



РОЛЬ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В ФОРМИРОВАНИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ С ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Резюме. Цель исследования: оценить роль метаболитов оксида азота в формировании эндотелиальной дисфункции у детей с персистирующей бронхиальной астмой в периодах обострения и ремиссии заболевания. **Материалы и методы.** Обследовано 58 пациентов в возрасте от 6 до 17 лет, страдающих персистирующей бронхиальной астмой, в периоды обострения и ремиссии заболевания, а также 15 практически здоровых детей группы контроля с целью оценки роли метаболитов оксида азота в формировании эндотелиальной дисфункции. Определяли уровни метаболитов оксида азота (S-нитрозотиол, NO₂, NO₃) в сыворотке крови, толщину комплекса интимы-медиа ультразвуковым дуплексным сканированием, эндотелийзависимую дилатацию плечевой артерии с помощью манжеточной пробы. **Результаты.** Установлено снижение уровней метаболитов оксида азота, эндотелийзависимой дилатации плечевой артерии, утолщение комплекса интимы-медиа в период обострения. В динамике выявлено достоверное повышение уровней метаболитов оксида азота и эндотелийзависимой дилатации плечевой артерии по сравнению с периодом обострения, однако данные показатели остаются ниже в сравнении с показателями контрольной группы, что свидетельствует о наличии стойких изменений в сосудистой стенке. **Выводы.** Метаболиты оксида азота, а также толщина комплекса интимы-медиа общей сонной артерии и эндотелийзависимая дилатация плечевой артерии могут использоваться как маркеры выявления эндотелиальной дисфункции у детей с бронхиальной астмой.

Ключевые слова: метаболиты оксида азота, эндотелиальная дисфункция, дети.

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами: № 0114U0093 «Медико-биологическая адаптация детей с соматической патологией в современных условиях».

Среди заболеваемости в целом и детских болезней в частности бронхиальная астма (БА) занимает одно из ведущих мест. В мировом рейтинге БА является одним из топ-20 хронических состояний, а в возрасте 5–14 лет — одной из топ-10 причин, приводящих к инвалидизации детей [7, 8].

При изучении механизмов развития БА в последние годы пристальный интерес исследователей вызывает эндотелиальная дисфункция, которая, обнаруживаясь уже на ранних стадиях заболевания, усугубляет нарастающие дыхательную недостаточность, гипоксемию и гипоксию тканей [2, 4, 10]. Участие эндотелия в регуляции системного и легочного сосудистого тонуса осу-

ществляется путем образования и высвобождения вазодилататорных и вазоконстрикторных веществ, в частности эндотелина-1 и эндотелийзависимого расслабляющего фактора — оксида азота (NO) [4]. Нарушение метаболизма оксида азота играет ведущую роль в дисфункции эндотелия. Вместе с тем оксид азота имеет важное значение в реализации многих патофизиологических эффектов при БА, являясь биологическим маркером активности воспалительного процесса [6]. Кроме того, в

Адрес для переписки с авторами:
Васильченко Юлия Викторовна
E-mail: y_vasilchenkojul1985@mail.ru

© Одинец Ю.В., Васильченко Ю.В., 2016

© «Здоровье ребенка», 2016

© Заславский А.Ю., 2016

условиях низких концентраций NO способствует развитию Th2-ассоциированного ответа, а в условиях высоких концентраций приводит к усилению Th1-ответа [1]. С учетом короткого периода полураспада данной молекулы в экспериментальных и клинических работах для оценки общего синтеза NO получило широкое распространение определение конечных метаболитов — нитритов и нитратов, являющихся устойчивыми конечными продуктами NO [9].

Несмотря на успехи в изучении эндотелиальной функции у больных с различной патологией, функциональное состояние эндотелия и ремоделирование сосудов дыхательных путей при БА остаются дискуссионными, что требует дальнейшего изучения.

Цель: оценить роль метаболитов оксида азота в формировании эндотелиальной дисфункции у детей с персистирующей БА в периодах обострения и ремиссии заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 58 детей (31 (53,4 %) мальчик и 27 (46,6 %) девочек) в возрасте от 6 до 17 лет (средний возраст составил $12,4 \pm 2,5$ года) с персистирующим течением БА, которые находились на обследовании и лечении в пульмонологическом отделении КУОЗ «Харьковская городская клиническая детская больница № 16». Диагноз устанавливали на основании клинико-anamnestических данных, биохимических, инструментальных исследований с учетом требований, регламентированных соответствующим протоколом (приказ № 868 МЗ Украины от 08.10.2013). Группу контроля составили 15 практически здоровых детей, сопоставимых по полу и возрасту.

В зависимости от тяжести течения БА обследуемые были разделены на 3 группы: в 1-ю группу вошли дети с легким персистирующим течением ($n = 26$), во 2-ю — со среднетяжелым течением ($n = 20$), в 3-ю — с тяжелым течением заболевания ($n = 12$).

Исследование толщины комплекса интимы-медиа общей сонной артерии (КИМ ОСА) проводили с помощью ультразвукового дуплексного сканирования в дистальной трети общей сонной артерии по методу P. Pignolli (1986). Для определения эндотелийзависимой дилатации плечевой артерии использовали манжеточную пробу по D.S. Celermajer и соавт. (1992). При проведении данной пробы нормальным состоянием эластичности сосудов принято считать максимальный прирост диаметра плечевой артерии более 10 % [8]. Обследование проводилось с помощью цифрового доплеровского ультразвукового диагностического комплекса Ultima PA с использованием датчика 10–15 МГц. Измерялись уровни метаболитов оксида азота: S-нитрозотиола — спектрофлуориметрическим методом, NO_2 , NO_3 — спектрофотометрическим методом с применением реакции Грисса с помо-

щью анализатора биохимического Stat Fax 303+. Больные обследованы в периодах обострения и ремиссии заболевания.

Статистический анализ проводили с помощью статистических пакетов Excel for Windows и Statistica 7.0 for Windows. В качестве характеристики группы для признаков с распределением, соответствующим закону Гаусса, использовали среднее арифметическое значение (\bar{X}), его ошибку ($\bar{S}\bar{X}$) и стандартное отклонение (S). Для выборок с распределением, отличным от нормального, определяли медиану (Me) и интерквартильный размах (Lq — нижний квартиль; Uq — верхний квартиль). При сравнении показателей, которые характеризовались сравнением более 2 точек, использовали H-критерий дисперсионного анализа Краскела — Уоллиса (KW H). Уровень значимости определялся с учетом поправки Бонферрони. Для сравнения двух независимых выборок использовали непараметрический U-критерий Манна — Уитни (MW); для сравнения двух зависимых выборок — непараметрический критерий Уилкоксона (T). Оценку связи между рядами показателей определяли с помощью метода ранговой корреляции Спирмана (r). Уровень значимости — с учетом $p < 0,05$.

Результаты

Статистически значимых различий по полу не выявлено ($p > 0,05$). Продолжительность заболевания более 5 лет чаще отмечалась у детей с тяжелым течением заболевания ($p_{1-3} = 0,0011$; $p_{2-3} = 0,0103$).

У подавляющего большинства обследуемых (77,3 %; $p < 0,001$) диагностирована аллергическая форма БА. Однако по мере увеличения степени тяжести установлена тенденция к снижению относительного количества детей с аллергической формой и, соответственно, увеличению числа пациентов со смешанной формой заболевания. У 64,2 % детей с наиболее тяжелым течением заболевания установлена смешанная форма БА.

При анализе данных аллергологического анамнеза у детей всех трех групп выявлена сопутствующая аллергопатология. У 28,4 % пациентов установлен диагноз «сезонный аллергический ринит», у 7,2 % обследованных — «атопический дерматит» и у 4,9 % детей — оба сопутствующих аллергических состояния.

Результаты исследования показателей функции эндотелия сосудов у детей с персистирующей БА в периоде обострения представлены в табл. 1, в периоде ремиссии — в табл. 2.

Во время проведения дисперсионного анализа KW статистических характеристик показателей состояния функции эндотелия установлено, что критерий H по таким параметрам, как процент прироста диаметра плечевой артерии на 30-й секунде (H = 38,22; $p = 0,0000$), КИМ ОСА (H = 31,48; $p = 0,0000$), S-нитрозотиол (H = 35,67; $p = 0,0000$), NO_2 (H = 39,51; $p = 0,0000$), NO_3 (H = 33,75; $p = 0,0000$), высокосignификантны. Это дает право

утверждать, что статистические характеристики соответствующих показателей различных групп достоверно отличаются между собой, а уровень этих показателей зависит от принадлежности пациента к той или иной группе.

При оценке процента прироста диаметра плечевой артерии на 30-й секунде определено статистически значимое снижение его в период обострения у больных всех групп по сравнению с детьми группы контроля (соответственно $p_{k-1} = 0,0001$, $p_{k-2} = 0,0004$, $p_{k-3} = 0,0000$, где p_k — показатели контрольной группы, p_{1-3} — показатели больных 1-й, 2-й и 3-й групп). Наиболее выраженные изменения выявлены у детей с тяжелой степенью заболевания ($p_{1-3} = 0,0002$; $p_{1-2} = 0,0001$). При анализе данного показателя в период ремиссии отмечается его достоверное повышение по сравнению с периодом обострения ($p_{1\text{обостр.-1ремис.}} = 0,0001$, $T = 2$; $p_{2\text{обостр.-2ремис.}} = 0,0003$, $T = 2$; $p_{3\text{обостр.-3ремис.}} = 0,0002$, $T = 2$), однако остается достоверно ниже нормативных величин ($p_{k-1\text{ремис.}} = 0,0135$; $p_{k-2\text{ремис.}} = 0,0012$; $p_{k-3\text{ремис.}} = 0,0006$).

Толщину КИМ ОСА по сравнению с контролем у пациентов всех групп регистрировали достоверно выше (соответственно $p_{k-1} = 0,0000$; $p_{k-2} = 0,0002$; $p_{k-3} = 0,0001$). В периоде ремиссии толщина КИМ ОСА достоверно снижалась ($p_{1\text{обостр.-1ремис.}} = 0,0011$, $T = 2$; $p_{2\text{обостр.-2ремис.}} = 0,0009$, $T = 2$; $p_{3\text{обостр.-3ремис.}} = 0,0058$, $T = 2$), но в сравнении с показателями группы контроля сохранялась повышенной (соответственно $p_{k-1\text{ремис.}} = 0,0005$; $p_{k-2\text{ремис.}} = 0,0024$; $p_{k-3\text{ремис.}} = 0,0011$).

Исследование содержания S-нитрозотиола в крови определило статистически значимое сни-

жение его уровня по сравнению с контролем у детей всех групп (соответственно $p_{k-1} = 0,0000$; $p_{k-2} = 0,0002$; $p_{k-3} = 0,0000$). Существенные изменения выявлены уже при легком течении заболевания, а у детей 3-й группы уровень S-нитрозотиола был значительно снижен ($p_{1-3} = 0,0005$; $p_{1-2} = 0,0001$). При проведении статистической обработки данного показателя в периоде ремиссии установлено, что уровень S-нитрозотиола повышался в сравнении с периодом обострения ($p_{1\text{обостр.-1ремис.}} = 0,0003$, $T = 2$; $p_{2\text{обостр.-2ремис.}} = 0,0001$, $T = 2$; $p_{3\text{обостр.-3ремис.}} = 0,0021$, $T = 2$), но сохранялся достоверно ниже показателей детей группы контроля ($p_{k-1\text{ремис.}} = 0,0006$; $p_{k-2\text{ремис.}} = 0,0001$; $p_{k-3\text{ремис.}} = 0,0005$). Также определено и статистически значимое снижение уровней NO_2 и NO_3 в крови по сравнению с группой контроля (соответственно $p_{k-1} = 0,0000$; $p_{k-2} = 0,0001$; $p_{k-3} = 0,0000$; $p_{k-1} = 0,0010$; $p_{k-2} = 0,0008$; $p_{k-3} = 0,0022$). Установлено, что уровни метаболитов оксида азота в периоде ремиссии повышаются (NO_2 : $p_{1\text{обостр.-1ремис.}} = 0,0002$, $T = 2$; $p_{2\text{обостр.-2ремис.}} = 0,0172$, $T = 2$; $p_{3\text{обостр.-3ремис.}} = 0,0011$, $T = 2$; NO_3 : $p_{1\text{обостр.-1ремис.}} = 0,0008$, $T = 2$; $p_{2\text{обостр.-2ремис.}} = 0,0012$, $T = 2$; $p_{3\text{обостр.-3ремис.}} = 0,0009$, $T = 2$), однако остаются ниже, чем у детей группы контроля (NO_2 : $p_{k-1\text{ремис.}} = 0,0005$, $p_{k-2\text{ремис.}} = 0,0020$, $p_{k-3\text{ремис.}} = 0,0032$; NO_3 : $p_{k-1\text{ремис.}} = 0,0000$, $p_{k-2\text{ремис.}} = 0,0000$, $p_{k-3\text{ремис.}} = 0,0000$).

Обсуждение

Снижение уровней метаболитов NO указывает на дефицит NO-зависимой функции эндотелия. На современном этапе уровень нитритов крови рассценивается как предиктор активности эндотели-

Таблица 1. Показатели функции эндотелия у детей с различной степенью тяжести БА в период обострения заболевания (Me (Lq; Uq))

Показатели функции эндотелия	1-я группа (n = 26)	2-я группа (n = 20)	3-я группа (n = 12)	Контроль (n = 15)
Процент прироста диаметра плечевой артерии на 30-й секунде	7,56 (6,62; 9,25)	7,12 (6,11; 7,72)	5,30 (4,16; 5,52)	19,35 (17,00; 21,00)
КИМ ОСА, мм	1,0 (0,9; 1,1)	1,0 (0,8; 1,2)	1,2 (1,1; 1,3)	0,6 (0,5; 0,7)
S-нитрозотиол, ммоль/л	0,18 (0,13; 0,21)	0,13 (0,12; 0,16)	0,11 (0,08; 0,13)	0,33 (0,28; 0,37)
NO_2 , мкмоль/л	8,28 (7,11; 11,32)	7,45 (6,14; 12,62)	6,21 (5,59; 10,96)	11,48 (10,86; 12,34)
NO_3 , мкмоль/л	13,68 (11,54; 17,52)	14,15 (11,45; 19,95)	9,74 (9,52; 14,69)	29,21 (28,15; 30,55)

Таблица 2. Показатели функции эндотелия у детей с различной степенью тяжести БА в период ремиссии заболевания (Me (Lq; Uq))

Показатели функции эндотелия	1-я группа (n = 26)	2-я группа (n = 20)	3-я группа (n = 12)	Контроль (n = 15)
Процент прироста диаметра плечевой артерии на 30-й секунде	10,00 (8,00; 14,00)	9,00 (8,00; 10,00)	8,00 (6,00; 9,00)	19,35 (17,00; 21,00)
КИМ ОСА, мм	0,9 (0,8; 1,0)	1,0 (0,8; 1,0)	1,0 (0,9; 1,2)	0,6 (0,5; 0,7)
S-нитрозотиол, ммоль/л	0,29 (0,27; 0,33)	0,28 (0,22; 0,30)	0,21 (0,17; 0,24)	0,33 (0,28; 0,37)
NO_2 , мкмоль/л	11,02 (9,86; 13,42)	7,65 (6,34; 12,25)	6,35 (5,98; 10,86)	11,48 (10,86; 12,34)
NO_3 , мкмоль/л	21,15 (20,05; 28,47)	10,77 (9,65; 12,34)	9,93 (9,58; 14,42)	29,21 (28,15; 30,55)

альной NO-синтазой (eNOS). Это указывает на выраженное угнетение eNOS, слабую реакцию индуцибельной (iNO) синтазой [3].

Дополнительно проведенный анализ корреляционных связей между уровнями S-нитрозотиола в сыворотке крови и эндотелийзависимой дилатации плечевой артерии выявил наличие достоверной прямой связи ($r = +0,61$; $p < 0,05$) у пациентов с БА в периоде обострения. Также выявлены обратные корреляционные связи S-нитрозотиола, NO_2 , NO_3 с IgE сыворотки крови ($r = -0,56$, $r = -0,45$, $r = -0,39$ соответственно; $p < 0,05$). Это может объясняться тем, что при низких концентрациях NO относительно угнетает продукцию интерферона γ и интерлейкина-2 Th1-клетками, не влияя на синтез интерлейкина-4 Th2-клетками, обуславливая Th2-направленность иммунного ответа [1].

Проведенное исследование показало, что у детей, больных БА, имеются признаки эндотелиальной дисфункции уже при легком персистирующем течении заболевания. Установлено, что у детей со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания уровни конечных метаболитов оксида азота сохраняются сниженными и в период ремиссии.

Выводы

Таким образом, уровень эндотелиальной дисфункции и дисрегуляции сосудистого тонуса зависит от периода заболевания и увеличивается по мере нарастания тяжести течения БА. Отмечено, что конечные продукты метаболитов оксида азота остаются сниженными и в периоде ремиссии заболевания, продолжая оказывать воздействие на стенку сосуда, приводя к нарушению его тонуса, тем самым формируя стойкие изменения в сосудистой стенке, а снижение их концентрации обуславливает Th2-направленность иммунного ответа, что подтверждается наличием обратных корреляционных связей с IgE сыворотки крови. Метаболиты оксида азота (S-нитрозотиол, NO_2 , NO_3), а также толщина

КИМ ОСА и эндотелийзависимая дилатация плечевой артерии могут использоваться как маркеры выявления эндотелиальной дисфункции у детей с бронхиальной астмой.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Абатуров А.Е. Механизм действия активированных азотсодержащих метаболитов в респираторном тракте: провоспалительное действие (часть 3) / А.Е. Абатуров, А.П. Воловцев, А.Е. Худяков // *Здоровье ребенка*. — 2016. — № 2. — С. 188-194.
2. Волкова О.А. Изучение дисфункции эндотелия у детей с бронхиальной астмой // *Актуальные проблемы медицины*. — 2011. — С. 178-181.
3. Воронина Л.П., Полунина О.С., Севостьянова И.В. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота // *Астраханский медицинский журнал*. — 2011. — № 2. — С. 47-50.
4. Поляков В.В., Сенаторова А.С. Клиническое значение эндотелиальной дисфункции у детей с рецидивирующим обструктивным бронхитом и бронхиальной астмой // *Международный медицинский журнал*. — 2012. — № 2. — С. 32-35.
5. Попова А.А., Березикова Е.Н., Маянская С.Д., Яковлева Н.Ф. Эндотелиальная дисфункция и механизмы ее формирования // *Сибирское медицинское обозрение*. — 2010. — Т. 64, № 4.
6. Рывкин А.И., Адрианова Е.Н., Решетова Т.Г., Побединская Н.С. Роль оксида азота и эндотелиальной дисфункции в генезе респираторных нарушений при бронхиальной астме у детей // *Педиатрия*. — 2003. — № 6.
7. Феценко Ю.И. Бронхиальная астма — одна из главных проблем современной медицины // *Український пульмонологічний журнал*. — 2006. — № 2 (дод.). — С. 13-16.
8. Asher I., Pearce N. Global burden of asthma among children // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* — 2014 Nov. — № 18(11). — P. 1269-1278.
9. Celermajer D.S. Testing endothelial function using ultrasound // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 1998. — Vol. 32(Suppl. 3). — P. 29-32.
10. Wanner A., Mendes E.S. Airway Endothelial Dysfunction in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Challenge for Future Research // *Am. J. of Respiratory and Crit. Care Med.* — 2010. — Vol. 182. — P. 1344-1351.

Получено 05.10.16 ■

Одинець Ю.В., Васильченко Ю.В.

Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна

РОЛЬ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ У ФОРМУВАННІ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ДІТЕЙ ІЗ ПЕРСИСТУЮЧОЮ БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ

Резюме. Мета дослідження: оцінити роль метаболітів оксиду азоту у формуванні ендотеліальної дисфункції у дітей із персистоючою бронхіальною астмою в періодах загострення і ремісії захворювання. **Матеріали та методи.** Обстежено 58 пацієнтів віком від 6 до 17 років, які страждають від персистоючої бронхіальної астми, в періоди загострення і ремісії захворювання, а також 15 практично здорових дітей групи контролю з метою оцінки ролі метаболітів оксиду азоту у формуванні ендотеліальної дисфункції. Визначали рівні метаболітів оксиду азоту (S-нітрозотиол, NO_2 , NO_3) у сироватці крові, товщину комплексу інтими-медіа ультразвуковим дуплексним скануванням, ендотеліальну дилатацію плечової артерії за допомогою манжеточної проби. **Результати.** Встановлено зниження рівнів метаболітів оксиду азоту,

ендотеліальної дилатації плечової артерії, потовщення комплексу інтими-медіа в період загострення. У динаміці виявлено вірогідне підвищення рівнів метаболітів оксиду азоту і ендотеліальної дилатації плечової артерії порівняно з періодом загострення, проте дані показники залишаються нижчими порівняно з показниками контрольної групи, що свідчить про наявність стійких змін у судинній стінці. **Висновки.** Метаболіти оксиду азоту, а також товщина комплексу інтими-медіа загальної сонної артерії і ендотеліальна дилатація плечової артерії можуть використовуватися як маркери виявлення ендотеліальної дисфункції у дітей із бронхіальною астмою.

Ключові слова: метаболіти оксиду азоту, ендотеліальна дисфункція, діти.

Odinets Yu.V., Vasilchenko Y.V.
Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

THE ROLE OF NITRIC OXIDE METABOLITES IN THE FORMATION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN CHILDREN WITH PERSISTENT BRONCHIAL ASTHMA

Summary. The aim of the study was to assess the role of nitric oxide metabolites in the development of endothelium dysfunction in children with persistent bronchial asthma in acute period and during remission. **Material and methods.** Fifty eight children aged 6–17 years old suffering from persistent bronchial asthma in the period of exacerbation and remission of disease and 15 healthy children of control group have been examined in order to evaluate the role of the metabolites of nitric oxide levels for the development of endothelium dysfunction in the children with persistent bronchial asthma. There were determined serum blood S-nitrosothiol, NO₂, NO₃, the intima-media complex by the ultrasound duplex scanning and endothelium-dependent dilation status of the brachial artery by cuff probe. **Results.** It showed a reduction in the levels of ni-

tric oxide metabolites and endothelium-dependent dilation of the brachial artery, intima-media thickening in the period of exacerbation. There was revealed a significant increase in the levels of nitric oxide metabolites and endothelium-dependent dilation of the brachial artery compared with the period of exacerbation, but these findings are still lower in comparison with the control group, which indicates the presence of persistent changes in the vascular wall. **Conclusion.** The nitric oxide metabolites as well as the carotid intimal medial thickness and endothelium-dependent dilation of brachial artery should be markers of endothelium dysfunction in the children with bronchial asthma.

Key words: metabolites of nitric oxide, endothelial dysfunction, children.