

Колосов А.В., Мальцева Т.А.

Оксидативный стресс и возможность его коррекции N-ацетилцистеином у больных хронической обструктивной болезнью лёгких с холодовой бронхиальной гиперреактивностью

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Владивосток

KolosoV A.V., Maltseva T.A.,

Oxidative stress and the possibility of its correction by N-acetylcysteine in patients with chronic obstructive pulmonary disease with cold bronchial hyperresponsiveness

Резюме

Цель исследования – верификация окислительного стресса и активности антиоксидантной системы у больных хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ) с холодовой бронхиальной гиперреактивностью (хБГР) и возможности его коррекции N-ацетилцистеином (НАС). В зимний период года обследовано 56 больных с лёгким и среднетяжёлым течением ХОБЛ вне обострения. У 100% больных с хБГР (32 человека), выявленный по данным стандартного ингаляционного теста с холодным воздухом и оценки функционального состояния лёгких, исходно и по окончании 12 нед. наблюдения обнаружена интенсификация процессов окислительного метаболизма липидов и снижение антиоксидантной защиты, определяемых по содержанию в сыворотке крови ТБК-реактивных продуктов и супероксиддисмутазы (СОД). Гиперпродукция ТБК-реактивных продуктов и несостоятельность антиоксидантного звена защиты – СОД от окислительного стресса ассоциируются с выраженностью реактивности бронхов на холодовой стимул. Антиоксидантная терапия больных ХОБЛ с хБГР НАС (600мг/сут. в течение 12 нед.) в качестве дополнения к стандартному лечению позволяет предотвратить прогрессирование бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ в 35,3% случаев.

Ключевые слова: система оксидант-антиоксидант, хроническая обструктивная болезнь лёгких, терапия N-ацетилцистеином

Summary

The aim of the study is the verification of oxidative stress and of the activity of antioxidant system in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) with cold bronchial hyperresponsiveness (cBHR) and the possibilities of its correction by N-acetylcysteine (NAC). In winter 56 patients with mild and moderate COPD out of its acute form were examined. 100% of patients with cBHR (32 people) who were revealed according to the standart inhalation test with cold air and by the estimation of the functional state of lungs initially and after 12weeks of observation had the intensification of lipid metabolism oxidative processes and the decrease of antioxidant protection identified by the contents of TBA-reactive substances and superoxide dismutase (SOD) in the blood serum. Hyper production of TBA-reactive substances and inconsistency of SOD protection from oxidative stress is associated with the intensification of bronchi responsiveness to the cold stimulus. Antioxidant therapy of COPD with cBHR by NAC (600mg/a day during 12 weeks) as the addition to standard treatment allows to prevent the progression of bronchial obstruction in patients with COPD in 35.3% of cases.

Key words: the system of oxidant-antioxidant, chronic obstructive pulmonary diseases, N-acetylcysteine therapy

Введение

По оценке крупномасштабных эпидемиологических исследований последнего десятилетия хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) остаётся как единственная из наиболее распространённых хронических заболеваний, смертность от которой прогрессивно увели-

чивается вследствие низкого уровня фармацевтического контроля, несмотря на значительный прогресс на фармацевтическом рынке. С современных позиций в основе патогенеза ХОБЛ лежит хроническое воспаление [1]. При этом хроническое воспаление базируется на нарушении окислительного гомеостаза с чрезмерной генерацией ак-

тивных форм кислорода (АФК) при ослаблении антиоксидантной защиты организма и развитии дисбаланса в прооксидантно-антиоксидантной системе, определяемого как оксидативный стресс [2]. Концепция последнего является ключевой для патофизиологических механизмов формирования ХОБЛ [3,4]. Усиление окислительных свободнорадикальных реакций при действии экзогенных и эндогенных раздражителей служит основой для создания ситуации постоянной готовности к обострению ХОБЛ. Накопление АФК при бронхолегочной патологии вызывает необратимые повреждения всех компонентов клеток и тканей, в том числе биологических мембран, широко представленных в лёгких, ненасыщенные жирные кислоты которые участвуют в реакциях перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3,5].

В настоящее время приводятся довольно убедительные данные об участии ПОЛ в формировании изменённой реактивности бронхов у больных хроническим бронхитом и бронхиальной астмой [3,4,6,7]. Холодовая бронхиальная гиперреактивность (хБГР) у больных ХОБЛ зарегистрирована в 52% случаев [8]. При этом синдром хБГР встречается у лиц с любой бронхолегочной патологией, проживающих в условиях холодного климата [9]. Длительный контакт с холодом провоцирует нарастание воспалительной реакции и обструкции бронхов, проявляющееся сезонным ухудшением клинического течения заболевания [8,10].

Феномен хБГР находит объяснение в идентификации содержащегося в сенсорных нейронах и эпителии бронхов ионного канала TRPM8 в качестве терморецептора, активируемого холодным воздухом с пороговой температурой около 25° [10,11]. Обнаружено повышение концентрации TRPM8 –ионного канала в эпителии дыхательных путей больных ХОБЛ; высказаны доказательства участия этого активируемого холодом термочувствительного канала в стимуляции воспаления, обструкции и гиперреактивности бронхов [12,13]. Следует отметить, что в условиях резко континентального и муссонного климата Дальневосточного региона именно синдром флюктуирующей хБГР любой степени в наибольшей мере обуславливает нестабильное течение заболевания и прогрессирование бронхиальной обструкции в зимнее время года, когда интенсивность ПОЛ достигает максимума, а антиоксидантная обеспеченность организма оказывается минимальной [3]. Однако сведения научной литературы о характере и выраженности соотношения хБГР и показателей оксидативного стресса при ХОБЛ в рамках клинических исследований крайне немногочисленны и порой противоречивы, как и данные приверженности больных ХОБЛ с хБГР к антиоксидантной терапии на фоне стандартного лечения.

В настоящее время невозможно полно ответить на вопрос, насколько коррекция нарушений баланса в системе «прооксиданты-антиоксиданты» позволит снизить прогрессирование бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ с хБГР в зимний период года.

Цель настоящего исследования состояла в верификации окислительного стресса и активности антиок-

сидантной системы у больных ХОБЛ с хБГР в зимний сезон года в динамике наблюдения на фоне стандартного лечения в сочетании с антиоксидантной терапией N-ацетилцистеином (НАС).

Материалы и методы

Обследовано 56 больных ХОБЛ мужского пола в возрасте 45,8±3,37 лет, находившихся на лечении в ФГБУ ДНЦ физиологии и патологии дыхания СО РАМН. Все больные курили. Индекс курящего человека составил 248,4±21. Клинические критерии включения в исследование: наличие постдилатационных параметров показателей функции внешнего дыхания - ОФВ1/ФЖЕЛ≤70, 60≤ОФВ1≥80% от должных значений; отсутствие клинических проявлений ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии. Согласно критериям отбора среди обследуемых ХОБЛ лёгкой тяжести определялись у 17 (30,4%) больных (ОФВ1≥80% от должного), средней тяжести течения – у 39 (69,6%) больных (50%≤ОФВ1<80% от должного). Клинико-функциональное обследование пациентов проводилось в зимний сезон года (декабрь-февраль) исходно и по окончании 12 нед. терапии в стадии стабильного течения заболевания: отсутствовало прогрессирующее нарастание необратимых нарушений функции лёгких, усиление кашля, увеличение количества мокроты, изменение лейкоцитарной формулы, нарастание СОЭ. Всем больным предусматривалось мониторингирование клинических симптомов в течение всего периода наблюдения, исследования функции внешнего дыхания по стандартной методике на аппарате Flowscreen (Erich Jaeger, Германия), выполнение стандартного ингаляционного бронхопровокационного теста с 3-минутной изоканнической гипервентиляцией холодным (-20°С) воздухом (ИГХВ). Наличие хБГР устанавливалось по снижению после ИГХВ объёма форсированного выдоха за 1-ю секунду ($\Delta\text{ОФВ1ХВ}$)≥10% от исходной величины [3]. В соответствии с результатами теста все пациенты были разделены на 2 группы: 1-ю составили 24 больных (42,8%) с отсутствием хБГР ($\Delta\text{ОФВ1ХВ}$ =-4,8±1,24%), 2-ю – 32 больных (57,2%) с хБГР ($\Delta\text{ОФВ1ХВ}$ =-19,3±2,39%). В контрольную группу вошли 12 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 35 лет.

В качестве маркёров оксидативного стресса использовали определение показателей ПОЛ – уровень ТБК-реактивных продуктов (комплекс продуктов перекисного окисления липидов с тиобарбитуровой кислотой), характеризующих итоговую фазу генерализации АФК, под влиянием которых стимулируются и интенсифицируются процессы ПОЛ; в качестве представителя антиоксидантной системы определяли содержание супероксиддисмутазы (СОД) – одного из важнейших ферментов, предотвращающих образование высокоактивных вторичных радикалов. Спектрофотометрически исследовалось содержание в сыворотке крови ТБК –реактивных продуктов и СОД с помощью коммерческих диагностических наборов «ТБК-АГАТ» фирмы «Биоконт», Москва, РФ и «SOD-kit» фирмы «Randox laboratories Ltd», Ardmore, UK. Показатели оксидативного стресса у больных ХОБЛ

I и II группы были соотнесены с медикаментозным воздействием препарата - НАС, наиболее изученного антиоксиданта, широко используемого в клинической практике в качестве дополнения к стандартной терапии ХОБЛ [4,5,14].

Исходно из числа II группы пациентов, включённых в исследование, были сформированы подгруппы IIA и IIB. Пациенты IIA подгруппы и I группы регулярно получали бронходилататоры и дополнительную терапию антиоксидантным препаратом - НАС (Флуимуцил, Zambon Group, Италия) в дозе 600мг в сутки. В лечении IIB подгруппы больных были использованы только бронходилататоры. Статистический анализ полученных данных выполнялся с помощью пакета программы Statistica for Windows version 6.0. Для сравнения частот альтернативного распределения использовался критерий К. Пирсона (χ^2). Для различий средних в попарно несвязанных выборках применялся U- критерий Манна Уитни. Качественные данные представлены в виде $M \pm m$, где M-среднее арифметическое, m – ошибка среднего. Был использован дискриминантный и корреляционный анализ [15].

Результаты и обсуждение

Анализ полученных данных исходного состояния липопероксидации и антиоксидантной защиты у больных ХОБЛ выявил статистически значимые различия средних значений ТБК-реактивных продуктов и СОД между исследуемыми группами. Из данных, представленных в таблице 1, виден наиболее высокий уровень достоверности отличий параметров повышения интенсивности ПОЛ у больных II группы по сравнению с I группой и контролем. Одновременно больные II группы имели и более выраженное снижение показателей ферментативной активности СОД, что свидетельствовало о преимущественном проявлении дисбаланса в системе «оксиданты-антиоксиданты», т.е. о развитии оксидативного стресса во II группе больных с изменённой холодовой реактивностью бронхов по сравнению с больными с отсутствием хБГР. После проведения холодовой бронхопровокационной пробы отмечено значимое нарастание содержания ТБК-реактивных продуктов в крови больных II группы нежели в I группе. В последней их уровень не изменился при сопоставлении с исходным. На этом фоне отмечалось и явно выраженное снижение уровня СОД у больных II

группы и лишь тенденция к уменьшению в I группе. При этом показатели активности оксидант-антиоксидантного статуса в обеих группах значимо высоко отмечались от значений контрольной группы.

По показателям пробы с холодным воздухом и объективным величинам оксидативного стресса, полученными у больных ХОБЛ, установлено наличие достоверной зависимости между выраженностью холодовой бронхоконстрикцией ($\Delta\text{ОФВ1ХВ, \%}$) величинами ТБК-реактивных продуктов ($r=0,52$; $p<0,01$) и функциональной активностью СОД ($r=-0,61$; $p<0,01$).

Методом дискриминантного анализа, выполненного у больных с наличием и отсутствием хБГР, установлена вероятность различия выборок -95,9%. Предложено дискриминантное уравнение, позволяющее с высокой точностью прогнозировать наличие хБГР у больных ХОБЛ на основании величин ТБК-реактивных продуктов и содержания СОД: $d=-1,982 \times \text{ТБК}+1,573 \times \text{СОД}$, где d-дискриминантная функция, граничное значение которой составляет 16,19. При величине d равной или больше диагностируется хБГР. Вероятность ошибочной классификации при определении присутствия хБГР составила 2,3%.

Влияние проведенной 12-недельной антиоксидантной терапии НАС, применяемой у больных ХОБЛ с наличием и отсутствием хБГР, на коррекцию бронхообструктивных нарушений оценивалось на основании оценки и анализа полученных данных о частоте достигнутого снижения выраженности обструкции бронхов по уровню прироста параметров $\Delta\text{ОФВ1}$ относительно исходных величин. Были установлены определённые различия изменений бронхиальной проходимости у пациентов, составивших I и II группы, о которой судили по величинам динамики $\Delta\text{ОФВ1}$. Последние считали значимыми при приросте $\Delta\text{ОФВ1} \geq 6,5\%$ (данные Р.Ф. Климента и соавт, 1987). Так, в общей популяции больных I группы была зарегистрирована наибольшая частота встречаемости пациентов с достоверно значимым увеличением $\Delta\text{ОФВ1}$ -13(54,2%) по сравнению с таковой у больных IIB подгруппы – 3 (20,0%; $\chi^2=4,78$; $p<0,05$), не получавших антиоксидантной терапии НАС. Во IIA подгруппе число больных с положительным результатом составило 6 (35,3%) при явной выраженной тенденции к повышению по сравнению с установленными аналогичными значе-

Таблица 1. Различия средних значений показателей перекисного окисления липидов (мкмоль/л), СОД (у.е./мл) и реакции дыхательных путей к холодному воздуху у здоровых лиц и больных ХОБЛ

| Показатели | Группа здоровых n =12 | Больные ХОБЛ | | p |
|-----------------------------|--------------------------|-------------------|--------------------|--------|
| | | I группа n =24 | II группа n =32 | |
| ТБК-реактивные продукты | 2,36±0,24 | 3,29±0,38* | 4,71±0,45** | < 0,05 |
| СОД | 18,62±0,62 | 16,64±0,68* | 14,36±0,79** | < 0,05 |
| $\Delta\text{ОФВ1, ХВ, \%}$ | -3,98±1,81 | -4,31±0,88 | -19,44±2,39 | <0,001 |

Примечание: p – уровень значимости различий между группами больных; * - уровень значимости различий в сравнении с группой здоровых (* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$); ХВ – в ответ на изоканическую гипервентиляцию холодным воздухом.

Таблица 2. Динамика показателей перекисного окисления липидов (мкмоль/л), СОД (у.е./мл) и холодовой реактивности дыхательных путей у больных ХОБЛ после 12 нед. терапии

| Показатели | Клинические группы | | |
|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|------------|
| | I | II-A | II-B |
| ТБК-реактивные группы | n -24 3,29±0,38 2,53±0,28* | n -15 n -17 | |
| | | 4,71±0,45 | |
| СОД | 16,64±0,68 17,88±0,79* | 14,36±0,74 | |
| | | 15,52±0,71 ¹ | 14,79±0,64 |
| ΔОФВ ₁ ХВ, % | -4,31±0,88 -4,02±1,21 | -19,44±2,39 | |
| | | -16,1±2,31 | -20,3±3,42 |

Примечание: - в числителе исходные значения, в знаменателе – через 12 недель; * - $p < 0,05$ для обеих групп по сравнению с исходными значениями; 1 - $p < 0,05$ для I группы по сравнению с группой II-A; 2- $p < 0,05$ для I группы по сравнению с группой II-B.

ниями у больных подгруппы II-B ($\chi^2=2,56; p>0,05$). Более того, при расчёте показателей отношения шансов (ОШ) было выявлено, что вероятность достижения поддержания функции лёгких за 12 нед. терапии возрастала более чем в 1,5 раз у пациентов, распределённых в I группу в сравнении с подгруппой II-A (ОШ – 1,77; 95%-ный ДИ 1,08-3,34) и более чем в 5 раз в сравнении с II-B подгруппой (ОШ-5,62; 95%-ный ДИ 2,36-9,65). Пациенты, получившие дополнительно терапию препаратом НАС, более чем в 4 раза достигали улучшения показателей ΔОФВ₁ в сравнении с пациентами, которые принимали лишь стандартную терапию (ОШ-4,52; 95%-ный ДИ 2,98-8,1). При сравнении среднегрупповых параметров реакций бронхов на холодный воздух мы не нашли достоверных различий при их сопоставлении у больных подгрупп II-A и II-B. Бронхиальная проходимость после холодовой провокации в I группе больных оставалась аналогичной исходной (табл. 2).

С позиции оксидативного стресса сохранение высокого уровня хБГР у больных ХОБЛ на фоне применения НАС свидетельствует о системном поддержании свободнорадикальных процессов в организме за счёт одного из важнейших факторов их инициации – хронического воспаления бронхолегочной системы, для фармакологической коррекции которого, вероятно, требуется достаточно продолжительный период в стабильной дозе приёма НАС.

Установленные на фоне предложенной терапии довольно выраженные различия в динамике снижения бронхиальной обструкции у больных I группы в сравнении с подгруппами II-A и II-B характеризовались неоднозначно направленными признаками дисбаланса в системе «оксиданты-антиоксиданты». Так, из представленных данных (табл. 2) видно, что после лечения у больных подгрупп II-A и II-B в условии низкого снижения обструкции бронхов системные концентрации ТБК-реактивных продуктов оставались на достаточно высоком уровне по сравнению с группой контроля, исходным состоянием и больными I группы. Полученные различные результаты, свидетельствующие о напряжённости процессов ПОЛ и ассоциирующиеся с выраженностью

восстановления бронхиальной обструкции, указывают на значимость процессов окислительного повреждения, в частности, липопероксидации, в моделировании параметров бронхиальной проходимости. Установленная высокая активность оксидативной модификации липидов, находящая отражение в увеличении содержания количества системных ТБК-реактивных продуктов по мере снижения восстановления бронхообструкции, подтверждается наличием установленной обратной корреляционной зависимости со значениями ОФВ₁ ($r=-0,63; p<0,01$).

В условиях диагностируемой необратимой повышенной продукции гидроперекисей липидов на фоне антиоксидантной терапии НАС у больных ХОБЛ с хБГР чётко прослеживается несостоятельность компенсаторных возможностей антиоксидантной защиты по значению снижения её ферментативного звена СОД относительно соответствующих величин в группе контроля и у больных I группы (табл. 2).

Пациенты II-A и II-B групп на момент начала исследования имели однозначное значение указанных показателей. Это является неблагоприятным прогностическим фактором в связи с возможной стимуляцией хронического воспаления в бронхолегочной системе, опосредованной чрезмерным окислением липидов при включении процессов активации ПОЛ в «порочный круг» оксидативного стресса [5], косвенно подтверждённого нашим исследованием для механизмов гиперреактивности бронхов в условиях ХОБЛ, причём, по нашему мнению, в большей степени у больных ХОБЛ с хБГР.

Вероятно, для достижения наиболее оптимальной коррекции оксидативного стресса в зимне-весенний период года у больных с хБГР необходим дальнейший поиск более пролонгированного, чем 12 нед., срока антиоксидативной терапии НАС в режиме стабильного дозирования.

Выводы

1. У больных ХОБЛ с хБГР в стадии стабильного течения выявляется высокая частота дисбаланса в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная

защита», адекватно отражающего холодовую гиперреактивность бронхов в зимний период года.

2. Гиперпродукция свободно-радикальных метаболитов у больных ХОБЛ, в частности, ТБК-реактивных продуктов в условиях несостоятельности активности антиоксидантного ферментативного звена (СОД) защиты организма от окислительного стресса во многом определяют более выраженную реакцию бронхов на холодовой стимул

3. Антиоксидантная терапия больных ХОБЛ с хБГР НАС (600мг/сут в течение 12 нед.) в качестве дополнения к стандартному лечению приводит к повышению компенсаторных возможностей организма противостоять окислительному стрессу, что ассоциируется

с предотвращением прогрессирования бронхиальной обструкции. ■

Колосов А.В. – к.м.н., старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук; Мальцева Т.А. – аспирант Федерального государственного бюджетного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук; Автор, ответственный за переписку - Колосов Артём Викторович. kolosov.53@inbox.ru

Литература:

1. Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report/last update 2009. www.goldcopd.org
2. MacNee W. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. Proc. Am. Thorac Soc. 2005; 2(1): 50-60.
3. Кокосов А.Н., Гольденберг Ю.М., Мищенко В.П. Перекисное окисление липидов и гемостаз на этапах формирования хронического бронхита и бронхиальной астмы. Пульмонология. 1995; 1: 38-42.
4. Чучалин А.Г. Система оксиданты-антиоксиданты и пути медикаментозной коррекции. Пульмонология. 2004; 2: 111-115.
5. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. Пульмонология. 2012; 1: 5-10.
6. Narula M.K., Ahuja G.K., Whig J., Narang A.P., Soni R.K. Status of lipid peroxidation and plasma iron level in bronchial asthmatic patients. Indian J Physiol Pharmacol. 2007; 51(3): 289-92.
7. Suzuki S., Matsukura S., Takeuchi H. et al. Increase in reactive oxygen metabolite level in acute exacerbations of asthma. Int Arch Allergy Immunol. 2008; 1: 67-72.
8. Колосов В.П., Перельман Ю.М., Гельцер Б.И. Реактивность дыхательных путей при обструктивной болезни легких. Владивосток: Дальнаука; 2006.
9. Kostikas K., Koutsoumbou S., Karamanis T., Papatheodorou G., Loukides S. Isocapnic cold air challenge in patients with COPD: are there any predisposing factors? COPD. 2008; 5(3): 171-6.
10. Koskela H.O. Gold air-provoked respiratory symptoms: the mechanisms and management. Int. J. Circumplary Health. 2007; 66: 91-100.
11. McKerny D.D., Neuhauser W.M., Julius D. Identification of a cold receptor in thermosensation. Nature. 2002; 416: 52-58.
12. Sabnis A.S., Shadid M., Jost G.S., Reilly C.A. Human Lung Epithelial Cells Express a Functional Gold-Sensing TRPM8 Variant/ Am. J. Respir. Cel. Mol. Biol. 2008; 39: 466-474.
13. Earley S. Vanilloid and melastatin transient receptor potential channels in vascular smooth muscle. Microcirculation. 2010; 17: 237-249.
14. De Benedetto F., Aceto A., Dragani B. et al. Long-term oral n-acetylcysteine reduces exhaled hydrogen peroxide in stable COPD. Pulm Pharmacol Ther. 2005; 18: 41-47.
15. Ульяновичев Н.В. Автоматизированная система для научных исследований в области физиологии и патологии дыхания. Новосибирск: ВО Наука; 1993.