

Ильченко С.И.<sup>1</sup>, Фиалковская А.А.<sup>1</sup>, Иванусь С.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Днепропетровская медицинская академия, Днепропетровск, Украина

<sup>2</sup>Детская городская клиническая больница № 2, Днепропетровск, Украина

Ilchenko S.<sup>1</sup>, Fialkovskaya A.<sup>1</sup>, Ivanus S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipropetrovsk, Ukraine

<sup>2</sup> Children's Clinical Hospital № 2, Dnipropetrovsk, Ukraine

# Диагностическая значимость уровня оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха у подростков-курильщиков

Diagnostic significance of nitric oxide levels in the exhaled breath condensate in adolescent smokers

## Резюме

В статье описана диагностическая значимость оксида азота в развитии патологии органов дыхания. Изучено влияние активного табакокурения на уровень NO в конденсате выдыхаемого воздуха у подростков. Установлено, что фактор курения влияет на уровень NO в выдыхаемом воздухе, вызывая достоверное его снижение по сравнению с некурающими. Причем уровень NO в конденсате выдыхаемого воздуха у подростков-курильщиков зависит от количества выкуриваемых за день сигарет: чем больше сигарет за день выкуривает подросток, тем ниже уровень NO. Низкие уровни NO в конденсате выдыхаемого воздуха у подростков-курильщиков, вероятнее всего, могут лежать в основе развития хронического воспалительного процесса и ремоделирования дыхательных путей.

**Ключевые слова:** оксид азота, табакокурение, подростки-курильщики.

## Abstract

The article describes the diagnostic significance of nitric oxide in the development of pathology of the respiratory system. The influence of active smoking on the level of NO in the exhaled air condensate in adolescents is studied. It was revealed that the factor of smoking influences the level of NO in exhaled air, causing its reliable reduction if compared to non-smokers. Moreover, the level of NO in the exhaled breath condensate of adolescent smokers depends on the number of cigarettes smoked per day – the more cigarettes one smokes per day, the lower the NO level is. Low levels of NO in the exhaled breath condensate in adolescent smokers are more likely to be the cause of development of chronic inflammation and remodeling of the airways.

**Keywords:** nitric oxide, smoking, adolescent smokers.

## ■ ВВЕДЕНИЕ

В последнее время интенсивно изучается роль оксида азота (NO) в патогенезе различной патологии органов дыхания. Главная диагностическая ценность NO заключается в том, что он способен показать наличие и степень воспаления в дыхательных путях.

Оксид азота – это активный, короткоживущий радикал, период жизни которого составляет от 3 до 50 с [1]. NO в организме образуется в результате окисления аминокислоты L-аргинина с образованием другой аминокислоты L-цитрулина под влиянием фермента NO-синтазы (NOS), которая присоединяет молекулярный кислород к конечному атому азота гуанидиновой группы L-аргинина [1, 2].

В респираторном тракте NO продуцируется нитрооксидсинтазами самых разнообразных клеток: эпителиоцитами, эндотелиальными клетками легочных и бронхиальных артерий и вен, тучными клетками, нейтрофилами, макрофагами, миоцитами гладкой мускулатуры бронхов и легочных артерий [1, 2].

Спектр биологического действия NO широк и зависит от уровня его концентрации. В среднем уровень оксида азота в выдыхаемом воздухе у здоровых людей колеблется от 10 до 20 ppb при соблюдении стандартов измерения, рекомендованных Американским торакальным обществом (ATS) [3]. NO оказывает бронходилатирующее действие, приводя к умеренному расслаблению гладких мышц преимущественно крупных бронхов [2]. При низком уровне концентрации NO способствует восстановлению экстрацеллюлярного матрикса, индуцируя синтез коллагена, и активно участвует в процессах репарации слизистой оболочки респираторного тракта [2, 4].

NO влияет на дренажную функцию респираторного тракта, увеличивая продукцию муцина и эпителиальной слизи, усиливая активность подслизистых желез, ускоряет движение ресничек реснитчатого эпителия, способствуя механической элиминации инфекционных агентов [2, 4]. Оксид азота регулирует активность аллергических реакций, а также обладает мощным антиоксидантным действием [2, 4].

Свободные радикалы, в том числе NO, играют важную роль в развитии фиброза легких [5–7]. В экспериментальных работах на животных, лишенных NO-синтаз, определена высокая экспрессия IL-6, IL-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, коллагена I, в то время как уровень экспрессии антифиброзного цитокина IFN- $\gamma$  был снижен. А долгосрочное пероральное введение изосорбida динитрата – донатора NO – значительно восстанавливало уровень NO и предотвращало увеличение содержания коллагена и прогрессирование гистологических изменений [8]. Недавно проведенные исследования *in vitro* показали, что экзогенное введение NO приводит к снижению синтеза ДНК и пролиферации гладкой мускулатуры дыхательных путей. Это антипопролиферативное действие NO на гладкую мускулатуру дыхательных путей может стать важным элементом для предотвращения ремоделирования дыхательных путей у пациентов с бронхиальной астмой или ХОБЛ [9].

В настоящее время установлено, что уровень NO является маркером эозинофильного воспаления при бронхиальной астме, а также имеет большое значение в диагностике ХОБЛ [1, 10, 11]. На уровень NO в конденсате выдыхаемого воздуха может влиять целый ряд факторов.

В настоящее время установлено, что уровень NO является маркером эозинофильного воспаления при бронхиальной астме, а также имеет большое значение в диагностике ХОБЛ [1, 10, 11].

Особого внимания заслуживает изучение влияния активного табакокурения на уровень NO. Известно, что табакокурение играет первостепенную роль в патогенезе хронических заболеваний органов дыхания. Газовая фаза табачного дыма содержит свободные радикалы и активные формы кислорода, образованные из NO<sup>·</sup>/NO<sub>2</sub>, при взаимодействии с реактивными составляющими дыма [12, 13].

По данным исследований Т.А. Перцевой, Е.Ю. Гашиновой, Н.А. Ефимовой (2010), «асимптомные» курильщики имеют более низкие уровни NO в конденсате выдыхаемого воздуха, в то время как у курящих с симптомами ХОБЛ уровни NO в несколько раз выше по сравнению со здоровыми людьми [12, 13]. Причем существует тесная связь с числом выкуриваемых сигарет. Активность NO-синтаз снижается даже после одной сигареты. Возможно, это связано с торможением NO-синтазы по типу обратной связи, так как при курении выделяется огромное количество экзогенного оксида азота [9, 12–15].

Уменьшение интенсивности синтеза NO может быть одним из механизмов развития бронхоконстрикции у хронических курильщиков [12]. Так как оксид азота играет важную роль в механизмах биения ресничек, торможение его эндогенного образования в респираторном тракте может способствовать нарушению мукоцилиарного клиренса, создавая условия для развития хронической инфекции дыхательных путей [16, 17].

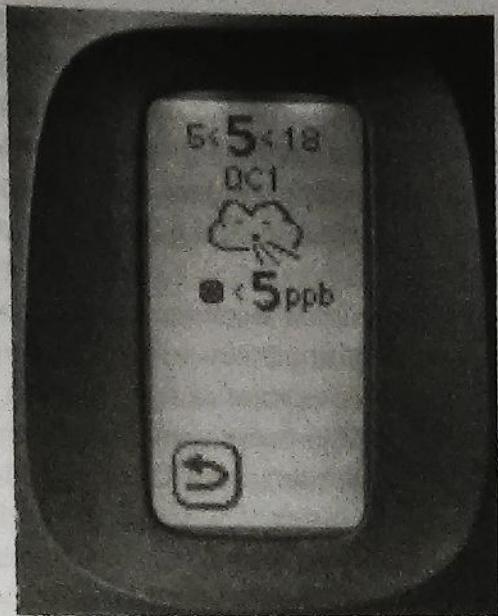
Таким образом, NO играет важную роль в регуляции функции легких и в развитии заболеваний дыхательной системы. Однако данных по исследованию NO в конденсате выдыхаемого воздуха у детей и подростков в современной научной литературе практически нет. Отсутствуют также исследования содержания NO у молодых курильщиков, не имеющих заболеваний, ассоциированных с курением. Вместе с тем эти аспекты важны для понимания механизмов влияния курения в молодом возрасте на процессы формирования ХОБЛ.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния активного табакокурения на уровень NO в конденсате выдыхаемого воздуха у подростков.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 40 детей в возрасте от 10 до 18 лет (средний возраст – 15,4±0,4 года). Все обследованные были разделены на 3 группы: 1-ю группу составили 15 активно курящих подростков (средний возраст – 16,3±0,3 года), 2-ю – 10 подростков с впервые диагностированной бронхиальной астмой (средний возраст – 13,5±1,2 года), и группу контроля составили 15 никогда не куривших пациентов (средний возраст – 16,1±0,4 года). Всем пациентам 1-й, 2-й и контрольной группы определяли показатели внешнего дыхания (ФВД) с помощью спирографа Microlab (Великобритания), анализировались уровни объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ<sub>1</sub>), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), соотношения ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ; проводился тест на обратимость бронхиальной обструкции с β<sub>2</sub>-агонистом короткого действия (Вентолин). Концентрацию NO в выдыхаемом воздухе определяли



**Рис. 1. Фото монитора аппарата Niox Mino**

Исследования проводились с утра, натощак, до приема лекарственных препаратов. Определение длительности табакокурения, статуса курильщика осуществлялось по разработанному нами модифицированному опроснику. Для статистической обработки полученных результатов использовалась программа Statistica 6.0 с определением средней арифметической, критерия достоверности различий, уровня значимости отличий. Также проводился корреляционный анализ между показателями уровня NO в выдыхаемом воздухе и показателями ФВД, длительностью и интенсивностью табакокурения.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обе группы детей и пациенты контрольной группы были сопоставимы по возрасту и полу (табл. 1).

**Таблица 1**

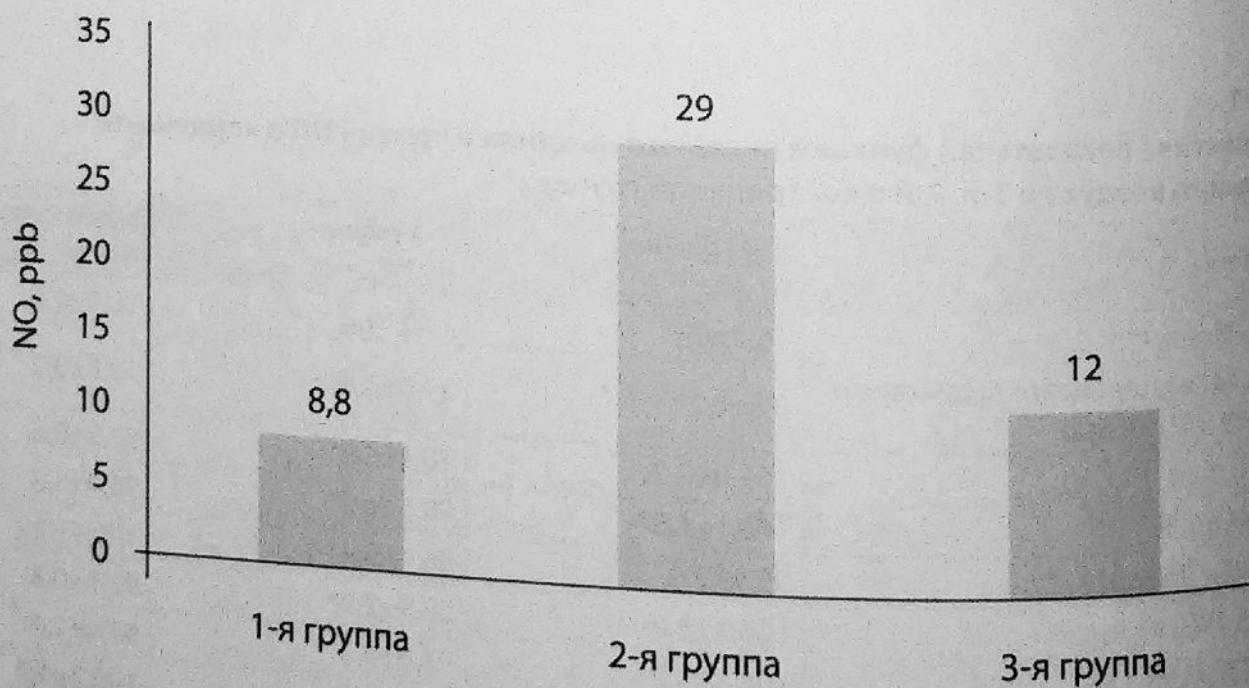
**Характеристика показателей функции внешнего дыхания и уровня NO в конденсате выдыхаемого воздуха в 1-й, 2-й и контрольной группах**

Показатели	1-я группа, n=15	2-я группа, n=10	Контроль, n=15
Возраст ( $M \pm m$ ), лет	$16,3 \pm 0,3$	$13,5 \pm 1,2$	$16,1 \pm 0,4$
Уровень NO в конденсате выдыхаемого воздуха ( $M \pm m$ ), ppb	$8,8 \pm 0,7^*$	$29,0 \pm 3,4^*$	$12,0 \pm 0,2$
ОФВ <sub>1</sub> ( $M \pm m$ ), %	$101,0 \pm 3,2$	$78,4 \pm 4,8^*$	$97,2 \pm 0,6$
ФЖЕЛ ( $M \pm m$ ), %	$108,1 \pm 4,5^*$	$89,5 \pm 6,3^*$	$96,9 \pm 1,3$
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ ( $M \pm m$ ), %	$95,4 \pm 2,0$	$86,4 \pm 3,4^*$	$100,4 \pm 1,2$
Post ОФВ <sub>1</sub> ( $M \pm m$ ), %	$103,4 \pm 3,9$	$88,9 \pm 2,9^*$	$97,7 \pm 0,8$
Post ФЖЕЛ ( $M \pm m$ ), %	$108,5 \pm 5,2^*$	$97,0 \pm 4,3$	$97,4 \pm 1,1$
Post ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ ( $M \pm m$ ), %	$97,4 \pm 2,2$	$92,0 \pm 3,5$	$100,3 \pm 1,2$

Примечание: \* –  $p < 0,05$ .

Как показывает исследование, у пациентов 1-й группы уровень NO в выдыхаемом воздухе был достоверно ниже, чем у пациентов 2-й и контрольной группы ( $8,8 \pm 0,7$  ppb против  $29,0 \pm 3,4$  ppb и  $12,0 \pm 0,2$  ppb соответственно) ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). Данные результаты свидетельствуют о том, что табакокурение снижает синтез эндогенного NO в респираторном тракте, а у пациентов с БА подтверждает наличие эозинофильного воспаления.

Результаты исследования функции внешнего дыхания у обследуемых подростков-курильщиков показали отсутствие существенных вентиляционных нарушений. В группе же детей с бронхиальной астмой у 40% были выявлены легкие вентиляционные нарушения по обструктивному типу ( $\text{ОФВ}_1 = 60\text{--}80\%$ ), а у 10 – умеренные обструктивные нарушения ( $\text{ОФВ}_1 = 56\text{--}60\%$ ). В исследуемых группах были выявлены достоверные различия между показателями функции внешнего дыхания ( $p < 0,05$ ). Так, в группе подростков-курильщиков достоверно выше были показатели ФЖЕЛ по сравнению с группой контроля, что может быть связано с регулярной «тренировкой» дыхательного аппарата при вдыхании табачного дыма. В группе детей с БА показатель  $\text{ОФВ}_1$ , а также соотношение  $\text{ОФВ}_1/\text{ФЖЕЛ}$  были достоверно ниже по сравнению с группой контроля ( $78,4 \pm 4,8$  против  $97,2 \pm 0,6$  и  $86,4 \pm 3,4$  против  $100,4 \pm 1,2$  соответственно), что указывает на наличие обструктивных нарушений в этой группе. После проведения бронходилатационного теста во 2-й группе показатель  $\text{ОФВ}_1$  достоверно повышался ( $p < 0,05$ ), свидетельствуя об обратимости бронхиальной обструкции у детей с БА. Для выявления взаимосвязи между основными показателями, характеризующими ФВД, и уровнем NO в конденсате выдыхаемого воздуха у обследуемых детей 1-й и 2-й групп проведен корреляционный анализ, который показал отсутствие достоверных связей между  $\text{ОФВ}_1$  и NO в 1-й группе ( $r = -0,18$ ,  $p > 0,05$ ). Во 2-й группе корреляционная связь между  $\text{ОФВ}_1$  и NO была недостоверной ( $r = -0,62$ , при  $p > 0,05$ ). Таким образом, согласно полученным данным, было установлено, что на уровень NO в выдыхаемом возду-



хе у пациентов с бронхиальной астмой не влияет степень выраженности бронхообструктивного синдрома.

При изучении статуса табакокурения в 1-й группе (табл. 2) установлено, что в среднем подростки начинают регулярно курить в  $14,5 \pm 0,5$  года, при этом в возрасте до 15 лет курят уже 33,3% подростков. Средний стаж курения составил  $2,1 \pm 0,4$  года. За день подростки в среднем выкуривают полпачки сигарет ( $9,6 \pm 1,3$  шт.). Среди ежедневных курильщиков 80% составили подростки, выкуривающие от 5 до 10 сигарет в день, 13% подростков выкуривают от 10 до 20 сигарет в день, и лишь 7% – до 5 сигарет в день. Средний показатель пачка/годы составил у курящих подростков  $0,9 \pm 0,1$ . Однако в сравнении со взрослыми он в десятки раз ниже в силу малого стажа курения. Показатель пачка/годы, введенный нами ввиду не столь большого стажа, наилучшим образом отражает кумулятивный эффект курения у подростков, показывая, сколько пачек сигарет в среднем выкурили подростки за годы курения. Этот показатель в исследуемой группе составил  $320,3 \pm 44,1$  пачки.

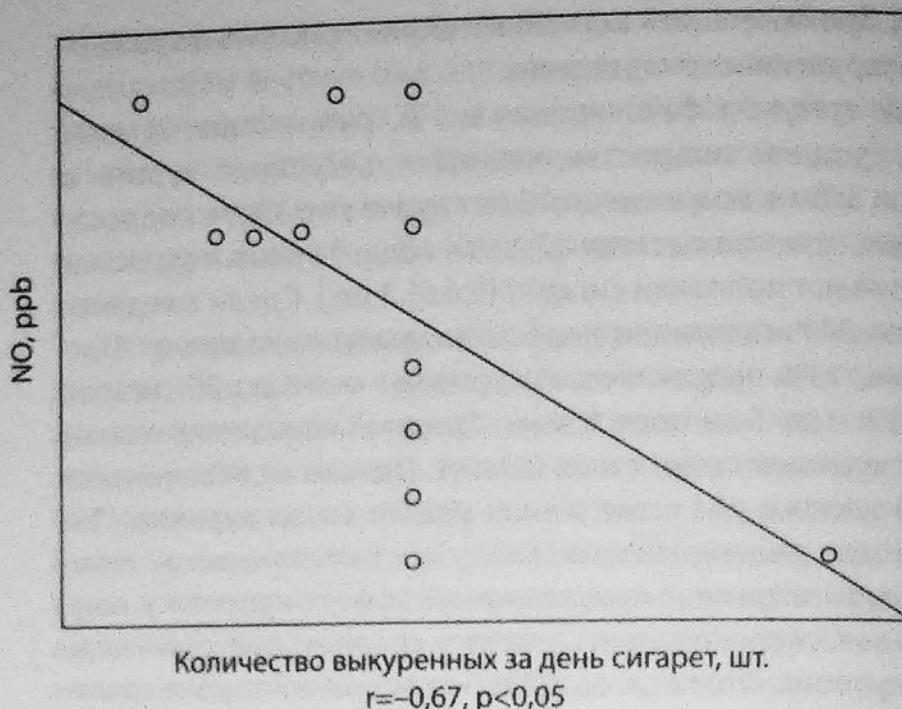
Оценка курения как фактора риска развития заболеваний в 1-й группе проводилась по индексу курящего человека. Средний индекс у курящих подростков составил  $115,2 \pm 15,6$ . У 13% курильщиков данный индекс был равен 240, что при продолжении курения неизбежно ведет к развитию ХОБЛ. Таким образом, несмотря на незначительный стаж курения ( $2,1 \pm 0,4$  года), 13% подростков-курильщиков имеют очень высокий риск развития ХОБЛ.

Проведенный корреляционный анализ у асимптомных подростков-курильщиков 1-й группы выявил наличие достоверной отрицательной связи между уровнем NO в выдыхаемом воздухе и количеством выкуриваемых за день сигарет ( $r=-0,67$ ,  $p<0,05$ ) (рис. 3), а также индексом курильщика ( $r=-0,67$ ,  $p<0,05$ ). Однако зависимости между NO и показателем пачка/лет, а также стажем курения выявлено не было ( $p>0,05$ ). Эти результаты подтверждают данные других исследований [12–14] об отсутствии выраженного влияния длительности табакокурения на уровень NO в конденсате выдыхаемого воздуха.

Таким образом, определение оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха является не только современным, неинвазивным маркером эозинофильного воспаления, но и представляет большой интерес для понимания механизмов влияния курения в молодом возрасте на процессы формирования ХОБЛ. Однако данная проблема требует дальнейшего научного изучения.

**Таблица 2**  
**Показатели статуса табакокурения в 1-й группе**

Показатели	1-я группа
Возраст начала курения ( $M \pm m$ ), лет	$14,5 \pm 0,5$
Стаж курения ( $M \pm m$ ), лет	$2,1 \pm 0,4$
Количество выкуриваемых сигарет в день ( $M \pm m$ ), шт.	$9,6 \pm 1,3$
Индекс курильщика ( $M \pm m$ )	$115,2 \pm 15,6$
Индекс пачка/лет ( $M \pm m$ ), п/лет	$0,9 \pm 0,1$



5. Guilleminault L., Saint-Hilaire A., Favelle O., Caille A., Boissinot E., Henriet A.C., Diot P., Marchand-Medicine, vol. 107, issue 11, pp. 1789–1796.
6. Hsu Y.C., Wang L.F., Chien Y.W. (2007) Nitric oxide in the pathogenesis of diffuse pulmonary fibrosis. *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 42, no 5, pp. 599–607.
7. Liu R.M., Pravia K.A.G. (2010) Oxidative stress and glutathione in TGFbeta-mediated fibrogenesis. *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 48, no 1, pp. 1–15.
8. Noguchi S., Yatera K., Wang K., Oda K., Akata K., Yamasaki K., Kawanami T., Ishimoto H., Toyohira Y., Shimokawa H., Yanagihara N., Tsutsui M., Mukae H. (2014) Nitric oxide exerts protective effects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Respiratory Research*, no 92, pp. 1–12. doi: 10.1186/s12931-014-0092-3.
9. Yachnik A. (2012) Donator oksida azota v terapii bol'nyh HOZL [Donator of nitric oxide in the treatment of patients with COPD]. *Ukrainian Pulmonology Journal*, no 2, pp. 33–34.
10. Brody D.J., Zhang X., Kit B.K., Dillon C.F. (2013) Reference values and factors associated with exhaled nitric oxide: U.S. youth and adults. *Respiratory Medicine*, vol. 107, issue 11, pp. 1682–1691.
11. Dweik R.A., Boggs P.B., Erzurum S.C. (2011) An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 184, no 5, pp. 602–615.
12. Perceva T., Gashinova E., Efimova N. (2010) Vliyanie kurenija na koncentraciju oksida azota v vydyhaemom vozduhe u pacientov s hronicheskim obstruktivnym zabolevaniem legikh [The effect of smoking on the concentration of nitric oxide in exhaled air in patients with chronic obstructive pulmonary disease]. *Ukrainian Pulmonology Journal*, no 3, pp. 19–21.
13. Perceva T., Gashinova E.Y., Efimova N. (2010) Klinicheskoe znachenie izmeneniya koncentracii oksida azota v vydyhaemom vozduhe u bol'nyh s hronicheskim obstruktivnym zabolevaniem legikh (HOZL) [The clinical significance of changes of concentration of nitric oxide in exhaled air in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD)]. *Problemi ekologii ta medicini*, vol. 4, no 3–4, pp. 33–38.
14. Dressel H., Motte D., Reichert J., Ochmann U., Petru R., Angerer P., Holz O., Nowak D. (2008) Exhaled nitric oxide: Independent effects of atopy, smoking, respiratory tract infection, gender and height. *Respiratory Medicine*, vol. 102, pp. 962–969.
15. Zuiker R.G.J.A., Boot J.D., Calderon C., Piantone A., Petty K., Kam M., Diamant Z. (2010) Sputum induction with hypertonic saline reduces fractional exhaled nitric oxide in chronic smokers and non-smokers. *Respiratory Medicine*, vol. 104, issue 6, pp. 917–920.
16. Vahnenko A. (2013) Perspektiva viznachennya rivnya oksidu azotu u vidihuvalomu povitri pri zahvoryuvannyah legeniv [The perspective of determining the level of nitric oxide in exhaled air for lung diseases]. *Visnik VDNZU «Ukraїns'ka medichna stomatologichna akademiya»*, vol. 13, issue 4, pp. 225–231.
17. Odireeva A., Chzhou S.D., Li C., Kolosov A. (2010) Vliyanie tabakokurenija na mukociliarnuyu sistemju u bol'nyh hronicheskim neobstruktivnym bronhitom [Influence of smoking on mucociliary system in patients with chronic non-obstructive bronchitis]. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*, no 37, pp. 28–33.