

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В ФОРМИРОВАНИИ ГИПОКСИИ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Н.Б.Кармен, М.А.Абдуллаева, Л.В.Токарева

Учреждение Российской Академии Наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

(142290, Пущино, Московская область, ул. Институтская,3)

тел. 8-916-4911818, e-mail: n.karmen@yandex.ru

Исследовано структурное и функциональное состояние мембран эритроцитов (как модели клетки) при тяжелой бронхиальной астме. Показано, что заболевание сопровождается выраженными изменениями структуры и функции мембран, обусловленными гиперактивацией процессов перекисного окисления липидов. Повреждение мембран клеток является основным механизмом формирования смешанной гипоксии при бронхиальной астме.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гипоксия, мембрана, эритроцит, перекисное окисление липидов

OXIDATIVE STRESS IN THE FORMATION DURING HYPOXIA OF SEVERE BRONCHIAL ASTHMA

N.B.Karmen, M.A.Abdullaeva, L.V.Tokareva

Investigated the structural and functional state of erythrocyte membranes (as cell model) in severe bronchial asthma. Shown that the disease is accompanied by marked changes in the structure and function of membranes caused by hyperactivation of lipid peroxidation. Damage to the cell membrane is the primary mechanism for the formation of a mixed hypoxia in bronchial asthma.

Key words: bronchial asthma, hypoxia, membrane, erythrocyte, lipid peroxidation

В последние годы внимание мировой медицины направлено на решение проблемы лечения тяжелой, неконтролируемой, резистентной к медикаментозному воздействию бронхиальной астмы, сопровождающейся высокими инвалидизацией и летальностью больных [Чучалин А.Г., 2007; Cunningham J. 2010; Navaratnam P. et al., 2010; Rosychuk R.J. . et al., 2010; Windt R. et al., 2010]. Неудовлетворенность результатами протокола GINA [2005,2006] по лечению бронхиальной астмы определяет необходимость

дальнейшего изучения патогенеза данного заболевания, в частности, роли окислительного стресса клетки в формировании гипоксии при этом заболевании.

Цель работы: исследовать степень изменения структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов (как модели клетки) и их роль в формировании гипоксии у больных с тяжелой бронхиальной астмой.

Материалы и методы исследования. Обследовано 40 больных бронхиальной астмой (из них 26 женщин – 65,0%) и 32 здоровых донора. У всех больных диагностирована бронхиальная астма тяжелого течения [А.Г.Чучалин, 2000, 2007]. По длительности заболевания больные распределились следующим образом: до 5 лет – 6 больных (15,0%), 5-10 лет – 8 больных (20,0%), 11-15 лет – 10 больных (25,0%), свыше 15 лет – 16 больных (40,0%). Средний возраст больных $49,1 \pm 16,2$ года. Средняя продолжительность заболевания $22,5 \pm 8,4$ года. Из общего числа больных курящих было 7 человек (17,5%). Все больные поступили в стационар с обострением бронхиальной астмы смешанного генеза (эндогенно-экзогенного), персистирующим течением тяжелой бронхиальной астмы. Диагноз верифицировали на основании жалоб больных (повторные эпизоды свистящих хрипов, частые приступы удушья, неэффективный кашель, одышка), анамнеза, данных спирографии и пикфлоуметрии. Диагноз выставлен на основании критериев GINA [Чучалин А.Г., 2007]. Лечение бронхиальной астмы проводилось согласно рекомендаций GINA с учетом ступенчатого подхода [2006 чучалин 2007].

Функцию внешнего дыхания оценивали по пиковой скорости выдоха (ПСВ) с помощью электронного пикфлоуметра OMRON PFM-20 (Япония). Определение ПСВ производили 2 в сутки: утром после пробуждения и вечером перед сном до использования бронхолитиков. Расчет суточной вариации ПСВ осуществлялся по формуле:

$$CB = [2 (V_1 - V_2) : (V_1 + V_2)] \times 100\%$$

где: V_1 – пиковая скорость выдоха при утреннем измерении
 V_2 – пиковая скорость выдоха при вечернем измерении

Тяжесть бронхообструкции (и соответственно, тяжесть течения бронхиальной астмы) оценивали по соотношению величины реальной ПСВ к должной [Ennigh P.L. et al., 1994]. Должную ПСВ определяли по таблицам [Leiner G.C. et al., 1963].

Содержание малонового диальдегида (МДА) в мембране эритроцитов и плазме крови определяли по методу И.Д. Стальной и Т.Д. Горишвили [1977], диеновых конъюгатов (ДК) - по методу И.Д. Стальной [1977], шиффовы основания (ШО) - по методу Bidlack [1959]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в мембранах эритроцитов и в плазме оценивали по методу Fried [1975]. Удаление гемоглобина из гемолизата и плазмы производили по методу Minami et Yoshikawa [1979]. Содержание внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ) определяли наборами «Реанал» (Венгрия). Экстинцию пробы измеряли на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 540 нм с последующим расчетом по калибровочной кривой.

Активность каталазы в плазме крови определяли по методу М.А.Королюк и соавт. [1988]. Активность каталазы в гемолизате эритроцитов (мембранах эритроцитов) оценивали по методу Luck [1963]. Концентрацию α -токоферола (α -ТФ) определяли по Duggan [В.Г. Колб, В.С. Камышников, 1982] с расчетом по калибровочной кривой. Определение содержания церулоплазмина (ЦП) и оксидазную активность церулоплазмина (ОАЦП) исследовали по методу Ревина [В.Г. Колб, В.С. Камышников, 1982]. Определение

нитрозилгемоглобина (HbNO) проводили по методу Степура И.И. и соавт. [1997]. Супероксидгенерирующую активность (СГА) в плазме крови определяли модифицированным методом [В.В. Внуков, 1979], супероксидустраняющую активность (СУА) - по методу Misra et Fridovich [1972]. Коэффициент дисбаланса в системе «ПОЛ:АОС» ($K_{СУА/СГА}$) рассчитывали как соотношение СУА к СГ. Определение содержания мочевины производили с помощью наборов «Био-тест Lachema» (Чехия).

Мембраны эритроцитов выделяли по методу Л.И.Колчинской и соавт. [1976]. Микровязкость липидного слоя (F_m/F_e 334) и липидов зон белок-липидных контактов (аннулярных липидов) F_m/F_e 282 определяли по методу Bligh et Dyer [1959]. Степень погружения белков в липидный бислой (ΔF) определяли по тушению флюоресценции белков пиреном при длине волны возбуждения 282 нм [Ю.А.Владимиров, Г.Е.Добрецов, 1980]. Полярность окружения зонда пирена в мембране оценивали с помощью параметра F_{372}/F_{393} , равного отношению интенсивности флюоресценции пирена в суспензии эритроцитов при длине волны возбуждения 334 нм и длинах волн флюоресценции 372 и 393 нм. Использовали суспензию эритроцитов, разведенную до оптической плотности 0,720 ед., при длине волны поглощения 650 нм. Конечная концентрация пирена составляла 8 мкМ.

Тяжесть эндотелиальной дисфункции оценивали по активности фактора Виллебранда (FW), которую по методу Н.И. Weiss et al. в модификации О.А.Цигулевой [В.Г.Лычев, 2001].

Цифровые материалы обрабатывали с помощью статистических функций программы «Excel-2000» и параметрических и непараметрических критериев. Для статистической оценки межгрупповых различий использовали двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA-2) с применением рангового теста Дункана. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Проведенные исследования свидетельствуют о существенных изменениях структуры мембран эритроцитов в результате резкой интенсификации ПОЛ - концентрации диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и шиффовых оснований (ШО) составили на этапе амбулаторного лечения 190,2%-250,3%-228,9% от нормального уровня (табл. 1).

Таблица 1

Активность ПОЛ в мембранах эритроцитов при базовой терапии

Показатели	Норма	Динамика показателей на этапах исследования	
		амбулаторное лечение	стационарное лечение
ДК <i>нмоль/мг липида</i>	6,63±0,49	12,61±0,58 $p < 0,001$	10,31±0,54 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$
МДА <i>нмоль/мг липида</i>	1,75±0,43	4,38±0,30 $p < 0,01$	3,89±0,25 $p < 0,001$
ШО <i>отн.ед/мг липида</i>	2,28±0,26	5,22±0,49 $p < 0,001$	5,03±0,39 $p < 0,001$
Активность каталазы <i>нмоль/H_2O_2/мл/мин/мг</i>	73,08±3,42	50,18±4,63 $p < 0,01$	57,28±5,04 $p < 0,01$
Активность СОД <i>мкмоль/мг липида</i>	3,19±0,24	2,04±0,18 $p < 0,001$	2,52±0,13 $p < 0,02$
Токоферол	4,51±0,38	2,31 ± 0,27	2,43±0,26

мкг/мг липида		$p < 0,001$	$p < 0,02$
---------------	--	-------------	------------

На амбулаторном этапе лечения на треть снижалась активность ферментов антиоксидантной системы (АОС) - каталазы и супероксиддисмутазы (СОД). Концентрация низкомолекулярного структурного антиоксиданта токоферола составляла 66,7%, а мочевины, напротив, нарастала до 171,6% нормального уровня.

После курса стационарного лечения активность ПОЛ в мембранах снижалась - концентрации ДК и МДА уменьшились на 18,2% ($p < 0,01$) и 11,2% ($p > 0,01$) соответственно по сравнению с этапом амбулаторного лечения. Концентрация ШО практически не изменялась. Концентрации низкомолекулярных антиоксидантов - мочевины и токоферола - также существенно не изменялись. Активность каталазы и СОД имели тенденцию к нарастанию, но оно не было статистически значимым.

На амбулаторном этапе зарегистрированы высокие концентрации нитрозилгемоглобина - 159,4% по отношению к нормальному уровню ($p < 0,001$), что свидетельствует об индукции синтеза оксида азота (NO) в условиях хронической гипоксии. В процессе стационарного лечения больных отмечена тенденция к некоторому снижению концентрации нитрозилгемоглобина (на 13,8%; $p > 0,05$) (рис. 1).

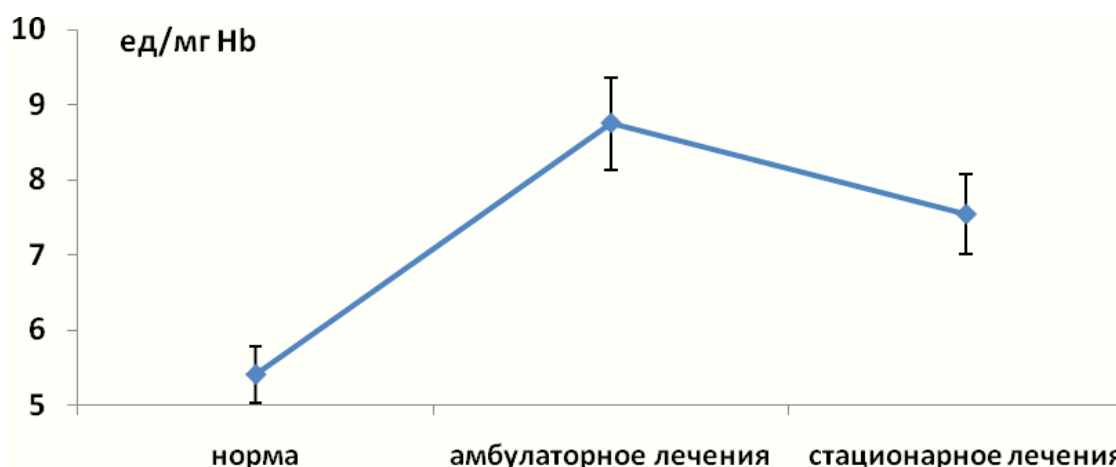


Рис. 1. Динамика содержания нитрозилгемоглобина на этапах лечения тяжелой бронхиальной астмы

Наращение активности ПОЛ привело к выраженному изменению структуры мембран эритроцитов (табл. 2).

Таблица 2.

Структура мембран эритроцитов при базовой терапии

Показатели	Норма	Динамика показателей на этапах исследования	
		амбулаторное лечение	стационарное лечение

F_m/F_e (344) <i>усл.ед.</i>	1,28±0,11	2,54±0,25 $p<0,05$	2,26±0,31 $p<0,02$
F_m/F_e (282) <i>усл.ед.</i>	0,27±0,03	0,67±0,06 $p<0,01$	0,58±0,05 $p<0,001$
$F_{372/393}$ (334) <i>усл.ед.</i>	1,02±0,01	1,64±0,11 $p<0,001$	1,31±0,20 $p<0,001$
$F_{372/393}$ (282) <i>усл.ед.</i>	1,15±0,05	0,61±0,06 $p<0,01$	0,54±0,03 $p<0,01$
ΔF <i>усл.ед.</i>	1,65±0,05	0,77±0,06 $p<0,001$	0,89±0,08 $p<0,001$

На этапе амбулаторного лечения коэффициент эксимеризации пирена при длине возбуждающего света 334 нм (F_m/F_e 334), характеризующий микровязкость липидного слоя мембран, превышал нормальный уровень на 98,4% ($p<0,05$). Коэффициент эксимеризации пирена при длине возбуждающего света 282 нм (F_m/F_e 282), характеризующий микровязкость аннулярных липидов превышал норму в 2,5 раза ($p<0,01$). Коэффициент тушения флуоресценции белков пиреном (ΔF) был ниже нормы более чем в 2 раза ($p<0,001$). Это свидетельствует об инактивации белков и «вытеснении» их из липидного матрикса мембран к ее поверхности и, фактически, о нарушении функций мембранных белков (таких как рецепторы, каналы). Полярность липидного слоя мембран [$F_{372/393}$ (334)] увеличивалась в 1,6 раза по сравнению с нормой ($p<0,001$), а полярность аннулярных липидов [$F_{372/393}$ (282)] снижалась в 1,9 раза ($p<0,001$), что является признаком распада мембранных фосфолипидов (рис. 2.8.).

Исследования показали, что как на амбулаторном, так и стационарном этапе лечения активность ПОЛ в плазме остается на высоком уровне. Так содержание ДК превышало норму в 1,7-1,4 раза ($p<0,02$), МДА – в 1,5-1,4 раза ($p<0,01$), ШО – в 3,8-3,7 раза соответственно ($p<0,001$). Соответственно такой динамике прооксидантного пула плазмы СГА также была значительно повышена – в 2,6-2,2 раза ($p<0,001$) табл. 3).

Таблица 3

Динамика активности ПОЛ в плазме при базисной терапии

Показатели	Норма	Динамика показателей на этапах исследования	
		амбулаторное лечение	стационарное лечение
ДК <i>нмоль/мг липида</i>	4,41±0,32	7,46 ± 0,37 $p<0,001$	6,31 ± 0,54 $p<0,02$
МДА <i>нмоль/мг липида</i>	7,56±0,61	11,38 ± 1,02 $p<0,01$	9,89 ± 0,87 $p<0,001$
ШО <i>отн.ед/мг липида</i>	1,36±0,36	5,22 ± 0,49 $p<0,001$	5,03 ± 0,39 $p<0,001$
СГА <i>усл.ед.</i>	3,33±0,24	8,54±0,98 $p<0,001$	7,45±0,64 $p<0,001$

Существенный «вклад» в это повышение вносил внеэритроцитарный гемоглобин (ВЭГ) - его концентрации в плазме составляли 314,3%-257,1% ($p<0,001$) к нормальному уровню (соответственно на амбулаторном и стационарном этапах лечения) ($p<0,001$). Соответственно нарастала и степень гемолиза эритроцитов - в 3,1 раза по отношению к нормальному уровню ($p<0,001$) (рис. 2.).

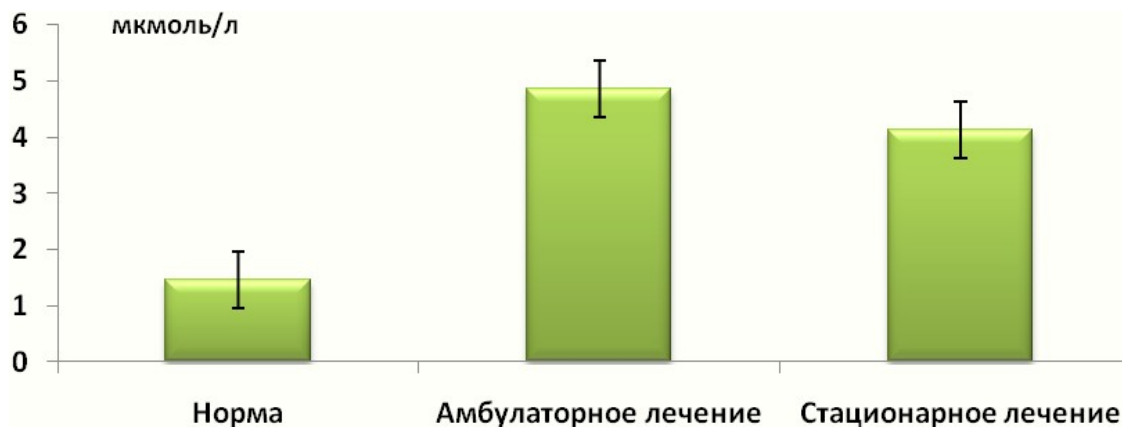


Рис. 2. Концентрация внеэритроцитарного гемоглобина при базисной терапии тяжелой бронхиальной астмы

Интенсификация ПОЛ в плазме сопровождалась дисфункцией антиоксидантных систем. На этапе амбулаторного лечения отмечено снижение концентрации ЦП на 22,1% к нормальному уровню ($p<0,05$), со снижением его оксидазной активности на 29,1% ($p<0,001$). Активность каталазы и СОД были увеличена в 1,6 и в 3,1 раза ($p<0,001$) соответственно. Субстраты низкомолекулярной антиоксидантной системы имели разнонаправленные изменения: концентрация токоферола была снижена более чем на треть ($p<0,001$), а мочевины, напротив, повышена в 1,9 раза ($p<0,01$). Супероксидустраняющая активность (СУА) понижалась до 60,7% ($p<0,001$) нормального уровня (рис.2.11.).

После курса стационарного лечения концентрация церулоплазмينا в плазме существенно не изменялась – отмечено его повышение всего на 7,2% ($p>0,05$). Его окислительная активность нарастала незначительно (на 0,08 мкмоль/л) и статистически значимо различалась с нормальным уровнем ($p<0,01$). Активность ферментов антиоксидантной системы незначительно понижалась и превышала норму в 1,4 (каталаза) и 2,6 раза (СОД). СУА возрастала на 11,0% ($p>0,05$), и оставалась ниже нормы (рис. 3)

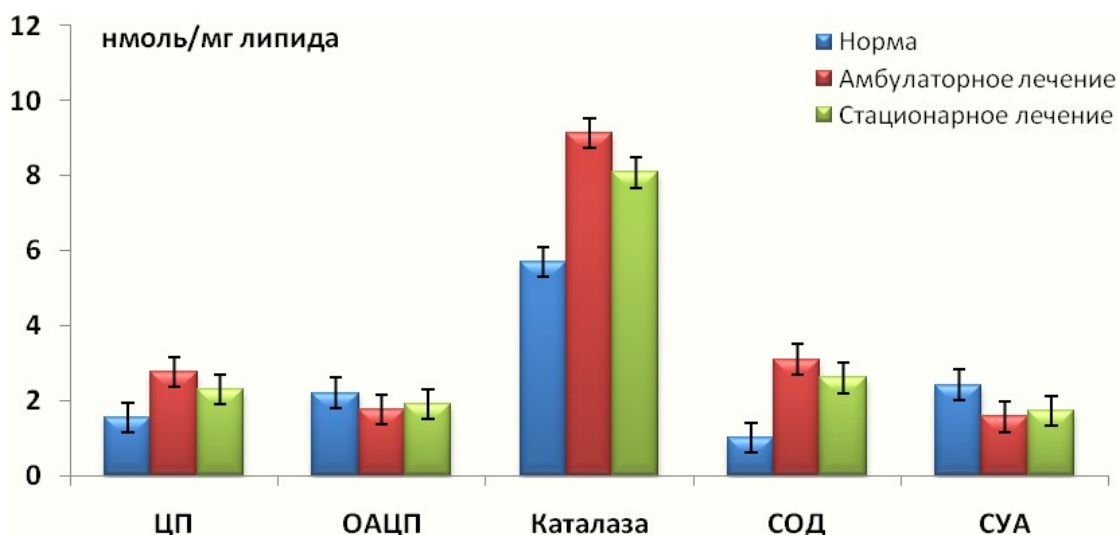


Рис. 3. Активность ферментов антиоксидантной системы плазмы при базисной терапии тяжелой бронхиальной астмы

Концентрация токоферола несколько возростала, и существенно от нормы не отличалась. Содержание мочевины снижалось, и превышало нормальное значение на 44,5% ($p < 0,05$) (рис. 4)

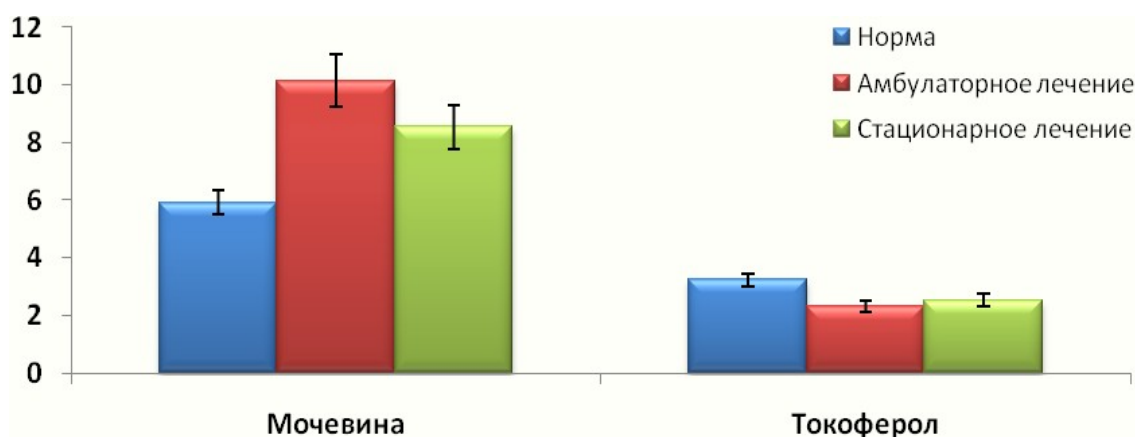


Рис. 4. Концентрация субстратов низкомолекулярной антиоксидантной системы плазмы при базисной терапии тяжелой бронхиальной астмы

Для больных контрольной группы на этапе амбулаторного лечения отмечается высокая кратность применения β_2 -агонистов, что является признаком плохого контроля течения бронхиальной астмы, а так же обострения заболевания. Характерны так же выраженные нарушения физической активности и ночного сна (табл. 4).

Таблица 4.

Тяжесть течения бронхиальной астмы при базовой терапии¹

Критерии	Динамика показателей на этапах исследования	
	амбулаторное лечение	стационарное лечение
Кратность применения β_2 -агонистов в сутки	8,0±0,4	5,5±0,7 <i>p</i> <0,02
Нарушения физической активности баллы	7,9±0,6	6,8±0,4
Нарушения ночного сна, баллы	8,3±0,7	6,0±0,5 <i>p</i> <0,05
Тяжесть бронхообструкции (ПСВ : ПСВ долж) %	40,9±4,2	52,9±6,1
Количество экстренных госпитализаций в год*	4,4±0,6	

Примечания: * - за предшествующий год

На этапе стационарного лечения отмечено уменьшение кратности применения β_2 -агонистов почти в 1,5 раза по сравнению с амбулаторным этапом (*p*<0,02). Бальная оценка нарушений физической активности хотя и уменьшалась на 13,9%, но это снижение не было статистически значимым. Несколько улучшился и ночной сон – частота эпизодов ночных просыпаний уменьшилась более чем на четверть (*p*<0,02), что связано, по-видимому, с некоторым уменьшением степени обструкции бронхов, особенно выраженное у больных в ночное время.

С учетом критериев уровня контроля бронхиальной астмы GINA [А.Г.Чучалин, 2007] течение заболевания расценивалось как неконтролируемая, частично контролируемая, и полностью контролируемая бронхиальная астма. Плохой контроль течения бронхиальной астмы «способствовал» высокой частоте госпитализаций больных контрольной группы.

Проведенные исследования показали, что в контрольной группе больных (*n*=40), получавших на амбулаторном и стационарном этапах лечения базисную терапию, достичь полного контроля за течением бронхиальной астмы не удалось ни у одного больного. У 33 больных (82,5%) уровень контроля расценивался как неконтролируемый, и у 7 больных (17,5%) – как частично контролируемый. При этом улучшения контроля за течением бронхиальной астмы на амбулаторном этапе лечения у больных отмечено не было. У 22 (55,0%) больных уровень контроля расценили как неизменный (т.е. оставшимся в течение последних 12 месяцев без изменений), и 18 (45,0%) больных

¹ - такие параметры тяжести течения бронхиальной астмы как «дневные симптомы», «ночные симптомы» и «пиковая скорость выдоха» приведены в таблице 2.8. и обсуждаются в разделе «Контроль течения бронхиальной астмы»

указали на ухудшение контроля. В подгруппе больных с ухудшением контроля за течением бронхиальной астмы подавляющее число больных имели длительность заболевания более 15 лет – 13 больных (72,2%), у 1 больного (5,6%) – до 5 лет, у 2 (11,1%) – до 10 лет и у 2 (11,1%) – до 15 лет.

На этапе амбулаторного лечения характерны частые ночные и дневные симптомы заболевания и высокая потребность в β_2 -агонистах, что свидетельствует о плохом контроле за течением бронхиальной астмы (табл. 5).

Таблица 5

Контроль за течением бронхиальной астмы при базовой терапии

Критерии	Динамика показателей на этапах исследования	
	амбулаторное лечение	стационарное лечение
Ночные симптомы <i>в неделю</i>	6,5±0,3	5,1±0,4 <i>p</i> <0,02
Дневные симптомы <i>в неделю</i>	6,1±0,2	4,7±0,3 <i>p</i> <0,01
Потребность в β_2 -агонистах <i>дозы в сутки</i>	11,0±1,4	7,2±0,6 <i>p</i> <0,05
Потребность в системных глюкокортикостероидных гормонах		
преднизолон <i>мг/сутки</i>	65,6±3,9	42,5±2,0 <i>p</i> <0,001
Пиковая скорость выдоха*, <i>л/мин</i>	210,6±39,4	272,4±28,9
Суточная вариация пиковой скорости выдоха, %	39,9±3,1	30,6±2,3 <i>p</i> <0,05

Примечания: * - норма составляет 514,9 ± 69,5 л/мин

Об этом же свидетельствуют и высокие дозы системных глюкокортикостероидных гормонов (ГКС) – 34 (85,0%) больных контрольной группы при опросе указали на возрастание в течение года суточной дозы системных ГКС от 25,0% до 100%, а у остальных дозы остались неизменными. Пиковая скорость выдоха составляла всего 40,9% нормы, причем отмечается высокая суточная вариация данного показателя (*p*<0,001).

На этапе стационарного лечения отмечено уменьшение дневных и ночных симптомов на 23,0%- 21,5% соответственно (*p*<0,02), также снижалась потребность в β_2 -агонистах на 3,8 дозы в сутки (или на треть; *p*<0,05) и в ГКС – на 35,2% (*p*<0,001). Отмечено уменьшение суточных колебаний ПСВ в 1,3 раза (*p*<0,05).

Обсуждение результатов исследования. Полученные данные свидетельствуют о выраженных изменениях структуры мембран эритроцитов в результате гиперактивации ПОЛ в мембранах. Накопление продуктов ПОЛ в мембранах увеличивает микровязкость мембранных фосфолипидов, что является основной причиной повышения ригидности мембраны клетки. В клинике это состояние именуется «жесткостью» эритроцита, с нарастанием которой уменьшается или утрачивается такое свойство эритроцита как деформируемость. По данным исследований Н.В.Рязанцевой [2001] морфологическим проявлением структурных перестроек мембран эритроцитов следует считать дезорганизацию поверхностной архитектоники и изменение качественного состава фосфолипидов мембран. Изменение жесткости мембраны приводит к изменению популяционного состава с увеличением количества эритроцитов с ригидной мембраной (дискоциты, сфероциты). Эти данные подтверждены нами при электронно-микроскопическом исследовании эритроцитов (рис. 5).

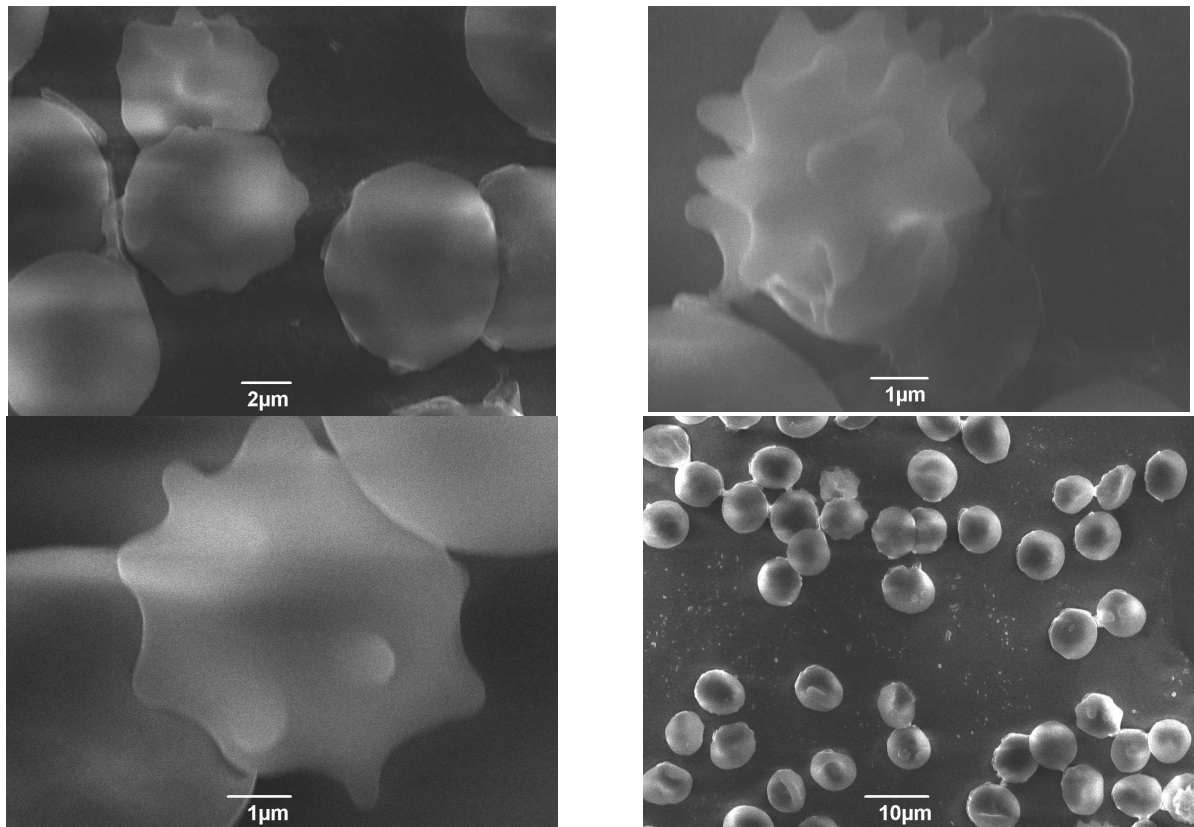


Рис. 5. Электронная микроскопия эритроцитов при гипоксии

В сосудистом русле такие эритроциты быстро гемолизируются, что сопровождается нарастанием анемии (без предшествующей кровопотери), что и показали наши исследования – у всех больных отмечено снижение уровня гемоглобина на 21,4%-15,5% по отношению к нормальному ($p<0,02$). Проведенный Н.В.Рязанцевой [2001] анализ

выявил «прямые корреляции между концентрациями ДК, активностью каталазы и числом переходных форм и дегенеративно измененных эритроцитов. Формирующийся синдром эритроцитарной мембранопатии приводит к усугублению наиболее трудно корригируемого компонента острой гипоксии – гемического».

Изменение полярности липидного слоя и аннулярных липидов свидетельствует о распаде фосфолипидов и появлении их лизоформ и свободных жирных кислот. Уменьшение коэффициента тушения флуоресценции белков пиреном (ΔF) является признаком нарастания олигомеризации белков и уменьшения степени их интеграции с липидами. Это способствует изменению активности рецепторных центров и работы ионных каналов и является еще одним признаком глубоких перестроек структуры мембран [Н.П.Милютин и соавт., 1995; П.В.Сергеев и соавт., 1996]. Ю.А.Владимиров [1998] описал явление, названное им «водной коррозией» мембран, суть которого состоит в том, что при усилении ПОЛ в мембранах эритроцитов в липидном бислое появляются гидрофильные кластеры. Это приводит к повышенному поступлению молекул воды в толщу мембраны, что и «обеспечивает» нестабильность структуры мембраны. Косвенным подтверждением этому факту является снижение микровязкости зон аннулярных липидов мембран, обнаруженная в наших исследованиях.

Использование определения активности ПОЛ в мембранах эритроцитов в качестве показателя активности данного процесса в организме стало возможным благодаря обнаружению Н.Heckers et al. [1986] общности структуры мембран эритроцитов и тканевых клеток организма и установлению корреляций между изменениями структуры мембран эритроцитов и тканевых клеток. Это дало возможность использовать эритроцит в качестве легко доступной модели при исследовании процессов повреждения мембран. Экстраполяция данных исследований структуры мембран эритроцитов при гипоксическом повреждении на другие клетки организма дает основание считать, что в основе смешанной гипоксии при тяжелой бронхиальной астме лежит повреждающий эффект свободных радикалов на мембраны клеток, в том числе, эндотелиальных [Е.В.Григорьев и соавт. 2002; Н.Н.Петрищев соавт., 2003; В.В.Семченко и соавт., 2003]. Подтверждением этому является обнаруженное нами выраженное повышение активности фактора Виллебранда на всех этапах лечения больных - до 158,5%-144,3% нормального уровня ($p < 0,01$), что указывает на системное повреждение сосудистого эндотелия.

Таким образом, в патогенезе гипоксии при тяжелой бронхиальной астме значительную роль играют выраженные изменения структуры мембран клеток, в том числе и эндотелиальных, что сопровождается формированием трансмембрального барьера

при доставке кислорода от гемоглобина эритроцитов к клеткам тканей. Следует указать на то, что базисная терапия, как на амбулаторном, так и на госпитальном этапе не была достаточно эффективной в плане купирования данных нарушений, о чем свидетельствует тот факт, что при базисной терапии, не удалось достичь полного контроля за течением бронхиальной астмы ни у одного больного, а у подавляющего числа больных (82,5%) уровень контроля расценивался как неконтролируемый.

Литература

1. Чучалин А.Г. (ред.) Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2006 г.). М.: Атмосфера, 2007. – 104 с.
2. Cunningham J. Socioeconomic status and self-reported asthma in Indigenous and non-Indigenous Australian adults aged 18-64 years: analysis of national survey data// Int. J. Equity Health. – 2010. - v. 10. - № 9. – P. 18.
3. Navaratnam P., Friedman H., Urdaneta E. The impact of adherence and disease control on resource use and charges in patients with mild asthma managed on inhaled corticosteroid agents// Patient Prefer Adherence. – 2010. - v. 24. - № 4. – P. 197-205.
4. Rosychuk R.J., Voaklander D.C., Klassen T.P. et al. Asthma presentations by children to emergency departments in a Canadian province: a population-based study// Pediatr. Pulmonol. – 2010. - v. 45. - № 10. – P. 985-992.
5. Windt R., Glaeske G. Effects of a german asthma disease management program using sickness fund claims data// J. Asthma. – 2010. - v. 47. - № 6. – P. 674-679.
6. Чучалин А.Г. Тяжелая бронхиальная астма//Русский Медицинский Журнал. – 2000. - т.8. - № 12. – С. 482-486.
7. Enright P.L., Lebowitz M.D., Cockcroft D.W. Physiologic measures: Pulmonary function test//Ann. J. Respir. Crit. Care Med. – 1994. – v. 149. – P. S9-S18.
8. Leiner G.C., Abramowitz S., Small M.J. et al. [Expiratory peak flow rate. Standard values for normal subjects. Use as a clinical test of ventilatory function](#)// Am. Rev. Respir. Dis. – 1963. – v. 88. – P. 644-651.
9. Стальная И.Д., Горишвили Т.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты//Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. - С. 66-68.
10. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных кислот//Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. - С. 63-64.
11. Bidlack W.R., Dyel A.L. Damage of microsomal membrane by lipid peroxidation//Lipids. - 1959. - v. 8. - № 4. - P. 177-182.

12. Fried R. Enzymatic and non- enzymatic assay of superoxide dismutase//Biochem. -1975. – v. 87 - P. 657-666.
13. Minami M., Yoshikama H. A simplified method of superoxide dismutase activity for clinical use//Clin. Chim. Acta. - 1979. - v. 92. - № 3. - p. 337-342.
14. Королук М.А., Иванова Л.И., Майрова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы.//Лабораторное дело. - 1988. - № 1. - С. 16-19.
15. Luce J.M. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome.//Crit. Care Med. – 1998. – v. 26. - № 2. – p. 369-376.
16. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. Минск: Беларусь, 1982. - 256 с.
17. Степура И.И., Чайковская Н.А., Солодунов А.А., Арцукевич А.Н. Образование NO[•] в процессе окисления феррохром гемоглобина нитритом//Биохимия. – 1997. – т.62. - № 9. - С. 1122-1129.
18. Внуков В.В., Милютина Н.П., Николаева Е.Е. и др. Влияние унитиола на интенсивность ПОЛ в крови и структурно-функциональные свойства эритроцитов эксперименте и у больных ИБС при ГБО-терапии. Ростов-на-Дону, 1995. - 24 с.
19. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and simple assay for SOD.//J. Biol. Chem. - 1972. - v. 247. - p. 3170-3175.
20. Колчинская Л.И., Лишко В.К., Малышева М.К. Изучение взаимодействия Na⁺, K⁺ - АТФ-азы эритроцитов с субаином, влияние ацетилфосфата//Биохимия. - 1976. - № 3. - С. 933-938.
21. Bligh E., Dyer W.J. Rapid method of total lipid extraction and purification//Can. Biochem. Physiol. - 1959. - v. 37. - № 8. - P. 911- 912.
22. Владимиров Ю.А., Добрецова Г.В. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М., Наука, 1980. - 320 с.
23. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. М.: «Медицинская книга», 2001. – 192 с.
24. Рязанцева Н.В. Патопфизиология эритроцитов при психических расстройствах: Автореферат дисс. ... д.м.н. Томск, 2001. – 43 с.
25. Милютина Н.П., Ананян А.А., Лушкаева О.А. и др. Перекисное окисление липидов и активность антиоксидантных ферментов крови, структурно-функциональные свойства эритроцитов при атеросклерозе, ишемической болезни сердца, инфаркте миокарда. Ростов-на-Дону, 1995. - 23 с.
26. Сергеев П.В., Галенко-Ярошевский П.А., Шимановский Н.Л. Очерки биохимической фармакологии. М., РЦ «Фармединфо», 1996. – 384 с.

27. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты//Вестник Российской АМН, 1998. - № 7. – С.43-51.
28. [Heckers H., Platt D., Brosche T., Summa J.D. The effect of different fat supplemented diets on the erythrocyte ghosts and plasma lipid composition of geriatric subjects//Arch. Gerontol. Geriatr. – 1986. - v. 5. - №2. – P. 83-95.](#)
29. Григорьев Е.В., Чурляев Ю.А. и др. Диагностические возможности оценки повреждения эндотелия и связи с эндогенной интоксикацией при перитоните// Критические и терминальные состояния: патофизиология и терапия. М., 2002. – С. 32.
30. Петрищев Н.Н. Патогенетическое значение дисфункции эндотелия//Омский научный вестник. - 2005.- № 3. – С. 20-23.
31. Семченко В.В., Войнов А.Ю., Голевцова Э.Ш. и др. Гемостаз и сосудистый эндотелий при черепно-мозговой травме. Омск-Надым, 2003. – 168 с.