

УДК616.248-053.2-018.74-092

## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В РАЗВИТИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Одинец Ю.В. (odinec@mail.ru), Васильченко Ю.В. (y\_vasilchenkojul1988@mail.ru)

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

*У 44 пациентов в возрасте от 6 до 17 лет, страдающих персистирующей бронхиальной астмой в разные периоды заболевания, установлено снижение уровней метаболитов оксида азота, снижение эндотелийзависимой дилатации плечевой артерии, утолщение комплекса интимы-медиа в период обострения. В динамике отмечено повышение уровней метаболитов оксида азота и эндотелийзависимой дилатации плечевой артерии по сравнению с периодом обострения, однако данные показатели оставались ниже в сравнении с показателями контрольной группы, что свидетельствует о наличии стойких изменений в сосудистой стенке.*

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

### Введение

На сегодняшний день около 334 млн человек во всем мире страдают бронхиальной астмой (БА). В мировом рейтинге БА является одним из топ-20 хронических состояний, а в возрасте 5-14 лет она является одной из топ-10 причин, приводящих к инвалидизации детей [7]. Клиницисты обеспокоены ростом смертности от БА и количеством госпитализаций в педиатрические учреждения [6].

В последние годы пристальный интерес исследователей при изучении механизмов развития БА привлекает эндотелиальная дисфункция, которая, обнаруживаясь уже на ранних стадиях заболевания, усугубляет нарастающую дыхательную недостаточность, гипоксемию и гипоксию тканей [1, 3, 9]. Участие эндотелия в регуляции системного и легочного сосудистого тонуса осуществляется путем образования и высвобождения вазодилаторных и вазоконстрикторных веществ, в частности эндотелина-1 и эндотелийзависимого расслабляющего фактора — оксида азота (NO) [3]. 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 [5]. Учитывая короткий период полураспада данной молекулы в экспериментальных и клинических работах для оценки общего синтеза NO получило широкое распространение определение конечных метаболитов — нитритов и нитратов, являющимися устойчивыми конечными продуктами NO [8].

Несмотря на успехи в изучении эндотелиальной функции у пациентов с разной патологией, функциональное состояние эндотелия и ремоделирования сосудов дыхательных путей при БА остается дискуссионным, что требует дальнейшего изучения.

**Цель** — оценить состояние функции эндотелия у детей с БА на основании изучения уровней метаболитов оксида азота в сыворотке крови при БА в разные периоды заболевания.

### Материалы и методы

Проведено обследование 44 детей в возрасте от 6 до 17 лет (средний возраст составил

12,5±2,3 лет) с персистирующим течением БА, которые находились на обследовании и лечении в пульмонологическом отделении КЗОЗ «Харьковская городская клиническая детская больница №16». Диагноз устанавливали на основании клинико-anamnestических данных, биохимических, инструментальных исследований с учетом требований, регламентированных соответствующим протоколом (приказ № 868 МОЗ Украины от 08.10.2013 г.). 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 группу вошли дети с легким персистирующим течением (n=18), во 2 – со средне-тяжелым течением (n=15), в 3 – с тяжелым течением заболевания (n=11).

Исследование толщины комплекса интимы медиа общей сонной артерии (КИМ ОСА) проводили с помощью ультразвукового дуплексного сканирования в дистальной трети общей сонной артерии по методу Pignolli P. (1986). Для определения эндотелийзависимой дилатации плечевой артерии использовали манжеточную пробу по Celermajer D.S. 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 дуплексного ультразвукового диагностического комплекса «UltimaPA» с использованием датчика 10-15 МГц. Уровень метаболитов оксида азота: S-нитрозотиола, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> – спектрофлюориметрическим методом с применением реакции Грисса с помощью анализатора биохимического STAT FAX 303+. Больные обследованы в периоде обострения и ремиссии заболевания.

Статистический анализ проводили с помощью статистических пакетов "EXCELL 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 ( $S\bar{X}$ ) 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 Н-критерий дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса (KW). Уровень значимости определялся с учетом поправки Бонферрони. Для сравнения двух независимых выборок использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни (MW). Для сравнения двух зависимых выборок использовали непараметрический критерий Уилкоксона (T). Оценку связи между рядами показателей определяли с помощью метода ранговой корреляции Спирмена (r). Уровень значимости определяли с учетом  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Среди обследованных было 23 (52,2%) мальчика и 21 (47,8%) девочка. Статистически значимых различий по полу не выявлено ( $p > 0,05$ ). У большинства детей с БА (63,6%,  $p = 0,0102$ ) длительность заболевания превышала 5 лет.

У подавляющего большинства обследуемых (79,4%,  $p < 0,001$ ) диагностирована аллергическая форма БА. Однако у детей по мере увеличения степени тяжести установлена тенденция к снижению относительного количества детей с аллергической формой, и, соответственно, увеличение пациентов со смешанной формой заболевания. У 63,6% детей с наиболее тяжелым течением заболевания установлена смешанная форма БА.

При анализе данных аллергологического анамнеза у детей всех трех групп выявлена сопутствующая аллергопатология. У 27,2% пациентов установлен диагноз: сезонный аллергический ринит, у 6,8% обследованных – атопический дерматит и у 4,5% детей – обе сопутствующие аллергические состояния.

Результаты исследования показателей функции эндотелия у детей с БА в периодах обострения и ремиссии представлены в таблицах 1 и 2.

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

Показатели эндотелиальной дисфункции	1 группа (n=18)	2 группа (n=15)	3 группа (n=11)	Контроль (n=17)
% прироста диаметра плечевой артерии на 30 сек.	7,50 (6,60;9,37)	7,00 (6,25;7,50)	5,40 (4,80;5,80)	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	0,17 (0,11;0,22)	0,14 (0,11;0,16)	0,11 (0,07;0,12)	0,33 (0,28;0,37)
NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	8,25 (7,13;11,22)	7,65 (6,34;13,25)	6,35 (5,98;10,86)	11,48 (10,86;12,34)
NO <sub>3</sub> , мкмоль/л	13,85 (12,47;16,78)	14,15 (10,45;20,34)	9,38 (9,58;14,42)	29,21 (28,15;30,55)

Во время проведения дисперсионного анализа KW статистических характеристик показателей состояния эндотелиальной функции установлено, что критерий Н по таким параметрам, как % прироста диаметра плечевой артерии на 30 сек. ( $H = 34,01$ ,  $p = 0,0000$ ), КИМ ОСА ( $H = 29,31$ ,  $p = 0,0000$ ), S-нитрозотиола ( $H = 31,49$ ,  $p = 0,0000$ ),

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

Показатели эндотелиальной дисфункции	1 группа (n=18)	2 группа (n=15)	3 группа (n=11)	Контроль (n=17)
% прироста диаметра плечевой артерии на 30 сек.	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	0,30 (0,24; 0,43)	0,29 (0,24; 0,39)	0,20 (0,18; 0,25)	0,33 (0,28; 0,37)
NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	11,02 (9,96; 13,45)	7,65 (6,34; 12,25)	6,35 (5,98; 10,86)	11,48 (10,86; 12,34)
NO <sub>3</sub> , мкмоль/л	21,15 (20,05; 28,47)	10,77 (9,65; 12,34)	9,83 (9,58; 14,42)	29,21 (28,15; 30,55)

NO<sub>2</sub> ( $H = 32,68$ ,  $p = 0,0000$ ), NO<sub>3</sub> ( $H = 30,95$ ,  $p = 0,0000$ ) высоко значимый. Это дает право утверждать, что статистические характеристики соответствующих показателей разных групп достоверно различаются между собой, а уровень этих показателей зависит от принадлежности пациента к той или иной группе.

При оценке % прироста диаметра плечевой артерии на 30 сек. определено статистически значимое снижение его в период обострения у пациентов всех групп по сравнению с детьми группы контроля (соответственно,  $p_{k-1} = 0,0005$ ,  $p_{k-2} = 0,0000$ ,  $p_{k-3} = 0,0000$ , где  $p_k$  – показатели контрольной группы,  $p_1, 2, 3$  – показатели больных 1, 2 и 3 групп). Наиболее выраженные изменения выявлены у детей с тяжелой степенью заболевания ( $p_{1-3} = 0,0000$ ,  $p_{1-2} = 0,0003$ ). При анализе данного показателя в период ремиссии отмечается его достоверное повышение по сравнению с периодом обострения ( $p_{1обостр.-1ремис.} = 0,0005$ ,  $T = 2$ ;  $p_{2обостр.-2ремис.} = 0,0006$ ,  $T = 2$ ;  $p_{3обостр.-3ремис.} = 0,0050$ ,  $T = 2$ ), однако остается достоверно ниже нормативных величин ( $p_{k-1ремис.} = 0,0012$ ,  $p_{k-2ремис.} = 0,0004$ ,  $p_{k-3ремис.} = 0,0000$ ).

Толщину КИМ ОСА по сравнению с контролем у пациентов всех групп регистрировали достоверно выше (соответственно,  $p_{k-1} = 0,0001$ ,  $p_{k-2} = 0,0000$ ,  $p_{k-3} = 0,0000$ ). В периоде ремиссии толщина КИМ ОСА достоверно снижалась ( $p_{1обостр.-1ремис.} = 0,0014$ ,  $T = 2$ ;  $p_{2обостр.-2ремис.} = 0,0033$ ,  $T = 2$ ;  $p_{3обостр.-3ремис.} = 0,0076$ ,  $T = 2$ ), но в сравнении с показателями группы контроля сохранялась повышенной (соответственно,  $p_{k-1ремис.} = 0,0002$ ,  $p_{k-2ремис.} = 0,0003$ ,  $p_{k-3ремис.} = 0,0001$ ).

Исследование содержания S-нитрозотиола в крови определило статистически значимое снижение его уровня по сравнению с контролем у детей всех групп (соответственно  $p_{k-1} = 0,0000$ ,  $p_{k-2} = 0,0000$ ,  $p_{k-3} = 0,0000$ ). Существенные изменения выявлены уже при легком течении заболевания, а у детей 3 группы уровень S-нитрозотиола был значительно снижен ( $p_{1-3} = 0,0000$ ,  $p_{1-2} = 0,0001$ ). При проведении статистической обработки данного показателя в периоде ремиссии установлено, что уровень S-нитрозотиола

повышался в сравнении с периодом обострения (р1обостр.-1ремис. = 0,0002, T=2; р2обостр.-2ремис. = 0,0006, T=2; р3обостр.-3ремис. = 0,0033, T=2;), но сохранялся достоверно ниже показателей детей группы контроля (рк-1ремис. = 0,0003, рк-2ремис. = 0,0005, рк-3ремис. = 0,0000). Также определено и статистически значимое снижение уровней NO<sub>2</sub> и NO<sub>3</sub> в крови по сравнению с группой контроля (соответственно, рк-1 = 0,0002, рк-2 = 0,0000, рк-3 = 0,0001; рк-1 = 0,0004, рк-2 = 0,0001, рк-3 = 0,0002). Установлено, что уровни метаболитов оксида азота в периоде ремиссии повышаются (NO<sub>2</sub>: р1обостр.-1ремис. = 0,0006, T=2; р2обостр.-2ремис. = 0,0356, T=2; р3обостр.-3ремис. = 0,0033, T=2; NO<sub>3</sub>: р1обостр.-1ремис. = 0,0002, T=2; р2обостр.-2ремис. = 0,0008, T=2; р3обостр.-3ремис. = 0,0034, T=2), однако остаются ниже, чем у детей группы контроля (NO<sub>2</sub> – рк-1ремис. = 0,0006, рк-2ремис. = 0,0003, рк-3ремис. = 0,0001; NO<sub>3</sub> – рк-1ремис. = 0,0000, рк-2ремис. = 0,0002, рк-3ремис. = 0,0000).

Снижение уровней метаболитов NO указывает на дефицит NO-зависимой функции эндотелия. На современном этапе уровень нитритов крови расценивается как предиктор активности эндотелиальной NO-синтетазой (eNOS). Это указывает на выраженное угнетение eNOS, слабую реакцию индуцибельной (iNO) синтетазой [2].

Дополнительно проведенный анализ корреляционных связей между уровнями S-нитрозотиола в сыворотке крови и эндотелийзависимой дилатации плечевой артерии выявил наличие

достоверной прямой связи ( $r=+0,59$ ,  $p<0,05$ ) у пациентов с БА в периоде обострения. Также выявлена обратная корреляционная связь между уровнем S-нитрозотиола и толщиной КИМ ОСА ( $r=-0,50$ ,  $p<0,05$ ), что подтверждает влияние метаболитов оксида азота на состояние сосудистой стенки, участие его в ремоделировании сосудов.

Проведенное исследование показало, что у детей, больных БА, имеются признаки эндотелиальной дисфункции уже при легком персистирующем течении заболевания. Выявлено, что у детей со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания уровни конечных метаболитов оксида азота сохраняются сниженными и в период ремиссии, что, вероятнее всего, и приводит к стойким изменениям в сосудистой стенке.

### Выводы

1. Уровень эндотелиальной дисфункции и дисрегуляции сосудистого тонуса зависит от периода заболевания и увеличивается по мере нарастания тяжести течения БА.

2. Конечные продукты метаболитов оксида азота остаются сниженными и в периоде ремиссии заболевания, продолжая оказывать воздействие на стенку сосуда, приводя к нарушению его тонуса.

3. Метаболиты оксида азота (S-нитрозотиол, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>), а также толщина КИМ ОСА и эндотелийзависимая дилатация плечевой артерии могут использоваться как маркеры выявления эндотелиальной дисфункции у детей с бронхиальной астмой.

### Литература

1. Волкова, О. А. Изучение дисфункции эндотелия у детей с бронхиальной астмой / О. А. Волкова // Актуальные проблемы медицины. – Гродно, 2011. – С. 178-181.
2. Воронина, Л. П. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота / Л. П. Воронина, О. С. Полунина, И. В. Севостьянова // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 47-50.
3. Поляков, В. В. Клиническое значение эндотелиальной дисфункции у детей с рецидивирующим обструктивным бронхитом и бронхиальной астмой / В. В. Поляков, А. С. Сенаторова // Международный медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 32-35.
4. Эндотелиальная дисфункция и механизмы ее формирования / А. А. Попова [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2010. – Т. 64, № 4. – С. 7-11.
5. Роль оксида азота и эндотелиальной дисфункции в генезе респираторных нарушений при бронхиальной астме у детей / А. И. Рывкин [и др.] // Педиатрия. – 2003. – № 6. – С. 1-5.
6. Фещенко, Ю. И. Бронхиальная астма — одна из главных проблем современной медицины / Ю. И. Фещенко // Украинский пульмонологічний журнал. – 2006. – № 2. – С. 13-16.
7. Asher, I. Global burden of asthma among children / I. Asher, N. Pearce // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. – 2014. – Vol. 18, №. 11. – P. 1269-1278.
8. Celermajer, D. S. Testing endothelial function using ultrasound / D. S. Celermajer // Journal of cardiovascular pharmacology. – 1997. – Vol. 32. – P. 29-32.

### Literatura

1. Volkova, O. A. Izuchenie disfunktsii endoteliya u detey s bronhialnoy astmoy / O. A. Volkova // Aktualnyie problem meditsiny. – GrGMU, 2011. – S. 178-181.
2. Voronina, L. P. Polimorfizm gena endotelialnoy sintazy I oksida azota / L. P. Voronina, O. S. Polunina, I. V. Sevostyanova // Astrahanskiy meditsinskiy zhurnal. – 2011. – № 2. – S. 47-50.
3. Polyakov, V. V. Klinicheskoe znachenie endotelialnoy disfunktsii u detey s retsdiviruyuschim obstruktivnyim bronhitom I bronhialnoy astmoy / V. V. Polyakov, A. S. Senatorova // Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal. – 2012. – № 2. – S. 32-35.
4. Endotelialnaya disfunktsiya i mehanizmyi ee formirovaniya / A. A. Popova [i dr.] // Sibirskoe meditsinskoe obozrenie. – 2010. – T. 64, № 4. – S. 7-11.
5. Rol oksida azota I endotelialnoy disfunktsii v geneze respiratornykh narusheny pri bronhialnoy astme u detey / A. I. Ryivkin [i dr.] // Pediatriya. – 2003. – № 6. – S. 1-5.
6. Feschenko, Yu. I. Bronhialnaya astma — odna iz glavnykh problem sovremennoy meditsiny / Yu. I. Feschenko // Ukrayinskiy pulmonologichniy zhurnal. – 2006. – № 2. – S. 13-16.
7. Asher, I. Global burden of asthma among children / I. Asher, N. Pearce // The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. – 2014. – Vol. 18, №. 11. – P. 1269-1278.
8. Celermajer, D. S. Testing endothelial function using ultrasound / D. S. Celermajer // Journal of cardiovascular pharmacology. – 1997. – Vol. 32. – P. S29-32.
9. Wanner, A. Airway endothelial dysfunction in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a challenge for

9. Wanner, A. Airway endothelial dysfunction in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a challenge for future research / A. Wanner, E. S. Mendes // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2010. – Vol. 182. – P. 1344-1351.

future research / A. Wanner, E. S. Mendes // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2010. – Vol. 182. – P. 1344-1351

## CLINICAL SIGNIFICANCE OF NITRIC OXIDE METABOLITES IN THE DEVELOPMENT OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

*Odinets Yu. V., Vasilchenko Yu. V.*

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

*Forty-four patients aged 6 to 17 years suffering from persistent bronchial asthma in different periods of the disease demonstrated a decrease in the level of nitric oxide metabolites, reduced endothelium-dependent dilation of the brachial artery, increased sickness of the intima-media complex during disease exacerbation. Significant increase in the level of nitric oxide metabolites and endothelium-dependent dilation of the brachial artery was noticed during the follow-up period as compared with the period of exacerbation. However, these figures were still lower than those in the control group, which indicated the presence of persistent changes in the vascular wall.*

**Keywords:** *metabolites of nitric oxide, endothelial dysfunction, children.*

Поступила: 29.02.2016

Отрецензирована: 21.11.2016

## НОВЫЕ ИЗДАНИЯ



*Глуткин, А.В.* Термический ожог кожи у детей раннего возраста (опыт эксперимента и клиники) : монография / А. В. Глуткин, В. И. Ковальчук. – Гродно : ГрГМУ, 2016. – 180 с.

В монографии рассматривается одна из актуальных проблем современной комбустиологии – лечение термических ожогов кожи у детей раннего возраста. Представлены данные о кислородзависимых и репаративных процессах при термических ожогах кожи в эксперименте и в клинике. Издание будет полезно хирургам, травматологам, детским хирургам, комбустиологам, научным сотрудникам.