of prednisone on the cellular responses and release of cytokines and mediators after segmental allergen challenge of asthmatic subjects // J. Allergy Clin/ Immunol. – 2001. – Vol.108. – P. 29-38.
13. Paggiaro P.L., Chanez P., Holz O. et al. Sputum induction. // Eur. Respir. J. – 2002. – Vol. 20, Suppl. 37. – P. 3-8.
14. Pin I., Gibson P.G., Kolendowiz R. et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma // Thorax. – 1992. – Vol. 47. – P. 25-29.

Таблица 1

Клеточный состав индуцированной мокроты (ИМ) и содержание метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха в период и после купирования обострения бронхиальной астмы ($M \pm SD$)

| Параметры ИМ | Показатели ИМ в исследуемых группах | | |
|---------------------------|-------------------------------------|------------------|-----------------|
| | Обострение (n=76) | Ремиссия (n=76) | Контроль (n=20) |
| Цитоз, 10^6 клеток/мл | $1,57 \pm 0,3^{1,2}$ | $1,3 \pm 0,4^1$ | $1,09 \pm 0,37$ |
| Альвеолярные макрофаги, % | $36,1 \pm 12,2^{1,2}$ | $52,2 \pm 8,0^1$ | $70,2 \pm 22,9$ |
| Нейтрофилы, % | $32,4 \pm 9,7^{1,2}$ | $28,4 \pm 6,0^1$ | $23,4 \pm 23,7$ |
| Эозинофилы, % | $26,7 \pm 17,3^{1,2}$ | $14,5 \pm 7,5^1$ | $0,55 \pm 0,79$ |
| Лимфоциты, % | $5,0 \pm 2,7$ | $5,1 \pm 2,2$ | $5,57 \pm 2,36$ |
| NO, мкМ/л | $9,9 \pm 4,2^{1,2}$ | $4,5 \pm 1,7^1$ | $0,88 \pm 0,2$ |

Примечание: ¹ – $p < 0,01$, различия показателей по отношению к контрольной группе; ² – $p < 0,01$, различия показателей до и после лечения обострения БА.

Таблица 2

Клеточный состав индуцированной мокроты (ИМ) и содержание метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха у больных с различной степенью тяжести бронхиальной астмы, ($M \pm SD$)

| Параметры ИМ | Показатели ИМ в зависимости от степени тяжести процесса | | | | | |
|---------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------|-----------------|
| | Легкая (n=24) | | Средняя (n=44) | | Тяжёлая (n=8) | |
| | Обострение 1 | Ремиссия 2 | Обострение 3 | Ремиссия 4 | Обострение 5 | Ремиссия 6 |
| Цитоз, $10^6 / \text{мл}$ | $1,4 \pm 0,3$ $p_{1-5} < 0,01$ | $1,1 \pm 0,3$ | $1,55 \pm 0,3$ $p_{3-5} < 0,05$ | $1,2 \pm 0,4$ | $1,9 \pm 0,3$ | $1,4 \pm 0,2$ |
| Макрофаги % | $38,9 \pm 14,3$ | $52,6 \pm 8,3$ | $35,9 \pm 11,2$ | $53,5 \pm 10,5$ | $37,4 \pm 16,6$ | $50,2 \pm 16,9$ |
| Нейтрофилы % | $28,4 \pm 8,0$ $p_{1-5} < 0,01$ | $24,6 \pm 5,8$ $p_{2-6} < 0,01$ | $32,2 \pm 13,0$ $p_{3-5} < 0,05$ | $28,7 \pm 12,9$ $p_{4-6} < 0,01$ | $39,4 \pm 19,3$ | $33,2 \pm 13,5$ |
| Эозинофилы % | $26,1 \pm 19,9$ $p_{1-5} < 0,05$ | $14,7 \pm 9,2$ | $27,9 \pm 14,1$ $p_{3-5} < 0,05$ | $15,8 \pm 8,1$ | $18,3 \pm 12,8$ | $12,1 \pm 9,1$ |

| | | | | | | |
|-------------|---------|-----------------------------------|----------|-----------------------------------|----------|---------|
| Лимфоциты % | 5,2±2,5 | 5,1±1,8 | 4,9±3,3 | 4,7±2,5 | 5,1±2,4 | 6,1±1,1 |
| НО, мкМ/л | 8,8±4,5 | 3,3±1,6 p ₂₋₆ <0,05 | 10,3±4,0 | 4,5±1,7 p ₄₋₆ <0,05 | 11,0±4,3 | 5,9±1,4 |

Таблица 3

Клеточный состав индуцированной мокроты (ИМ) у больных со среднетяжелой бронхиальной астмой в период обострения в зависимости от наличия базисной терапии (M±SD)

| Параметры ИМ | Показатели клеточного состава ИМ | |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| | Терапия ИГКС (n=30) | Без терапии ИГКС (n=14) |
| Цитоз, 10 ⁶ /мл | 1,6±0,25 | 1,6±0,4 |
| Макрофаги, % | 39,7±11,2 ¹ | 30,5±13,9 |
| Нейтрофилы, % | 34,8±10,4 ¹ | 28,4±18,1 |
| Эозинофилы, % | 19,8±11,7 ¹ | 32,4±12,9 |
| Лимфоциты, % | 5,1±2,3 | 4,8±2,5 |

Примечание: ¹ - p<0,05, различия между показателями в группах с терапией ИГКС и без нее.

Таблица 4

Клеточный состав индуцированной мокроты (ИМ) и содержание метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха до и после обострения бронхиальной астмы в зависимости от эффективности лечения (M±SD)

| Параметры ИМ | Показатели ИМ в исследуемых группах | | | |
|----------------------------|-------------------------------------|------------------------|---------------------------|-----------|
| | Полного контроля (n=48) | | Неполного контроля (n=28) | |
| | Обострение | Ремиссия | Обострение | Ремиссия |
| Цитоз, 10 ⁶ /мл | 1,5±0,3 | 1,1±0,2 ² | 1,6±0,3 | 1,4±0,5 |
| Альвеолярные макрофаги, % | 35,8±15,5 | 54,5±11,2 ² | 36,7±16,5 | 48,5±16,5 |

| | | | | |
|---------------|------------------------|-----------------------|-----------|----------------------|
| Нейтрофилы, % | 29,4±13,6 ¹ | 25,8±8,6 ² | 37,5±15,4 | 32,6±15,5 |
| Эозинофилы, % | 29,8±19,5 ¹ | 14,9±8,9 | 20,9±16,6 | 13,8±7,1 |
| Лимфоциты, % | 4,8±3,6 | 4,9±2,8 | 5,2±3,7 | 5,2±2,6 |
| NO, мкМ/л | 10,0±3,5 | 3,6±1,5 ¹ | 9,8±4,7 | 5,4±1,8 ¹ |

Примечание: ¹ - $p<0,05$, различия между показателями до начала лечения обострения БА в группах полного и неполного контроля БА; ² - $p<0,05$, различия между показателями после купирования обострения БА в группах полного и неполного контроля БА.