

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ БИОМАРКЕРОВ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНАХ ДЫХАНИЯ

DIAGNOSTIC VALUE OF RESPIRATORY SYSTEM PATHOLOGY BIOMARKERS

R. Kalmatov

Annotation

It was performed the analysis of published data on the possibilities of using non-invasive methods and biological markers for the diagnosis of lung diseases and respiratory tract. It is indicated that by now discovered a whole new molecules that play a role in the development of local manifestations of diseases of the upper respiratory tract and bronchial asthma. As the methods of clinical evaluation of inflammation and oxidative stress in the distal parts of the respiratory tract in various diseases of the respiratory system proposed non-invasive methods of studying the composition of exhaled air condensate. This approach allows to detect early changes at the molecular level with the defeat of various departments of the respiratory system, which in turn makes it possible to scientifically substantiate the prognostic criteria of the inflammation risk, occupational and production-related diseases of the respiratory system, and also provides opportunities for the development and improvement of efficient methods of diagnosis and therapy.

Keywords: upper respiratory tract, bronchial asthma, exhaled breath condensate, oxidative stress, biomarkers.

Калматов Романбек Калматович
К.мед.н., доцент, декан
международного мед. факультета,
Ошский государственный университет

Аннотация

Проведен анализ литературных данных о возможностях использования неинвазивных методов и биологических маркеров для диагностики патологии легких и дыхательных путей. Указано, что к настоящему времени обнаружен целый ряд новых молекул, играющих роль в развитии локальных проявлений заболеваний верхних дыхательных путей и бронхиальной астмы. В качестве методов клинической оценки воспаления и оксидативного стресса в дистальных отделах респираторного тракта при различных заболеваниях дыхательной системы предложены неинвазивные методы исследования состава конденсата выдыхаемого воздуха. Применение этого подхода позволяет выявлять ранние изменения на молекулярном уровне при поражении различных отделов системы дыхания, что в свою очередь дает возможность научно обосновать прогностические критерии риска развития воспалительных, профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний органов дыхания, а также предоставляет широкие возможности для разработки и совершенствования эффективных способов диагностики и терапии.

Ключевые слова:

Верхние дыхательные пути, бронхиальная астма, конденсат выдыхаемого воздуха, оксидативный стресс, биомаркеры.

Введение

Общепризнанно, что в организме больного с заболеваниями легких и верхних дыхательных путей в результате патологического процесса развиваются изменения на клеточном и молекулярном уровне, которые в норме практически отсутствуют [2, 35]. Эти сдвиги могут быть оценены с помощью лабораторного изучения биологических образцов: жидкости, получаемой при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) или промывании носа, крови, проб ткани легкого. В то же время для определения специфических диагностических маркеров необходимо наличие четких представлений о ключевых звеньях молекулярных механизмов патологии дыхательной системы, в первую очередь о локальных иммунологических механизмах и особенностях процессов свободнорадикального окисления (СРО) в легких и верхних дыхательных путях. Ключевым звеном патологического процесса при развитии этих

заболеваний является хроническое воспаление, которое нередко связано со структурными изменениями в стенке дыхательных путей.

В настоящее время общепризнанным является неблагоприятное влияние токсических факторов окружающей среды на иммунную систему человека. Установлено также и влияние такого рода факторов на биологические свойства бактерий микробиоты, являющейся основополагающим компонентом системы защиты макроорганизма [1]. В основе патогенеза многих респираторных заболеваний лежит воспалительная реакция, индуцируемая медиаторами, которые выделяются клетками дыхательных путей и воспалительного инфильтрата [30]. Эпителий дыхательных путей представляет собой барьер между внешней средой и тканями организма, поэтому продукция провоспалительных медиаторов клетками эпителия играет важнейшую роль в патогенезе легочных

заболеваний [18]. Одним из важнейших показателей состояния механизмов локальной защиты верхних дыхательных путей (ВДП) является их колонизационная резистентность, которая зависит от характеристик нормофлоры биотопа, и состояния ряда факторов неспецифической резистентности организма, например, активности лизоцима, концентрации секреторного иммуноглобулина А.

Безусловно, для ранней диагностики патологии и определения тяжести ее течения, а также эффективности противовоспалительной терапии заболеваний органов дыхания, необходимо совершенствовать подходы с учетом современных представлений о молекулярно-клеточных основах патологии легких и верхних дыхательных путей.

Выявление и ранняя диагностика дисфункции дыхательных путей являются критически важными, так как лечение заболевания на ранних стадиях может позволить эффективно обратить ремоделирование дыхательных путей и остановить прогрессирование фиброза и развитие необратимого повреждения дыхательных путей у больных с бронхиальной астмой легкой и средней степени тяжести. Высока потребность в разработке точного неинвазивного метода оценки воспалительного процесса в различных отделах дыхательной системы.

Цель исследования – анализ литературных данных о возможностях использования неинвазивных методов и биологических маркеров для диагностики патологии легких и дыхательных путей.

Известно, что при бронхиальной астме (БА) симптомы заболевания часто не отражают выраженность воспаления вследствие различного их влияния на организм и "маскирующего" эффекта бронхолитиков. Признаки обострения аллергической бронхиальной астмы (эозинофильная инфильтрация, разрастание соединительной ткани, повышенная секреция и нарушение эвакуации слизи), являются неспецифическими и часто встречаются при другой патологии легких, например, при неаллергической астме или хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [31, 38].

Спирометрия и пикфлоуметрия основаны на обнаружении нарушений бронхиальной проходимости и оценивают только функциональные нарушения. Непосредственное исследование клеток и медиаторов воспаления дыхательных путей может быть проведено с использованием бронхоскопии с БАЛ и биопсией, этот подход рассматриваются как "золотой стандарт" оценки воспаления. Однако метод является инвазивным, травматичным для пациентов, что ограничивает его повторное использование. Анализ индуцированной мокроты – трудоемкий метод, не предоставляющий достаточного объема информации о состоянии дистальных отделов респираторного тракта.

В последние годы проводится поиск неинвазивных методов, которые могут быть использованы в амбулаторной практике, увеличивается интерес к использованию выдыхаемого воздуха как к простому неинвазивному методу для получения образцов из нижних отделов дыхательных путей [22].

В настоящее время областью активных исследований является анализ КВВ и поиск биологических маркеров, получаемых с помощью этой пробы для диагностики заболеваний и интоксикаций. В КВВ присутствует большое количество различных маркеров воспаления, которые исследуются как возможные биомаркеры активности патологического процесса.

Установлено, что бронхиальный секрет дистальных отделов респираторного тракта содержит несколько нелетучих и более 200 летучих соединений, которые составляют первую линию защиты от оксидантов, поступающих с вдыхаемым воздухом (табачный дым, озон, окислы азота), аллергенов, микробной и бактериальной инфекции. Качественные и количественные характеристики этих соединений отражают степень повреждения дыхательных путей, воспалительных изменений и эффективность лечения и могут быть использованы для контроля динамики заболеваний легких и ВДП [30].

Еще в 1980 г. Сидоренко Г.И. и др. было разработано устройство, с помощью которого можно было собирать конденсат при обычном дыхании человека, снизив до минимума загрязнение его слюной. Авторами были проведены исследования по идентификации летучих субстанций, в частности оксида азота [3]. В последние годы проводились исследования по определению нелетучих макромолекулярных соединений, присутствующих в выдыхаемом воздухе – протеинов, липидов, оксидантов и нуклеотидов. Эти макромолекулы могут выступать в качестве биомаркеров различных патологических процессов, происходящих в ВДП и легких, при этом для анализа нелетучих субстанций следует осуществлять конденсацию выдыхаемого воздуха путем его охлаждения.

В последние годы усилия исследователей были сконцентрированы на определении окиси азота, цитокинов, эйкозаноидов в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ), продуктов ПОЛ и активных форм кислорода (АФК) в КВВ [19]. При этом выдыхаемый воздух насыщается водяными парами, которые могут быть конденсированы при охлаждении. Несмотря на то, что значительная часть конденсата состоит из водяного пара, он также содержит различные частицы из дыхательных путей.

Наиболее часто исследуют H_2O_2 . Пероксид водорода получается путем реакции супероксиданиона O_2^- при воздействии супероксиддисмутазы в некоторых клетках [12]. В дыхательных путях пероксид водорода, являясь летучей молекулой, высвобождается при воспалении, его источником являются нейтрофилы, эозинофилы, макрофаги и эпителиальные клетки [19, 23]. Показано, что крупные дыхательные пути являются источником большей части выдыхаемой перекиси водорода (H_2O_2), что

основывается на зависимости концентрации H_2O_2 от воздушного потока [34]. Количество аэрозолей, формирующихся в дыхательных путях, зависит от скорости воздушного потока и поверхностного натяжения внеклеточной выстилки. Чем выше скорость потока и меньше поверхностное натяжение, тем сильнее продукция аэрозолей. Баланс между низкой скоростью и высоким поверхностным натяжением, который обнаруживается на уровне альвеол, определяет интенсивность продукции аэрозоля. Показано, что турбулентные потоки облегчают формирование аэрозоля, а прохождение воздуха через систему охлаждения приводит к конденсации влаги, что делает возможным сбор выдыхаемого воздуха в жидкой или твердой форме [4, 24].

Количество конденсата, получаемого при выдохе, различается в зависимости от минутной вентиляции. Концентрация H_2O_2 в выдыхаемом воздухе является величиной, зависящей от потока воздуха [34].

Обнаружено увеличение уровня H_2O_2 у больных БА, коррелирующее с тяжестью заболевания [5], а также при ХОБЛ, бронхоэктазах, муковисцидозе, респираторном дистресс-синдроме, аллергическом рините, общем переохлаждении, системном склерозе [32].

Отмечено повышение уровня кислотнореактивных соединений тиобарбитуровой кислоты – ПОЛ, снижение уровня глутатиона у пациентов с БА по сравнению со здоровыми людьми. После курса терапии глюкокортикоидами отмечается снижение концентрации H_2O_2 , малонового диальдегида (МДА) и повышение концентрации глутатиона [5].

Отмечена взаимосвязь между концентрацией выдыхаемой H_2O_2 и количеством эозинофилов в мокроте, гиперреактивностью дыхательных путей при астме различной степени тяжести [19]. Также зафиксирована высокая положительная корреляция между уровнями H_2O_2 и соединениями тиобарбитуровой кислоты, в частности МДА. Важно отметить, что увеличение уровня H_2O_2 и МДА у больных БА и ХОБЛ связано со снижением значения объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) [13].

В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании продемонстрировано значительное уменьшение уровня H_2O_2 в выдыхаемом воздухе пациентов с БА, которые получали лечение ингаляционными кортикостероидами, по сравнению с плацебо [5]. По данным Horvath I. et al. (1998), концентрация H_2O_2 сохраняется повышенной у астматиков с тяжелым нестабильным течением этого заболевания, в то время как уровень выдыхаемого NO у таких больных после лечения кортикостероидами снижался. В качестве причины выявленной закономерности предполагается, что нейтрофилы, которые преобладают в бронхах, особенно при тяжелой астме, продуцируют увеличенное количество супероксидных радикалов [19].

Другие медиаторы воспаления, уровни которых выявляются при повышенной оксидантной и пероксидазной

активности в организме, также привлекли внимание исследователей в качестве полезных биомаркеров у пациентов с БА. Показано, что уровень нитрита – стабильного конечного продукта метаболизма NO – у больных БА выше по сравнению со здоровыми людьми [16, 22]. Ganap K. et al. (2001) показали, что уровень нитритов/нитратов в КВВ достоверно повышен у больных atopической БА по сравнению со здоровыми и позитивно коррелирует с концентрацией H_2O_2 [16].

В последнее время в качестве маркеров воспаления в КВВ у больных БА также изучались изопростаны, продукты перекисного окисления арахидоновой кислоты в результате неэнзиматического действия активных форм кислорода. Эти вещества относительно стабильны и специфичны в отношении процесса перекисидации липидов, что делает их потенциально убедительными биомаркерами оксидативного стресса. Наиболее часто исследуется 8-изопростан, принадлежащий к классу изопростанов F2 [26, 27].

Исследования, проведенные в последние годы, продемонстрировали увеличение уровня цистеиновых лейкотриенов В (ЛТВ) и ЛТВ4 в КВВ у пациентов с БА по сравнению со здоровыми [8]. При этом установлено, что лейкотриены высвобождаются из воспалительных клеток дыхательных путей, частично из тучных клеток и эозинофилов, и играют определенную роль при астматическом воспалении дыхательных путей. ЛТВ4 формируется из арахидоновой кислоты в результате ферментативного гидролиза ЛТА4, потенциального активатора нейтрофилов и провоспалительных медиаторов [25]. Лейкотриены играют важную роль в патогенезе БА, вызывая сокращение гладкой мускулатуры, повышение сосудистой проницаемости и гиперсекрецию слизи. Установлено, что уровень лейкотриенов повышается с утяжелением БА. Blankenburg T. et al. (2000) показали, что концентрация ЛТВ4 у больных atopической БА достоверно выше, чем у здоровых [7]. В других исследованиях было продемонстрировано, что уровень ЛТВ4 в КВВ увеличивался с нарастанием тяжести БА у взрослых и детей [14].

Таким образом, полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что уровни малонового диальдегида, NO, 8-изопростана, тиобарбитуровой кислоты и других метаболитов, выявляемых в слизи и выдыхаемом воздухе, дают возможность оценить тяжесть БА, особенности ее течения [9, 11, 41].

В последнее время также было обнаружено несколько новых биомаркеров, выявляемых в выдыхаемом воздухе, уровни которых связаны с воспалением, в том числе эндотелин-1, зотаксин-1, RANTES и пероксид водорода [39, 40]. Было показано, что уровни выдыхаемых оксида углерода (II) (CO) и NO изменяются в зависимости от типа используемой бронхопровокационной ингаляционной пробы (проба с метахолином или проба с аллергеном), а именно: воспалительный стимул, то есть воздействие аллергена, оказывает прямой положительный эффект на уровень NO, однако не влияет на уровень CO [31, 34].

Заключение

Анализ литературных данных показал, что к настоящему времени обнаружен целый ряд новых молекул, играющих роль в развитии локальных проявлений заболеваний верхних дыхательных путей и бронхиальной астмы. Фундаментальные и клинические исследования выявили ряд факторов, потенциально пригодных в качестве мишеней для таргетной терапии [29]. Безусловно, эти достижения в изучении патофизиологии заболевания, в особенности клеточных и молекулярных механизмов, которые лежат в основе патогенеза резистентной формы заболевания, в перспективе могут быть использованы для обоснования новых направлений терапии БА, заболеваний легких и ВДП.

В последние годы в качестве методов клинической оценки воспаления и оксидативного стресса в дистальных отделах респираторного тракта при различных заболеваниях дыхательной системы, в том числе при БА, предложены неинвазивные методы исследования состава индуцированной мокроты, состава выдыхаемого воздуха и состава дыхательного конденсата (конденсата выдыхаемого воздуха).

Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют, и о повышенном уровне заболеваемости болезнями дыхательных путей у лиц, подвергающихся влиянию неблагоприятных факторов профессиональной деятельности, в частности, у работающих в непосредственном контакте с техническими жидкостями, у пожарных, у лиц, подвергающихся воздействию частиц дизельных вы-

хлопов. Показана повышенная частота симптомов со стороны дыхательной системы у работников металлообрабатывающей промышленности, что, по мнению авторов, в значительной мере обусловлено изменениями профиля ряда факторов защиты, "иммунных белков".

Одним из определяющих аспектов снижения риска неблагоприятных последствий влияния профессиональных факторов на организм лиц с заболеваниями ВДП, БА, а также контингентов, подвергающихся воздействию токсических веществ, является раннее выявление до-зологических нарушений. В связи с особенностями применения и отсутствием нарушений психологического комфорта для обследуемых все больше специалистов отдадут предпочтение использованию неинвазивных методов исследования. Выявление ранних изменений на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях позволит получить информацию о направленности действия изучаемых факторов, позволит наметить пути их патогенетически обоснованной коррекции и даст возможность научно обосновать прогностические критерии риска развития воспалительных, профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний органов дыхания.

Таким образом, изучение такой социально значимой группы болезней, как заболевания дыхательных путей, с точки зрения системной биологии позволяет по-новому взглянуть на патогенез заболевания за счет более детального подхода к анализу каждого компонента в динамике, а также предоставляет широкие возможности для разработки и совершенствования эффективных способов диагностики и терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко А.Л. Особенности перекисного окисления липидов лимфоцитов при микстинфекции В и С // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. – № 1. – С.33–36.
2. Мамонтова Т.В., Кайдашев Т.В. Новые аспекты апоптоза мононуклеарных клеток в патогенезе атопической бронхиальной астмы // Аллергология. – 2005. – № 4. – С.15–23.
3. Сидоренко Г.И., Зборовский Э.И., Левина Д.И. Поверхностно-активные свойства конденсата выдыхаемого воздуха (новый метод для изучения легочной функции) // Тер. архив. – 1980. – Т.52. – С.65–68.
4. Baraldi E., Ghiso L., Piovani V. et al. Increased exhaled 8-isoprostane in childhood asthma // Chest. – 2003. – Vol.124. – P.25–31.
5. Blankenburg T., Schaedlich S., Schuelle W. Exhaled breath condensate as a sensitive diagnostic aid in asthma bronchiale // Eur. Respir. J. – 2000. – Vol.16 (suppl. 31).–P.1907.
6. Bodini A., Peroni D., Vicentini L. et al. Exhaled breath condensate eicosanoids and sputum eosinophils in asthmatic children: a pilot study // Pediatr. Allergy Immunol. – 2004. –Vol.15. – P.26–31.
7. Conner G.E., Salathe M., Forteza R. Lactoperoxidase and hydrogen peroxide metabolism in the airway // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2002. – Vol.166. – P.57–61.
8. Csoma Z. Leukotrienes in exhaled breath condensate of children with asthma // Eur. Respir. J. – 2001. – Vol.18 (suppl. 33). – P.358.
9. Effros R.M. Endogenous airway acidification: implications for asthma pathology // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – Vol.163. – P.293–294.
10. Ghosh S., Erzurum S.C. Nitric oxide metabolism in asthma pathophysiology // Biochim. Biophys. Acta. – 2011. – Vol.11. – P.1008–1016.
11. Holgate S.T. The airway epithelium is central to the pathogenesis of asthma // Allergol. Int. – 2008. – Vol.57. – P.1–10.
12. Mc Cord J.M. Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury // N. Engl. J. Med. – 1985. – Vol.312. – P.159–163.
13. Raphael G.D., Metcalfe D.D. Mediators of airway inflammation // Eur. J. Respir. Dis. – 1986. – Vol. 147.– P.44–56.
14. Zuo L., Otenbaker N.P., Rose B.A., Salisbury K.S. Molecular mechanisms of reactive oxygen species-related pulmonary inflammation and asthma // Mol. Immunol. – 2013. –Vol.1. – P.57–63.