

Бюджетное учреждение высшего образования
Ханты-Мансийского автономного округа-Югры
«Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»

На правах рукописи

НИКИТИНА ЛИДИЯ ЮРЬЕВНА

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ И МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ БРОНХОСПАЗМА,
ВЫЗВАННОГО ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКОЙ, У ЛЫЖНИКОВ И
БИАТЛОНИСТОВ**

14.01.25 - Пульмонология

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук

Петровский Федор Игоревич,

доктор медицинских наук, профессор

Соодаева Светлана Келдибековна

СУРГУТ – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ		6
ВВЕДЕНИЕ		7
ГЛАВА I	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	18
	БРОНХОСПАЗМ, ВЫЗВАННЫЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКОЙ В СПОРТЕ ВЫСОКИХ ДОСТИЖЕНИЙ: СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ, РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В РЕАЛИЗАЦИИ ДАННОГО СОСТОЯНИЯ	
	1.1. Определение понятия бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, его распространенность в спорте высоких достижений	18
	1.2. Патогенетические механизмы развития бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой	21
	1.2.1.Современные гипотезы возникновения бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой	21
	1.2.2.Клетки и медиаторы, вовлеченные в развитие бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой	25
	1.2.3.Особенности патогенеза бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, в спорте высоких достижений	31
	1.3. Оксидативный стресс и бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой в спорте высоких достижений	36
	1.3.1.Роль оксидативного стресса в патогенезе бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой	36
	1.3.2.Взаимосвязь уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе с бронхоспазмом, вызванным физической нагрузкой, у пациентов с астмой и здоровых лиц	40
	1.3.3. Методы определения уровня оксида азота в выдыхаемом	43

	воздухе	
	1.4. Современные подходы к диагностике бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой	44
	1.4.1. Тест с физической нагрузкой	47
	1.4.2. Тест с эукапнической (изокапнической) гипервентиляцией	49
	1.4.3. Ингаляционный тест с маннитолом	50
	1.4.4. Стандартный провокационный метахолиновый тест	51
	1.5. Пути коррекции бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой	53
	1.5.1. Немедикаментозные подходы к коррекции бронхоспазма физической нагрузки	53
	1.5.2. Медикаментозная терапия бронхоспазма физической нагрузки у спортсменов	55
	1.5.2.1. Ингаляционные β 2-агонисты	56
	1.5.2.2. Антилейкотриеновые препараты	60
	1.5.2.3. Ингаляционные кортикостероиды	65
ГЛАВА II	МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	68
ГЛАВА III	РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	75
	3.1. Клиническая характеристика обследованных групп	75
	3.2. Распространенность бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, и особенности функции внешнего дыхания в исследуемых группах	80
	3.3. Характеристика уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе у спортсменов, его взаимосвязь с параметрами функции внешнего дыхания	86
	3.4. Особенности метаболизма оксида азота в дыхательных	95

	путях лыжников и биатлонистов	
	3.5. Эргоспирометрические показатели аэробной емкости у спортсменов, принявших участие в лабораторном тестировании	100
	3.6. Метаболизм цистеиниловых лейкотриенов у спортсменов	104
	3.7. Эффективность медикаментозной коррекции бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой	106
	3.8. Соотношение ЛТЕ ₄ /NO выд в исследуемых группах	111
ГЛАВА IV	ОБСУЖДЕНИЕ	113
	4.1. Распространенность бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой среди лыжников и биатлонистов и особенности его клинического течения	113
	4.2. Взаимосвязь уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе с параметрами функции внешнего дыхания у спортсменов	117
	4.3. Обоснование выявленных особенностей метаболизма оксида азота в дыхательных путях лыжников и биатлонистов	121
	4.4. Результаты кардио-респираторного тестирования лыжников и биатлонистов, взаимосвязь эргоспирометрических показателей с NO в выдыхаемом воздухе	132
	4.5. Особенности обмена цистеиниловых лейкотриенов у лыжников и биатлонистов	136
	4.6. Соотношение ЛТЕ ₄ /NO выд и эффективность медикаментозной коррекции бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой	141
ВЫВОДЫ		147
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ		149
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ		151
ПРИЛОЖЕНИЯ		179

Приложение 1. Стандартная операционная процедура бронхопровокационной пробы с физической нагрузкой с использованием тредмила	179
Приложение 2. Стандартная операционная процедура бронхопровокационной пробы с физической нагрузкой в условиях тренировки на открытом воздухе	182
Приложение 3. Стандартная операционная процедура эргоспирометрического нагрузочного тестирования с использованием тредмила	184
Приложение 4. Стандартная операционная процедура определения уровня NO в выдыхаемом воздухе онлайн-методом одиночного вдоха	188
Приложение 5. Стандартная операционная процедура определения уровня лейкотриена E4 в моче	190
Приложение 6. Протокол получения дыхательного конденсата	194
Приложение 7. Протокол непрямого определения NO (суммарная концентрация стабильных метаболитов NO – нитратов и нитритов) в конденсате выдыхаемого воздуха	195
Приложение 8. Протокол определения 3-нитротирозина в конденсате выдыхаемого воздуха методом иммуноферментного анализа	198
Приложение 9. Информированное согласие на участие в исследовании	200

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БФН – бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой

КВВ – конденсат выдыхаемого воздуха

ЛТЕ₄ – лейкотриен E₄

МОС₂₅₋₇₅ – мгновенная объемная скорость воздушного потока на уровне 25-75% от

ФЖЕЛ

ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за первую секунду

ПСВ – пиковая скорость выдоха

РД – резерв дыхания

СКНН – суммарная концентрация нитратов и нитритов

ФВД – функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких

ЧД – частота дыхания

cysЛТ – цистеиниловые лейкотриены

NO выд – уровень оксида азота в выдыхаемом воздухе

VE(АП) - минутная вентиляция на уровне анаэробного порога

VE_{max} – максимальная минутная вентиляция

VO₂ – потребление кислорода

VO₂(АП) – потребление кислорода на уровне анаэробного порога

VO₂/ЧСС – кислородный пульс

VO_{2max} – максимальное потребление кислорода

VCO₂(АП) – выделение CO₂ на уровне анаэробного порога

VCO_{2max} – максимальное выделение CO₂

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Физическая нагрузка является одним из ведущих триггеров бронхообструкции, способствуя ухудшению/возникновению симптомов более чем у 80% пациентов с бронхиальной астмой [Чучалин А.Г., 2005; Anderson S.D., 2012]. Бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой (БФН), также как и обострения заболевания, ассоциирован с тяжелыми и жизнеугрожающими состояниями [GINA, 2014]. Эпидемиология собственно БФН значительно шире в сравнении с астмой, поскольку этот клинический феномен сопровождает хроническую обструктивную болезнь легких, а также аллергический ринит – самое распространенное заболевание дыхательных путей, регистрирующееся у 20 – 40% населения земного шара. Проблема БФН является наиболее актуальной у лиц, занимающихся спортом [Parsons J.P., Hallstrand T.S., Mastrorarde J.G. и соавт, 2013]. Распространенность астмы и БФН среди спортсменов значительно выше, чем в популяции в целом (3 – 5%) и составляет порядка 25% [Weiler J.M., Anderson S.D., Randolph C., 2010]. Возможно, это является следствием непосредственно больших физических нагрузок или тщательного медицинского обследования (активная провокация с увеличением вероятности регистрации бронхиальной обструкции). В некоторых видах спорта условия проведения тренировок и соревнований (низкая температура) могут значительно усугублять течение бронхообструктивных состояний [Anderson S.D., Kippelen P., 2012; Mohammadizadeh M.A., 2013].

Современная фармакотерапия позволяет пациентам с бронхиальной астмой/БФН успешно переносить физическую нагрузку, вместе с этим, ряд препаратов, по мнению тренеров и самих спортсменов, повышают физическую производительность, что ведет к использованию диагноза «астма» в качестве

прикрытия для «официального» применения подобных средств (в первую очередь β_2 -агонистов). Необходимо отметить, что значительная доля пациентов, занимающихся спортом и имеющих бронхиальную астму, не получает адекватной базисной терапии, ограничиваясь лишь использованием бронходилататоров, что повышает вероятность внезапных неблагоприятных исходов [Parsons J.P., Mastronarde J.G., 2005]. Определенной проблемой является фактически бесконтрольное использование β_2 -агонистов спортсменами, не имеющими астмы/БФН, которое не только приводит к гипокалиемии, но также на фоне повышения потребности миокарда в кислороде (при физической нагрузке) может сопровождаться выраженными инотропным, хронотропным и электрофизиологическими эффектами этих препаратов и возрастанием риска развития ишемии сердечной мышцы и аритмий [Parsons J.P., Hallstrand T.S., Mastronarde J.G. и соавт., 2013]. При этом известно, что данные лекарственные средства не повышают физическую производительность у лиц, не имеющих БФН. Складывается ситуация, при которой спортсмены, имеющие астму, зачастую не получают необходимого лечения, а лица, не имеющие БФН, используют препараты, не приводящие к улучшению спортивных результатов, что, безусловно, повышает определенные медицинские риски, связанные с неконтролируемым течением заболевания и возможными побочными эффектами β_2 -агонистов.

Активный тренировочный процесс сопровождается выраженным оксидативным и нитрозивным стрессом, что было показано во многих исследованиях [Sugiura H., 2011; Kasimay Ö., Yildirim A., Ünal M. и соавт., 2011]. Бронхиальная астма и, возможно, БФН, также сопровождаются активацией процессов свободнорадикального окисления в слизистой бронхов. Для воспаления дыхательных путей характерны активация синтеза оксида азота (NO), повышенное образование продуктов перекисного окисления с увеличением их концентраций в выдыхаемом воздухе/конденсате выдыхаемого воздуха [Barnes P.J., Dweik R.A., Gelb A.F., и соавт. 2010]. Существуют свидетельства того, что тяжелая бронхиальная

обструкция сопровождается превалированием процессов оксидативного и нитрозивного стресса на фоне значительного снижения антиоксидантных резервов [Соодаева С.К., Климанов И.А., 2012; Козина О.В., 2010]. В условиях оксидативного стресса, вызванного физической нагрузкой, дефицит антиоксидантных систем может иметь ключевое значение в развитии БФН [Weiler J.M., Anderson S.D., Randolph C., 2010]. Вместе с тем, данные проведенных исследований позволяют предположить, что оксидативный и нитрозивный стресс, сопровождающий тренировочный процесс, может приводить к нарушению функции лимфоцитов и иммуносупрессии, которые также влияют на состояние слизистой бронхов [Gleeson M., Williams C., 2013; Hackney A.C., 2013]. В работах последних лет также показана ключевая роль цистеиниловых лейкотриенов (cys-ЛТ) в патогенезе бронхообструкции [Kemp J.P., 2009]. Изучение распространенности, особенностей клинических проявлений, патофизиологических механизмов БФН, метаболизма оксида азота и лейкотриенового обмена у лыжников и биатлонистов могут стать основой оптимизации фармакотерапии и тренировочного процесса в спорте высоких достижений.

Цель исследования

Изучить распространенность, клинические особенности и механизмы развития бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, у лыжников и биатлонистов.

Задачи исследования

1. Определить распространенность и особенности клинического течения бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, у спортсменов, занимающихся биатлоном и лыжными гонками; сравнить данные показатели в группах спортсменов и здоровых добровольцев, не занимающихся спортом профессионально. Провести сравнительный анализ распространенности

бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, в зависимости от периода годового тренировочного цикла спортсменов.

2. Изучить особенности метаболизма оксида азота у лыжников и биатлонистов, оценить диагностическую значимость уровня NO в выдыхаемом воздухе, а также стабильных метаболитов NO в конденсате выдыхаемого воздуха (суммарная концентрация нитратов и нитритов, 3-нитротирозин) при бронхоспазме, вызванном физической нагрузкой.
3. Проанализировать параметры эргоспирометрии (максимальная вентиляция легких, вентиляция легких на уровне анаэробного порога, максимальное потребление кислорода, максимальное содержание CO₂ в выдыхаемом воздухе, резерв дыхания, кислородный пульс) лыжников и биатлонистов с использованием тредмил-теста, оценить взаимосвязь полученных данных с пред- и построговым уровнем NO в выдыхаемом воздухе, а также возможные их изменения у спортсменов с бронхоспазмом, вызванным физической нагрузкой.
4. Исследовать метаболизм цистеиниловых лейкотриенов у спортсменов и у здоровых добровольцев, не занимающихся профессиональным спортом; оценить взаимосвязь уровня лейкотриена E₄ (LTE₄) в моче, а также соотношения LTE₄/NO выдыхаемого воздуха с функцией внешнего дыхания. Оценить роль цистеиниловых лейкотриенов и метаболизма NO в реализации бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой.
5. Проанализировать динамику показателей метаболизма NO при терапии монтелукастом с целью профилактики бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой.
6. Разработать на основании полученных данных клинические рекомендации по оптимизации диагностики и терапии бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, у лыжников и биатлонистов.

- Впервые проведено исследование распространенности бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, у лыжников и биатлонистов специализированных спортивных учреждений олимпийского резерва с использованием непрямых провокационных тестов с физической нагрузкой при различных температурных режимах окружающей среды. Исследование проведено в подготовительный и соревновательный периоды годового тренировочного цикла, отличающиеся интенсивностью, продолжительностью и частотой выполнения физической нагрузки. Установлена сопоставимая распространенность БФН у спортсменов и лиц, не занимающихся профессиональным спортом, при использовании в качестве провоцирующего фактора теста с нагрузкой на открытом воздухе при температурах ниже нулевой отметки. Результаты тредмил-тестирования в лабораторных условиях при комнатной температуре продемонстрировали большую чувствительность.
- Определены особенности клинического течения БФН, заключающиеся в отсутствии или минимальной выраженности субъективной симптоматики, ограничивающейся у трети спортсменов малопродуктивным кашлем, который возникает во время и/или в течение 5-10 минут после тренировки. При этом положительные результаты кожного аллерготестирования имели место лишь у одного спортсмена с диагностированной постнагрузочной бронхообструкцией. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об абсолютной диагностической неинформативности субъективной симптоматики в качестве инструмента скрининга БФН. Также следует отметить, что бронхиальная обструкция у спортсменов, как правило, носит легкий характер со снижением ОФВ₁ в пределах 15% от исходного значения.
- Приоритетными являются полученные результаты, свидетельствующие о модификации метаболизма NO у лиц, профессионально занимающихся зимними видами спорта. Об активизации продукции NO в респираторном тракте спортсменов свидетельствует значимо более высокий показатель NO в

выдыхаемом воздухе (NO выд) после нагрузки в сравнении с таковым у лиц, не занимающихся спортом. Показатели суммарной концентрации нитратов и нитритов, 3-нитротирозина в конденсате выдыхаемого воздуха также были достоверно выше у лыжников и биатлонистов.

- Впервые продемонстрирована и обоснована роль исследования NO выд в качестве воспроизводимой и неинвазивной методики для скрининга БФН у спортсменов. Определен базальный донагрузочный уровень NO выд ≤ 14 ppb, обладающий высоким уровнем чувствительности в отношении синдрома БФН.
- Получены приоритетные данные о взаимосвязи между параметрами, характеризующими физическую работоспособность, и базальным/постнагрузочным NO выд. Так, повышение уровня NO выд у спортсменов ассоциировано с расширением аэробной емкости, о чем свидетельствует положительная корреляционная взаимосвязь NO выд с VO_{2max} , мл/мин/кг и $VO_2/ЧСС$.
- В рамках настоящего исследования впервые продемонстрировано, что для спортсменов с БФН характерен уровень минутной вентиляции легких при достижении анаэробного порога, превышающий 110л/мин. Причем прогностическая ценность отрицательного результата по данному критерию достигает 71,4%. Полученные данные согласуются с тем, что в известных механизмах развития БФН главная роль отводится именно гиперосмолярности поверхности слизистой респираторного тракта, пусковым механизмом которой служит повышение уровня вентиляции легких в условиях нагрузки.
- Выявлены особенности обмена цистеиниловых лейкотриенов у спортсменов в зависимости от периода тренировочного цикла, а также при БФН. Установлен факт стимулирующего влияния ежедневной аэробной нагрузки при низких температурах окружающей среды (в среднем $-10^{\circ}C$) на продукцию лейкотриенов. Определена отрицательная корреляционная взаимосвязь уровня ЛТЕ₄ в моче с основными объемно-скоростными спирометрическими параметрами

спортсменов. При этом содержание ЛТЕ₄ в моче не отличалось у спортсменов с наличием и отсутствием БФН.

- Охарактеризовано соотношение ЛТЕ₄/NO выд у спортсменов и лиц, не занимающихся спортом профессионально. Максимальный показатель зарегистрирован у лыжников и биатлонистов с диагностированным БФН, которые в дальнейшем продемонстрировали хороший ответ на терапию монтелукастом.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты проведенного исследования позволяют оптимизировать скрининг БФН у спортсменов, учитывая особенности и условия тренировочного процесса лыжников и биатлонистов. В соответствии с полученными данными, БФН в популяции лыжников и биатлонистов чаще характеризуется стертой клинической симптоматикой, основными проявлениями синдрома бронхообструкции являются активно выявляемые жалобы на более быстрое наступление утомления, сухой/малопродуктивный кашель после нагрузки. В ряде случаев у спортсменов с БФН было отмечено отсутствие каких-либо субъективных ощущений и жалоб. Следовательно, активный скрининг данного синдрома является основополагающим подходом.

Согласно приоритетным результатам настоящего исследования, инструментальный скрининг БФН может быть дополнен определением NO выд, соотношения ЛТЕ₄ в моче / NO выд. Исследование данных показателей позволит ограничить выборку спортсменов для более детального обследования (динамическая спирометрия, прямые провокационные тесты).

Важный практический интерес в аспекте диагностики БФН представляет и показатель максимальной вентиляции легких на уровне анаэробного порога при выполнении эргоспирометрии. Его повышение более 110 л/мин обладает достаточно высокой чувствительностью для диагностики данного синдрома. Следовательно, эргоспирометрическое исследование спортсменов информативно не только с точки

зрения получения функциональных данных спортивной производительности, динамическое определение которых целесообразно у профессиональных спортсменов, но и для скрининга БФН на основании параметров вентиляции легких в условиях нагрузки.

Очевидную практическую направленность имеют полученные результаты о наличии взаимосвязи уровня NO выд с показателями эргоспирометрии спортсменов. Установлена способность лыжников и биатлонистов с исходными значениями NO выд >14 ppb более длительное время работать на подпороговом уровне, демонстрируя большую аэробную эффективность. Простота, неинвазивность и воспроизводимость метода определения NO выд являются дополнительными аргументами в пользу его более широкого внедрения в практику специалистов по спортивной медицине.

На основании полученных данных разработаны рекомендации по оптимизации скрининга и профилактике БФН у лыжников и биатлонистов.

Методология и методы исследования

Согласно поставленным задачам выбраны методологически оправданные и высокоинформативные методы исследования. Методики определения стабильных метаболитов NO в конденсате выдыхаемого воздуха освоены и выполнены на базе лаборатории клинической и экспериментальной биофизики ФГБУ «НИИ пульмонологии». Определение NO в выдыхаемом воздухе выполнялось при помощи газоанализатора CLD 88, в соответствии с критериями ATS/ERS. Функциональная диагностика бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, проводилась согласно современным международным рекомендациям.

Положения, выносимые на защиту

1. Определена распространенность бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, среди лыжников и биатлонистов в зависимости от условий и метода

- проведения провокационного тестирования. Предпочтительным диагностическим подходом в данных видах спорта является выполнение лабораторного исследования с дозированной физической нагрузкой (тредмил-тест) в силу большей чувствительности метода.
2. Лыжники и биатлонисты демонстрируют ряд особенностей метаболизма NO, свидетельствующих об активации синтеза NO в респираторном тракте. Преднагрузочный NO в выдыхаемом воздухе у лыжников и биатлонистов имеет диагностическое значение и может использоваться в качестве инструмента скрининга БФН в данной популяции.
 3. Уровень NO в выдыхаемом воздухе является дополнительным информативным параметром прогнозирования спортивной производительности у лыжников и биатлонистов ввиду установленной взаимосвязи показателя с параметрами, характеризующими аэробную емкость спортсменов.
 4. Спортсмены с бронхоспазмом, вызванным физической нагрузкой, характеризуются достоверно большим уровнем максимальной вентиляции легких на уровне порога анаэробного обмена. Повышение данного показателя у лыжников и биатлонистов является фактором риска развития бронхообструкции.
 5. Профессиональные занятия лыжными гонками и биатлоном ассоциированы с более интенсивной продукцией цистеиниловых лейкотриенов. Соотношение LTE₄/NO может служить дополнительным критерием БФН и мониторинга эффективности антилейкотриеновой терапии.

Внедрение в практику результатов исследования. Результаты работы применяются в учебном процессе кафедры нормальной и патологической физиологии БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», в работе отдела клинической физиологии и клинических

исследований ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, внедрены в учебный процесс кафедры рекреации и спортивно-оздоровительного туризма ФГБОУ ВПО Сочинского государственного университета.

Степень достоверности и апробация результатов. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается выполнением работы в рамках протокола клинического исследования, разработанного в соответствии с правилами надлежащей клинической практики, достаточным репрезентативным объемом клинического материала в группах сравнения, использованием воспроизводимых, точных лабораторных и инструментальных методов исследования. Основные результаты работы доложены и обсуждены на межкафедральном заседании (протокол № 3/60 от "20" октября 2014г.) с участием кафедры нормальной и патологической физиологии; кафедры физического воспитания, ЛФК, восстановительной и спортивной медицины; кафедры общественного здоровья и здравоохранения; кафедры фармакологии, клинической фармакологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии; кафедры терапии факультета последипломного образования БУ ВО Ханты-Мансийской государственной медицинской академии, а также на Национальных конгрессах по болезням органов дыхания (Уфа, 2011; Москва, 2012; Казань, 2013), конгрессах европейского респираторного общества (Амстердам, 2011; Вена, 2012; Барселона, 2013; Мюнхен, 2014).

Публикации. По теме диссертации опубликована 33 печатные работы, из них 12 публикаций в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

Личное участие автора. Автор принимал непосредственное участие в проведении научно-исследовательской работы на всех этапах от разработки идеи исследования и проектирования протокола до статистического анализа, обсуждения и публикации результатов исследования.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 202 страницах машинописного текста, содержит 24 таблицы, иллюстрирована 47 рисунками и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материала и методов исследования (глава 2), результатов исследования (глава 3), обсуждения (глава 4), выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель содержит 245 источников литературы, из которых 36 на русском языке, 209 на английском языке.

ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

БРОНХОСПАЗМ, ВЫЗВАННЫЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКОЙ, В СПОРТЕ ВЫСОКИХ ДОСТИЖЕНИЙ: СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ, РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В РЕАЛИЗАЦИИ ДАННОГО СОСТОЯНИЯ

1.1. Определение понятия бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, его распространенность в спорте высоких достижений

Синдром бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой (БФН), характеризуется внезапно развивающимся транзиторным сужением дыхательных путей, возникающим во время выполнения нагрузки или, чаще, после ее завершения [161]. Объективным подтверждением БФН служит снижение показателя объема форсированного выдоха в 1ю секунду ($ОФВ_1$) после физической нагрузки на 10% и более [13, 161]. Бронхоспазм в ответ на нагрузку регистрируется у большинства (до 90%) пациентов с астмой и, зачастую, является одним из первых проявлений заболевания [3, 13, 14, 18, 20, 28, 31, 32, 34]. Причем чем тяжелее протекает заболевание, чем хуже оно контролируется, тем чаще развивается БФН [22, 35, 102]. Тем не менее, данный синдром также встречается и при отсутствии астмы [14, 15, 242]. В этой связи, следует разграничивать 2 понятия, встречающиеся в современных публикациях:

- бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой — сужение бронхов, возникающие в ответ на физическую нагрузку у человека с нормальной функцией легких в покое;
- астма физического напряжения — затруднение дыхания у пациента с астмой во время и после нагрузки [14].

Вероятно, изолированный синдром БФН является клиническим проявлением неспецифической гиперреактивности бронхов [40, 162]. К сожалению, эти термины зачастую применяются взаимозаменяемо, без четкой дифференцировки. Однако, отличия между БФН и астмой не ограничиваются выраженностью клинических симптомов. Если при астме очевидна и доказана роль хронического эозинофильного воспаления дыхательных путей, то при изолированном БФН взаимосвязь между бронхиальной гиперреактивностью и воспалением остается не до конца определенной [188]. Тем не менее, и при отсутствии астмы имеют место отдельные доказательства наличия признаков воспаления в дыхательных путях после теста с гипервентиляцией или нагрузки. Так, в исследовании Vonsignore и др. установлено достоверное повышение уровня сегментоядерных нейтрофилов в индуцированной мокроте здоровых атлетов-марафонцев по сравнению с показателем у здоровых представителей группы контроля, не занимающихся профессиональным спортом. Причем, количество нейтрофилов в мокроте спортсменов было достоверно больше как исходно, так и после преодоления марафонской дистанции [66]. Исследование эндобронхиальных биоптатов лыжников выявило достоверно большую степень нейтрофильной инфильтрации, в сравнении с образцами пациентов с бронхиальной астмой. Кроме того, биоптаты лыжников характеризовались меньшим количеством эозинофилов, макрофагов и тучных клеток [138]. Приведенные данные свидетельствуют о том, что воспаление в дыхательных путях спортсменов с БФН все же имеет место и отличается от такового при астме.

Интересен тот факт, что примерно у 50% лиц с БФН существует период рефрактерности, возникающий сразу после эпизода БФН и продолжающийся 2-3 часа, в течение которых дополнительная нагрузка не приводит к развитию повторной бронхообструкции или характеризуется менее интенсивным снижением $ОФВ_1$ [242]. У таких пациентов рефрактерный период может также следовать и за физической нагрузкой меньшей интенсивности, не вызывающей развитие БФН. Это может иметь важное значение для разработки нефармакологических подходов к

профилактике БФН у спортсменов перед соревнованиями [172, 242]. Механизмы развития рефрактерности недостаточно ясны. В качестве предположительных механизмов ее развития рассматривается транзиторная толерантность гладкой мускулатуры бронхов к провоспалительным медиаторам, а также релаксация гладких миоцитов под действием простагландина E2 [90, 185, 207, 244].

Общая распространенность БФН в популяции изучена недостаточно. В большинстве исследований нет четкой дифференцировки пациентов с астмой в сочетании с БФН и лиц с БФН без астмы. Давно известен факт значительно большей распространенности БФН среди спортсменов атлетических видов спорта высоких достижений, в особенности среди тех из них, кто соревнуется на длинные дистанции [242]. В таблице 1 представлена распространенность БФН в различных видах спорта. Так, в исследовании Mannix E. с использованием для регистрации БФН непрямого метода эукапнической гипервентиляции у 212 обследованных без симптомов астмы частота БФН составила 19,4% [160, 162]. При применении этого же провокационного теста у молодых атлетов частота выявления БФН была 35-38% (табл. 1). Высокая распространенность БФН при использовании непрямых методов отмечена у лыжников и фигуристов (табл. 1).

Таблица 1

Распространенность бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, в различных видах спорта

Провокационный тест	Вид спорта	Доля спортсменов, имеющих БФН, %	Литературный источник
Эукапническая гипервентиляция	Фитнесс	19	Mannix E.T. et al., 2003. [162]
Эукапническая гипервентиляция	Атлеты	38	Mannix E.T. et al., 2004. [160]
Эукапническая гипервентиляция	Атлеты	35	Parsons J. et al., 2007.

гипервентиляция			[189]
Провокационный тест	Вид спорта	Доля спортсменов, имеющих БФН, %	Литературный источник
Физическая нагрузка / метахолин	Лыжники	37,5 / 8,3	Stensrud T. et al., 2007. [221]
Физическая нагрузка	Фигурное катание	35	Mannix E.T. et al., 1996. [161]
Эукапническая гипервентиляция / физическая нагрузка	Зимние виды спорта	45 / 29	Rundell K.W. et al., 2004. [209]

1.2. Патогенетические механизмы развития бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

1.2.1. Современные гипотезы возникновения бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

В состоянии покоя полноценное кондиционирование (очищение, согревание и увлажнение) вдыхаемого воздуха осуществляется слизистой полости носа. При физической нагрузке по мере увеличения минутной вентиляции на 30 л и более происходит переключение с носового дыхания на дыхание ртом [182].

Количество порядков нижних дыхательных путей, необходимое для полноценного кондиционирования воздуха, зависит от минутной вентиляции, влажности и температуры вдыхаемого воздуха, температуры слизистой дыхательных путей и способности жидкости, выстилающей эпителий бронхов, к увлажнению воздуха [44].

Наиболее значимым фактором, определяющим выраженность БФН, является влажность вдыхаемого воздуха, а также уровень минутной вентиляции, достигаемый и поддерживаемый в течение физической нагрузки [4, 5, 14, 188, 241]. Чем ниже влажность вдыхаемого воздуха и больше уровень вентиляции, тем больше вероятность развития БФН у предрасположенных лиц. Основным источником увлажнения вдыхаемого воздуха в нижних отделах респираторного тракта является жидкость, выстилающая дыхательные пути (ЖВДП), в частности, прециллиарный слой золя. В состоянии покоя превалируют абсорбирующие свойства эпителиальной поверхности, однако, при физической нагрузке она становится источником пополнения объема золя. Общая площадь поверхности дыхательных путей и поверхностной жидкости достаточно велика (3100 см²), благодаря чему поступления некондиционированного воздуха в альвеолы не происходит [42]. Причем, первые 10 порядков дыхательных путей имеют кумулятивную площадь ≈ 742 см². С учетом предположительной толщины слоя золя в 5-10 мкм (соответственно длине ресничек цилиндрических эпителиальных клеток), общий объем жидкости, выстилающей данные отделы, составляет 0,37-0,74 мл [242]. На уровне бронхов 12 порядка общая площадь их поверхности удваивается. В состав выстилающей их жидкости входят ионы Na⁺, Cl⁻, K⁺, Ca²⁺ (осмолярность $\approx 290-320$ мОсм). При уровне вентиляции, превышающем 40 л/мин, гомеостаз осмолярности и гидратации достигается за счет быстрого перемещения воды в слой золя [15, 40, 242].

Полноценное кондиционирование воздуха в условиях гипервентиляции проходит с участием дыхательных путей менее 12 порядка (диаметром менее 1 мм), именно эти дыхательные пути особенно чувствительны к неблагоприятному воздействию некондиционированного воздуха [242]. Вовлечение периферических дыхательных путей в процесс кондиционирования воздуха является особенно важным для развития БФН, т.к. количество тучных клеток здесь существенно больше [75, 83, 218]. Именно эти клетки представляют собой основной источник провоспалительных медиаторов (гистамин, лейкотриены, простагландины).

Гипервентиляция сухого воздуха за счет испарения приводит к повышению осмолярности жидкости, покрывающей дыхательные пути. При этом пополнение запасов воды на поверхности слизистой идет недостаточно быстро, чтобы предотвратить дальнейшее вовлечение глубоких отделов респираторного тракта в процесс кондиционирования воздуха. Повышение осмолярности золя способствует притоку в клетки ионов Na^+ и Cl^- [194]. Пассивно следующий за Cl^- внутрь тучных клеток Ca^{2+} , вызывает их дегрануляцию и высвобождение медиаторов, итогом чего является бронхоконстрикция (осмотический механизм) [194]. В дополнение к этому, охлаждение слизистой является вазоконстрикторным стимулом, приводящим к реактивной гиперемии и дилатации сосудов слизистой (термальный механизм) [40, 101, 166]. Следует отметить, что термальный механизм не рассматривается в качестве ведущего механизма в развитии бронхоспазма, вызванного нагрузкой, и играет второстепенную роль в его реализации [14, 40, 242]. Таким образом, гиперосмолярность и, в меньшей степени, охлаждение слизистой - две независимые составляющие патогенеза БФН (рис. 1.)



Рис.1. Последовательность событий, приводящих к БФН, у пациентов с астмой (слева) и механизмы развития БФН у атлетов (справа). (Anderson SD, Kippelen P., 2005) [45].

ЖВДП – жидкость, выстилающая дыхательные пути; БГР – бронхиальная гиперреактивность; ПГ – простагландины; ЛТ - лейкотриены

1.2.2. Клетки и медиаторы, вовлеченные в развитие бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

Тучные клетки, эозинофилы, чувствительные нервные волокна, эпителиальные клетки – источники медиаторов при БФН (рис.2). Причем, главенствующая роль принадлежит тучным клеткам, высвобождающим такие бронхоконстрикторные медиаторы, как простагландин D₂ (ПГ D₂), лейкотриен C₄ (ЛТ C₄), гистамин [108, 110, 150]. Эозинофилы, дегранулирующие в ответ на повышение осмолярности и повышение внутриклеточного притока ионов Ca²⁺, служат дополнительным источником цистеиниловых ЛТ [14, 102, 108, 110, 112, 150]. Возникновение кашля в ответ на поступление в дыхательные пути больших объемов сухого воздуха как у пациентов с астмой, так и у здоровых лиц, обусловлено выделением нейропептидов (нейрокинин А).

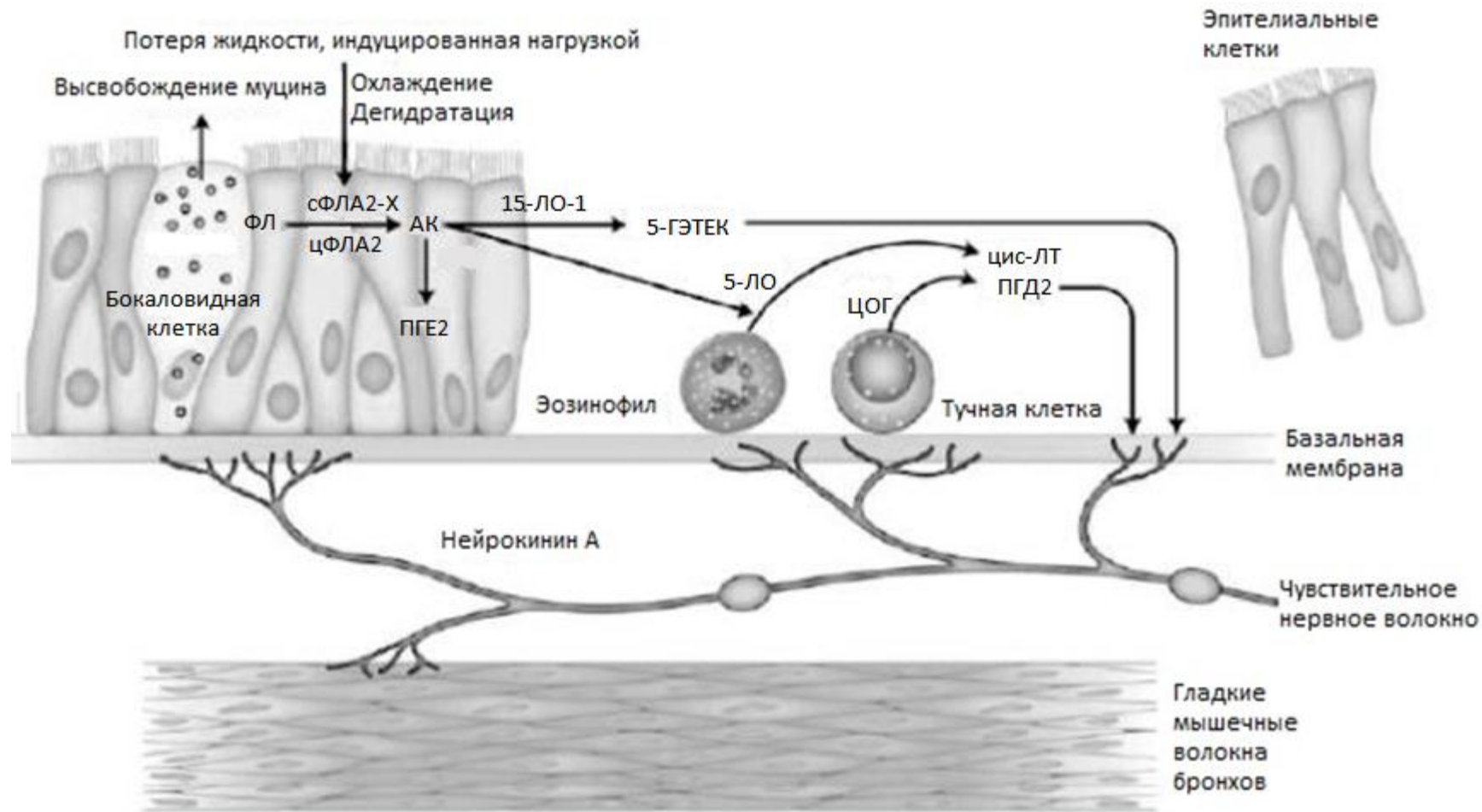


Рис. 2. Изменения в дыхательных путях при БФН (Hallstrand T.S., Henderson W.R. Jr. 2009). [112].

Примечание: ФЛ – фосфолипиды, сФЛА₂-X – секреторная фосфолипаза А₂, цФЛА₂ – цитоплазматическая фосфолипаза А₂, АК – арахидоновая кислота, 15-ЛО-1 – 15-липоксигеназа-1, 5-ГЭТЕК – 5-гидроксиэйкозатетраеновая кислота, ЦОГ – циклоксигеназа.

Дополнительный вклад в развитие БФН вносит аденозин, источником которого служит аденозинтрифосфат эпителиальных клеток [155]. Оба соединения регулируют толщину слоя золя. Их концентрация увеличивается при гипервентиляции сухого воздуха, при изменении осмолярности и толщины слоя жидкости, выстилающей бронхи. Аденозин воздействует на A_{2b} рецепторы тучных клеток, приводя к их дегрануляции. Кроме того, большинство названных выше медиаторов воздействуют на гладкие миоциты сосудистой стенки, приводя к повышению ее проницаемости и отеку [40, 155].

На протяжении многих лет научная общественность довольствовалась непрямыми доказательствами участия тех или иных медиаторов в генезе БФН. Так, эффективность кромогликата натрия в отношении уменьшения частоты и тяжести эпизодов БФН позволила предположить ведущую роль тучных клеток и гистамина в развитии данного феномена [67, 76, 81]. Ингибиторы 5-липоксигеназы и антагонисты ЛТ-рецепторов способствовали уменьшению интенсивности бронхообструкции и ускоряли восстановление уровня ОФВ₁ до исходного, что привело к предположению о важной роли ЛТ в поддержании постнагрузочной бронхообструкции [198]. Неспособность какого-либо одного антагониста полностью нивелировать БФН подтверждает вовлечение в его патогенез многих медиаторов. Однако, по мере внедрения в медицину точных и чувствительных аналитических методов, стало возможным определение причинно-значимых медиаторов и их метаболитов в динамике (в ответ на нагрузку) в мокроте, бронхо-альвеолярном лаваже, моче. По результатам этих исследований была определена главенствующая роль эйкозаноидов, экспрессия ключевого фермента биосинтеза которых (фосфолипаза А₂-X) в ответ на физическую нагрузку при астме осуществляется в эпителиоцитах и макрофагах [114]. Физическая активность может провоцировать транскрипцию генов ALOX5 и ALOX5AP, кодирующих 5-липоксигеназу (5-ЛОГ) и ее специфический белок-активатор FLAP (рис. 3) [125]. Кроме того, активность 5-ЛОГ зависит от p38 митоген-активированной протеинкиназы. В свою очередь,

инициация р38 протеинкиназного пути осуществляется множеством стимулов, включая осмотический шок. Таким образом, у пациентов с астмой и БФН, вероятно, имеет место дисрегуляция синтеза эйкозаноидов [114], что косвенно подтверждается эффективностью в отношении БФН препаратов, уменьшающих количество клеток-продуцентов [174], а также блокирующих высвобождение [68] и сами эффекты эйкозаноидов [56, 141].

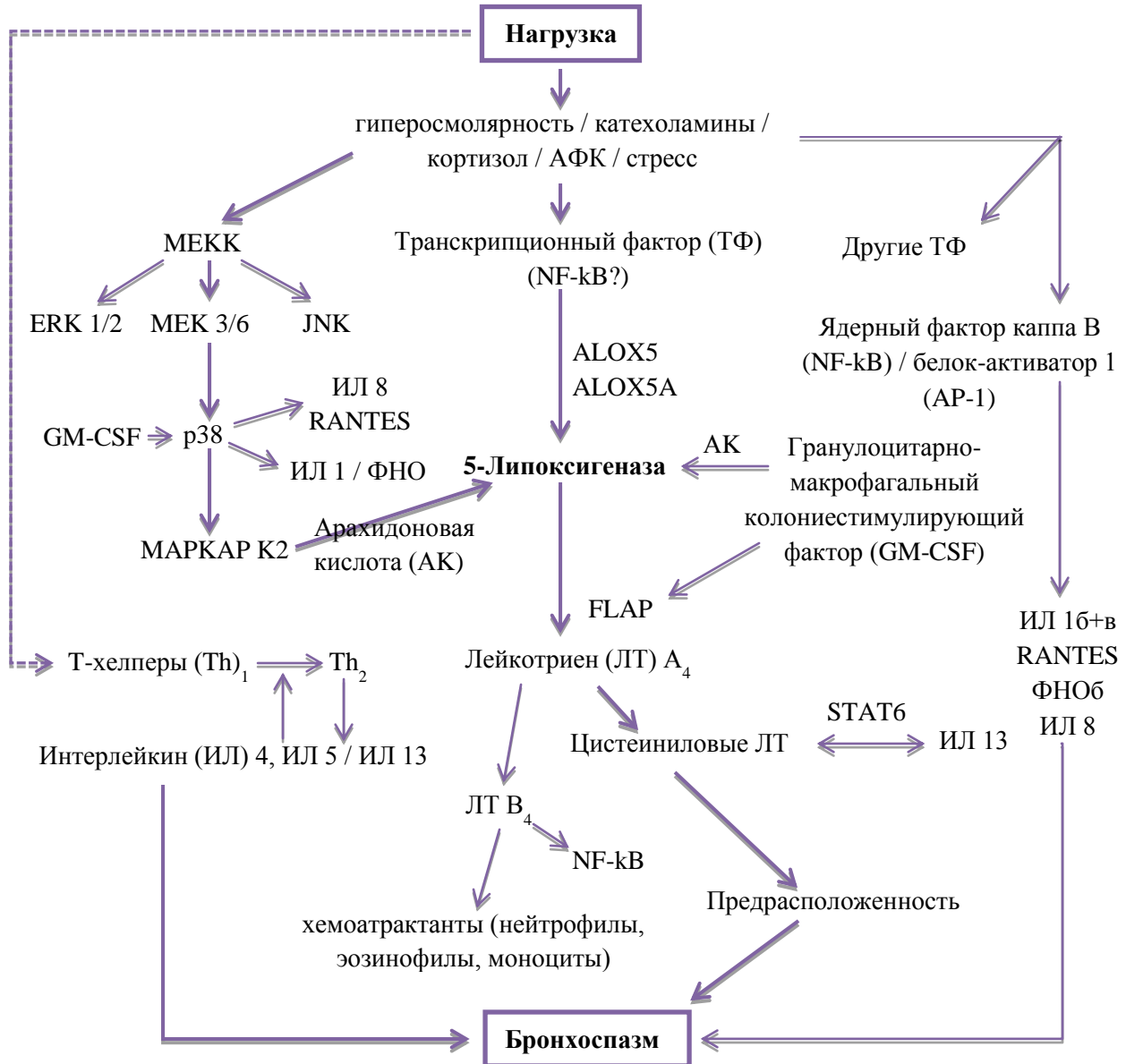


Рис. 3. Модель транскрипционного ответа и последовательность активации транскрипционных факторов, определяющих выработку медиаторов при астме физического усилия. Фокус на лейкотриены (Hilberg T., 2007). [125].

Примечание: ALOX5 – ген 5-липоксигеназы (А - активированный); ERK - внеклеточная сигнал-регулирующая киназа; FLAP-5 - белок-активатор 5-липоксигеназы; JNK - с-Jun NH₂-терминальная киназа; MAPKAP - белок-активатор митоген-активированной протеинкиназы; MEKK - MAPK/ERK киназа; MEK - MAPK/ERK; NF-κB - ядерный фактор κB; АФК - активные формы кислорода; STAT6 - фактор передачи сигнала и активатор транскрипции.

Кроме того, в последние годы были получены данные о способности тучных клеток осуществлять ИЛ-4 опосредованную экспрессию 5-ЛОГ [106]. При исследовании тучных клеток, полученных из пуповинной крови, также выявлена активация 5-ЛОГ пути в условиях увеличения осмолярности среды [106], что подтверждает важную роль этих клеток в качестве источника 5-гидроксиэйкозатетраеновой кислоты (5-НЕТЕ). В свою очередь, 5-НЕТЕ является эндогенным лигандом ваниллоидного рецептора, стимулируемого капсаицином. Клинически стимуляция данного рецептора сопровождается возникновением кашля в ответ на повышение осмолярности жидкости, выстилающей дыхательные пути при нагрузке [131]. Этот механизм возникновения кашля отмечен и у здоровых субъектов, интенсивность кашля снижается при повышении влажности вдыхаемого воздуха [58].

Важная роль в реализации БФН принадлежит и ПГ D₂. Установлено, что как у пациентов с астмой, так и у атлетов с БФН в пределах 90 минут после нагрузки и/или эукапнической гипервентиляции происходит значимое увеличение экскреции с мочой его метаболита 9α,11β-ПГ F₂ (рис. 3).

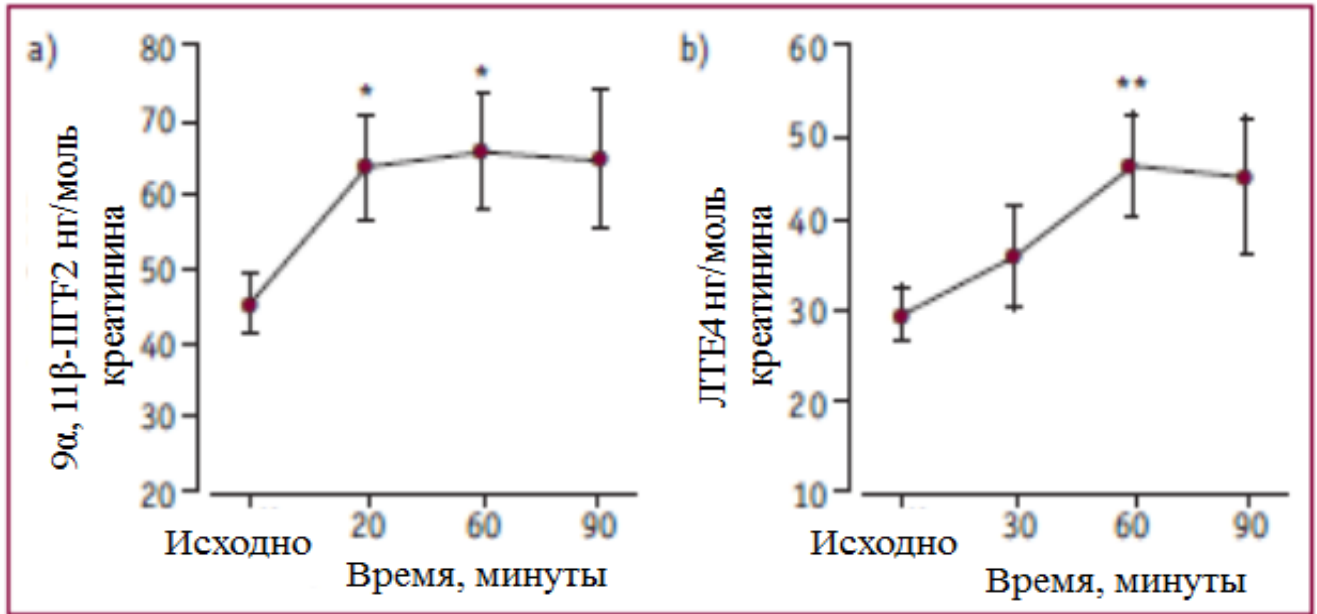
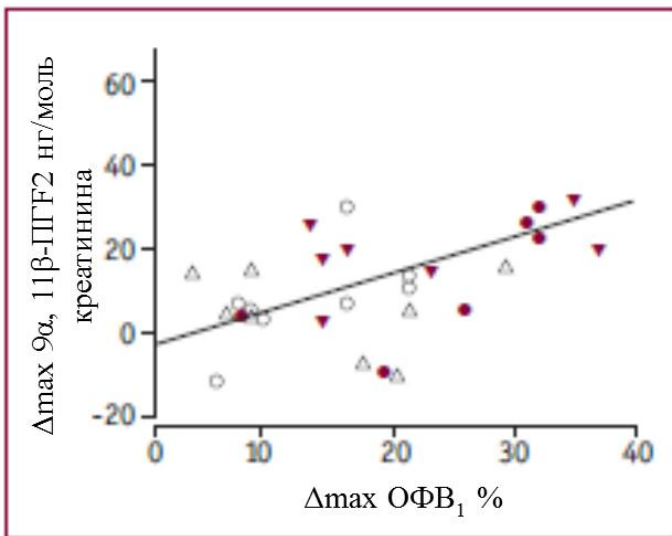


Рис. 4. Изменение уровня экскреции с мочой а) метаболита ПГ D2 $9\alpha, 11\beta$ -ПГ F₂ и б) ЛТЕ₄ в течение 90 минут после 6-минутного теста эукапнической гипервентиляции у 8 пациентов с астмой (Kippelen P., Larsson J., Anderson S.D. и соавт., 2010). [144].

Повышенный уровень $9\alpha, 11\beta$ -ПГ F₂ был обнаружен и в мокроте при бронхиальной астме [144]. Кроме того, отмечена достоверная положительная взаимосвязь между уровнем данного метаболита в моче и Δ ОФВ₁ после 6-минутного теста эукапнической гипервентиляции пациентов с астмой и атлетов (рис.



5).

Рис.5. Взаимосвязь максимальных изменений экскреции $9\alpha, 11\beta$ -ПГ F₂ с максимальным снижением ОФВ₁, % у пациентов с астмой (треугольники) и атлетов

(кружки) после приема плацебо (закрашенные символы) и 1500мкг беклометазона (открытые символы). $r=0,544$; $p<0,002$. (Kippelen P., Larsson J., Anderson S.D. и соавт., 2010). [144].

В приведенном исследовании была определена подобная, но менее выраженная взаимосвязь $\Delta\text{ОФВ}_1$ с уровнем экскреции ЛТЕ₄ ($r = 0.380$, $p = 0.038$) [144].

1.2.3. Особенности патогенеза бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, в спорте высоких достижений

Формирование гиперреактивности бронхов и БФН у здоровых атлетов без анамнеза астмы происходит вследствие необходимости кондиционирования больших объемов сухого воздуха на протяжении многолетнего интенсивного тренировочного процесса [15, 33, 40, 188]. Ирританты окружающей среды, аллергены, вирусные инфекции – дополнительные, но не облигатные факторы развития БФН [2425]. В данных условиях происходит повреждение эпителия бронхов, нарушение его целостности, а процесс восстановления ассоциирован с повышением сосудистой проницаемости и экссудацией плазмы [40, 242]. В свою очередь, поврежденный эпителий не в состоянии эффективно противостоять процессам дегидратации, своевременно пополняя поверхностные запасы жидкости в ответ на гиперосмолярные стимулы. Следовательно, появляется необходимость вовлечения в процесс кондиционирования воздуха все большей площади поверхности дыхательных путей, сопровождающегося повреждением новых и новых отделов респираторного тракта. Также предполагается, что формирование бронхиальной гиперреактивности у профессиональных спортсменов – результат изменения сократительной способности гладких миоцитов бронхов вследствие повторной экспозиции веществ, попадающих в бронхи с током плазмы в ответ на транзиторное увеличение сосудистой проницаемости [192] (рис. 6).

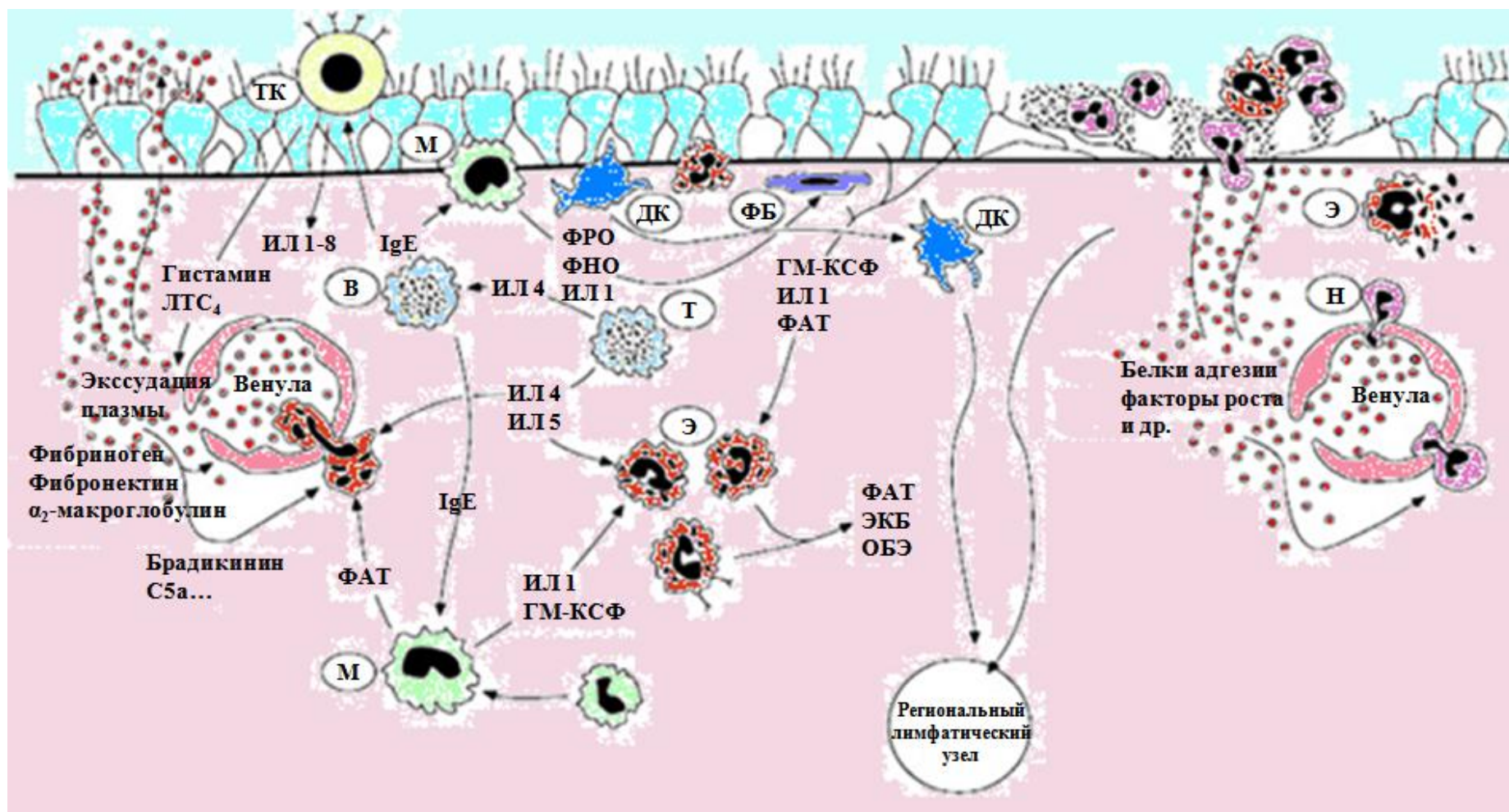


Рис. 6. Инициация экссудативного воспаления слизистой дыхательных путей при интактном эпителии (слева) и при повторном повреждении и восстановлении его целостности (справа). В обоих случаях плазменные молекулы адгезии и другие эффекторные молекулы оказывают значительное влияние на клеточное окружение lamina propria, эпителия и поверхности слизистой бронхов. (Persson C.G., Erjefalt J.S., Andersson M. и соавт., 1996). [192].

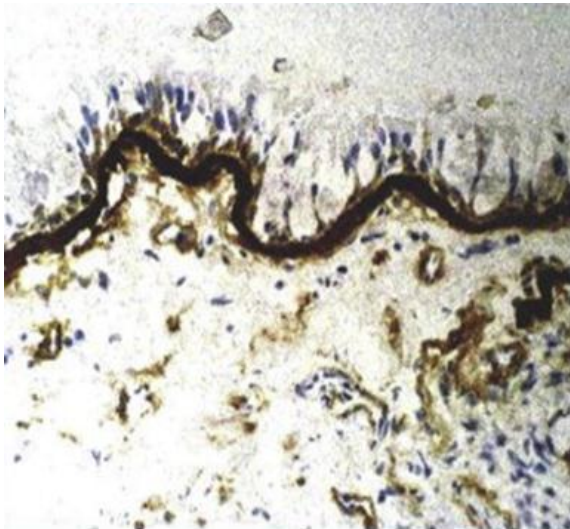
Примечание: ТК- тучная клетка; М – макрофаг; Н – нейтрофил; Э – эозинофил; ДК – дендритная клетка; ФБ – фибробласт; Т – Т-лимфоцит; В – В-лимфоцит; ФАТ - фактор активации тромбоцитов; ЭКБ - эозинофильный катионный белок; ОБЭ - большой основной белок эозинофилов.

Этот механизм в большей степени относится к БФН у спортсменов, занимающихся зимними видами спорта [40, 188, 242]. Подтверждением описанных механизмов развития гиперреактивности бронхов служит нормализация реактивности дыхательных путей вне тренировочного сезона и/или после окончания спортивной карьеры [122]. Обратимый характер гиперреактивности бронхов у этой категории спортсменов позволяет предположить, что этот вариант острого повреждения не влечет за собой структурной перестройки дыхательных путей и не является предиктором хронического персистирующего воспаления [147].

Согласно опубликованным данным, у атлетов, занимающихся летними видами спорта, имеет место пассивная сенсibilизация организма, сопряженная с атопией и высоким уровнем сывороточного IgE. Развитию сенсibilизации способствует транзиторная повторяющаяся экспозиция биологически активных продуктов плазмы слизистой дыхательных путей вследствие повышения сосудистой проницаемости [121]. Степень этой сенсibilизации, вероятно, зависит от циркулирующего пула IgE [45, 64]. Данная гипотеза позволяет объяснить столь разноречивые результаты лабораторных провокационных тестов у спортсменов.

Подтверждением сменяющих друг друга процессов повреждения и репарации эпителия в дыхательных путях спортсменов являются результаты исследования Karjalainen E-M. и коллег [138], демонстрирующие увеличение содержания тенасцина (гликопротеина экстрацеллюлярного матрикса) в базальной мембране биоптатов лыжников (рис. 7).

А



Б

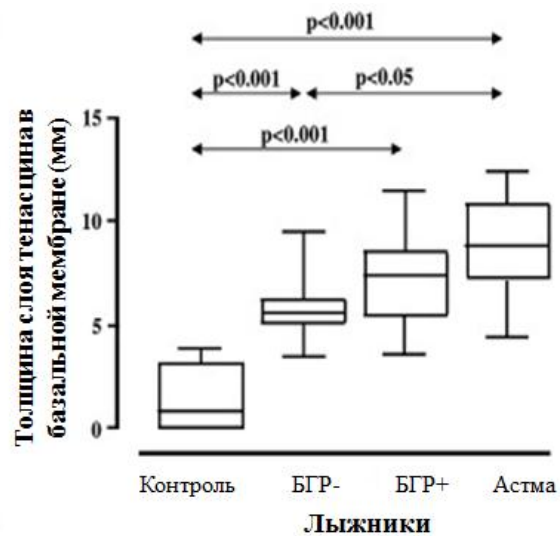


Рис. 7. А - Толщина слоя тенасцина в субэпителиальной базальной мембране у представителей группы контроля, у лыжников с положительным и отрицательным результатом метахолинового теста и пациентов с астмой. Б - Гистограмма толщины слоя тенасцина у лыжника. (Karjalainen E-M., Laitinen A., Sue-Chu M. и соавт., 2000) [138].

Увеличение количества нейтрофилов и слущенного цилиндрического эпителия в мокроте представителей многих видов спорта также свидетельствует о повреждении эпителия дыхательных путей [40]. Нейтрофилия, вероятно, носит вторичный характер по отношению к десквамации бронхиального эпителия при интенсивной физической нагрузке. Известна способность нейтрофилов увеличивать сократительную способность гладкой мускулатуры бронхов, частоту развития БГР в спорте высоких достижений [65, 109]. Например, нейтрофильный характер мокроты отмечен у пловцов, причем содержание нейтрофилов коррелировало с бронхиальной гиперреактивностью и продолжительностью спортивной карьеры [65, 109]. В работе Chimenti и др., установлено достоверное увеличение количества клеток цилиндрического эпителия бронхов с признаками апоптоза, показателя СС-16 и удвоение уровня ИЛ-8 в мокроте у бегунов-марафонцев после соревнований по сравнению с исходными показателями [78]. По данным корреляционного анализа

была определена положительная взаимосвязь уровня ИЛ-8 с количеством реснитчатых клеток в образцах индуцированной мокроты [78]. Увеличение продукции ИЛ-8 при стимулирующем влиянии на эпителиоциты гиперосмолярности и холодного воздуха было показано и в других исследованиях [118].

Дополнительным подтверждением эпителиального повреждения при БФН также является снижение количества ПГ Е2 (важнейший защитный фактор эпителиоцитов) [107] и уменьшение экспрессии гена MUC5, регулирующего секрецию муцина (основной механизм защиты эпителия от повреждающего действия дегидратации) [113].

Процесс эпителиального повреждения при БФН неразрывно связан с нарушением проницаемости микроциркуляторного русла (МЦР), опосредованного действием многих медиаторов (гистамин, сус-ЛТ, ПГ D2, субстанция P, сосудистый эндотелиальный фактор роста, ангиопоэтин 2). Вовлечение данного компонента в патогенез БФН наглядно продемонстрировано в работе Kanazawa H. и коллег, где установлено увеличение соотношения альбумина мокрота/сыворотка по мере снижения постнагрузочного ОФВ1 [137]. Среди маркеров проницаемости МЦР следует выделить СС16 - 16-кДа белок клеток Клара респираторного тракта, пик уровня которого в сыворотке был отмечен у профессиональных пловцов (в отличие от пловцов-любителей) после интенсивной физической нагрузки [151]. Причем сывороточный пик СС16 отмечался вне зависимости от метода дезинфекции бассейна (хлорирование, обработка соединениями меди/серебра). Эти результаты позволяют предположить взаимосвязь увеличения сосудистой проницаемости с тяжестью и интенсивностью физической нагрузки [71, 151]. Тем не менее, феномен повышенной сосудистой проницаемости при БФН может являть собой адаптивный механизм поддержания ионного и осмотического гомеостаза в условиях прогрессирующей дегидратации, сопряженной с выполнением нагрузки [40].

1.3. Оксидативный стресс и бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой в спорте высоких достижений

1.3.1. Роль оксидативного стресса в патогенезе бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

Важная роль в развитии и поддержании бронхообструкции принадлежит окислительному стрессу, вызываемому аэрополлютантами, поступающими в дыхательные пути в условиях нагрузочной гипервентиляции [40, 240, 242]. Увеличение продукции активных форм кислорода происходит одновременно с повышенным потреблением и истощением резерва антиоксидантов [94-96]. Вклад оксидативного стресса в механизмы патогенеза таких заболеваний, как астма, ХОБЛ хорошо изучен [10, 19, 24-27, 29, 30, 93, 195]. Прогрессирующее увеличение образования активных форм кислорода (АФК) (гидроксильный радикал, пероксинитрит, гипохлорит) приводит к необратимым изменениям важнейших компонентов клеток – белков, липидов, нуклеиновых кислот [25-27, 80]. Провоспалительные эффекты оксидантов и их регулирующее влияние на клеточный метаболизм связаны со способностью модифицировать активность ядерного транскрипционного фактора κB , активирующего протеина 1 с последующей стимуляцией экспрессии генов провоспалительных цитокинов [26, 134]. Каскад свободнорадикальных реакций проявляется клиникой бронхообструкции, нарушением проницаемости сосудистой стенки. Вызванные окислительным стрессом повреждения охватывают все структуры респираторного тракта (стенки воздухоносных путей, легочную ткань, микроциркуляторное русло, жидкость, покрывающую эпителий, альвеолоциты) [26]. Поэтапная схема повреждающего действия АФК в респираторном тракте представлена на рис. 3. При воздействии АФК на жидкость, покрывающую эпителий, происходит повышение вязкости мокроты вследствие образования дисульфидных связей между молекулами муцина и их полимеризации с возрастанием гидрофобности мокроты и изменением

соотношения фракций золя и геля в сторону последнего [26]. Это сопровождается нарушением мукоцилиарного клиренса [23], активацией кашлевого рефлекса, возрастающим риском инфицирования дыхательных путей [26]. В последующем происходит запуск перекисного окисления липидов (ПОЛ) с экссудацией и воспалением в дыхательных путях. Окислительное повреждение белков и гликопротеинов приводит к модификации активности рецепторов, инактивации ферментов, повреждению тканей с развитием клиники бронхиальной гиперреактивности (рис. 8) [26].

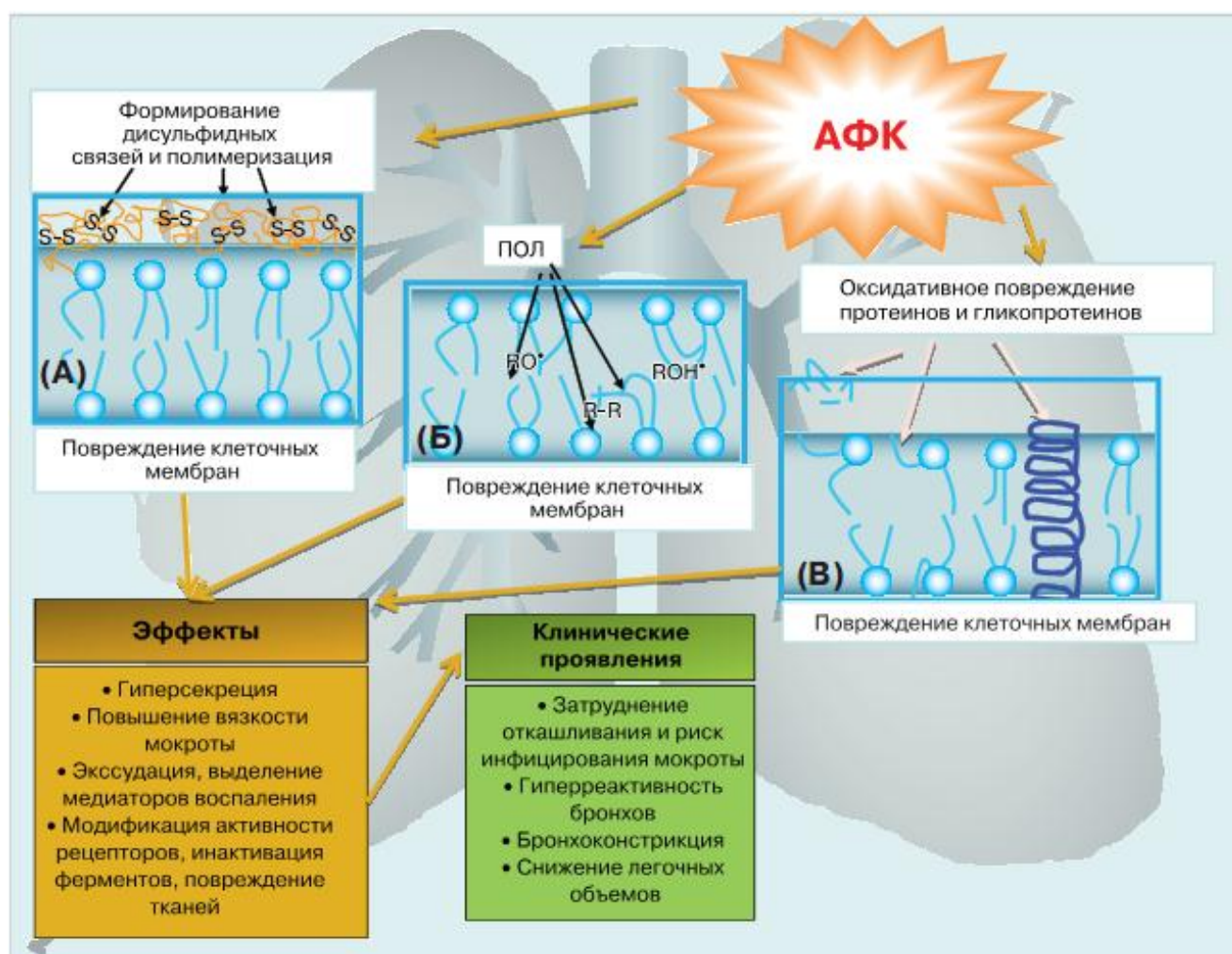


Рис.8. Основные этапы повреждающего воздействия активных форм кислорода на респираторный тракт (Соодаева С.К., Климанов И.А., 2009) [26].

Известно, что активный тренировочный процесс сопровождается выраженным окислительным стрессом, что было показано во многих исследованиях [188, 195,

242]. Инициация оксидативного стресса в условиях гипервентиляции происходит при экспозиции мощного оксиданта озона (O₃), образующегося при фотохимической реакции с участием углеводородов и окислов азота, а также твердых частиц, возникающих при сгорании топлива и других разнообразных аэрополлютантов [126]. Ранее было показано, что вдыхание высоких концентраций твердых частиц ассоциировано с увеличением частоты обращений за неотложной помощью, частоты использования β₂-агонистов и бронхоконстрикцией в ответ на физическую нагрузку у пациентов с астмой и без нее [126, 165, 231]. Повышенный уровень твердых частиц во вдыхаемом воздухе характерен для некоторых видов спорта. Так, например, высокое содержание твердых частиц зарегистрировано в воздухе крытых ледовых арен, что связано с использованием специализированной техники для шлифовки льда, и в воздухе атлетических трасс, пролегающих поблизости от автомобильных магистралей [242].

Провоспалительное воздействие аэрополлютантов на респираторный тракт может проявляться в большей мере при генетически обусловленной недостаточной активности ядерного эритроидного р-45-связанного фактора 2 (Nrf2) [178]. Данный транскрипционный фактор регулирует экспрессию генов антиоксидантов и детоксикантов в клетках организма (рис. 9). В условиях оксидативного стресса редокс-чувствительный фактор Nrf2 активируется, отщепляясь от цитозольного ингибитора Keap 1, и поступает в ядро, индуцируя транскрипцию генов антиоксидантов [157, 178]. В исследовании Williams и соавт. было изучено влияние аэрополлютантов на дендритные клетки мышей [243]. Экспозиция аэрополлютантов при генетической делеции Nrf2 в дендритных клетках была ассоциирована с развитием оксидативного стресса и активной продукцией провоспалительных цитокинов [243]. Кроме того, по данным Walters и соавт., вдыхание аэрополлютантов (твердых частиц) мышами сопровождалось появлением астмоподобных симптомов, увеличением количества эозинофилов и цитокинов Th2-профиля в бронхоальвеолярном лаваже [238]. Полученные результаты свидетельствуют о

важной физиологической роли Nrf2 в контроле аллергического воспаления респираторного тракта. Таким образом, инициация оксидативного стресса под действием аэрополлютантов включает как непосредственное увеличение уровня прооксидантов в дыхательных путях, так и опосредованную ими активацию экспрессии генов провоспалительных цитокинов Th2-профиля и перекисного окисления в условиях генетически обусловленного дефицита транскрипционного фактора Nrf2 и недостаточного уровня эндогенных антиоксидантов.

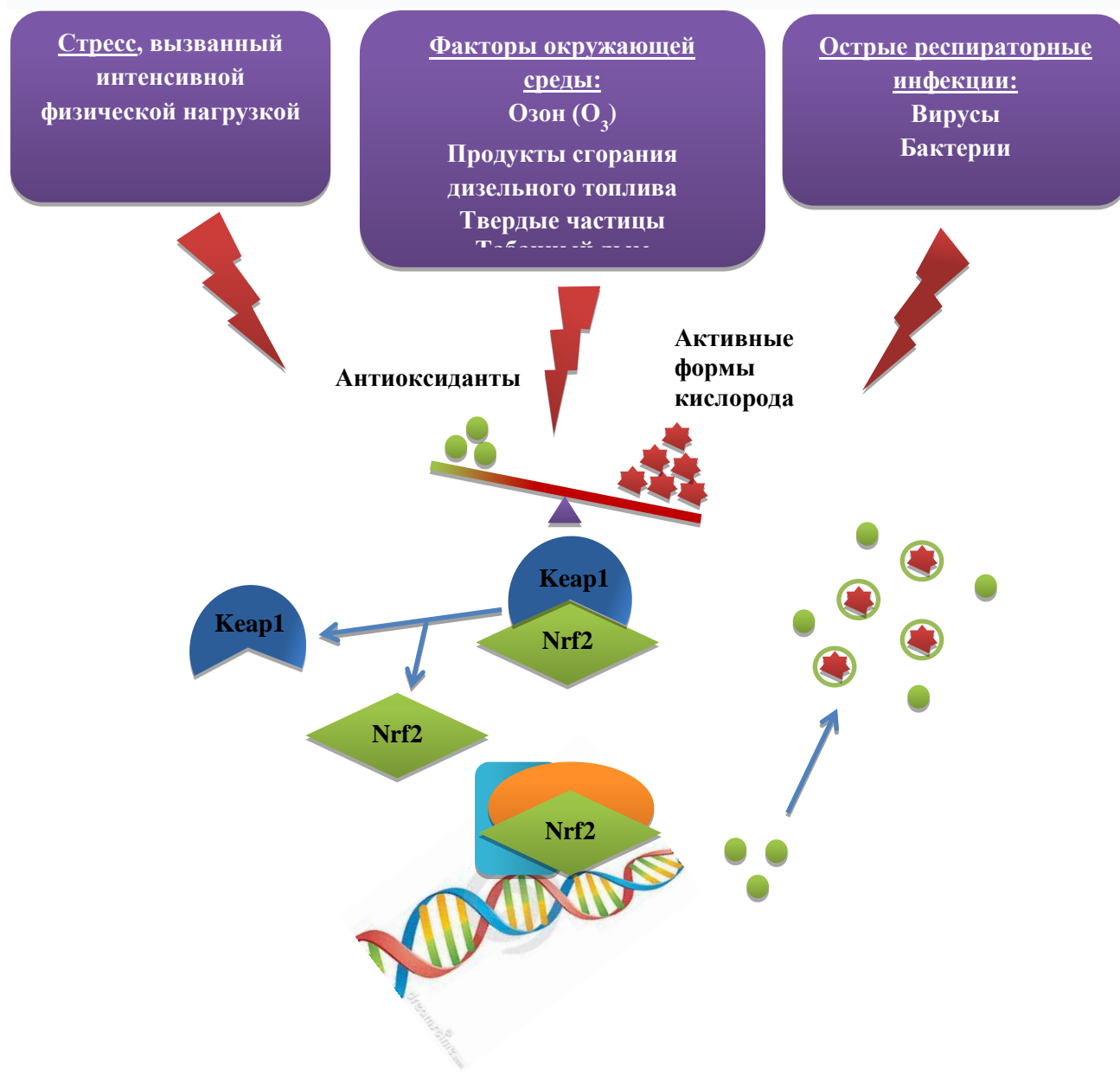


Рис. 9. Функционирование транскрипционного антиоксидантного фактора Nrf2.

Предположение о существовании взаимосвязи оксидативного стресса и БФН подтверждают результаты исследования, выполненного Barreto и коллегами, которое было посвящено изучению неинвазивного показателя оксидативного стресса 8-изопростана в конденсате выдыхаемого воздуха до и после стандартного нагрузочного теста у детей и взрослых с астмой [61]. Базальный уровень 8-изопростана коррелировал со снижением ОФВ1 после нагрузки и был достоверно больше в группе пациентов с БФН [61]. Опубликованы данные и о существовании гендерных отличий параметров оксидативного стресса у атлетов. Исследование Dopsaj V. и др. было посвящено изучению взаимосвязи показателей транспорта/депонирования железа (ферритин, трансферин) и маркеров оксидативного стресса у 138 атлетов (73 женщин и 65 мужчин) [87]. Установлены достоверно более высокие уровни показателей супероксиддисмутазы, липидных гидропероксидов, продуктов перекисного окисления белков у женщин в сравнении с мужчинами [87]. Выявлена отрицательная взаимосвязь уровня ферритина и трансферина крови с показателями оксидативного стресса [87]. Таким образом, продемонстрирована большая приверженность спортсменок к развитию оксидативного стресса, при этом уровень ферритина может вносить вклад в половые различия по показателям оксидативного стресса у атлетов.

1.3.2. Взаимосвязь уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе с бронхоспазмом, вызванном физической нагрузкой, у пациентов с астмой и здоровых лиц

В реализации оксидативного стресса, наряду с активными формами кислорода, участвуют активные формы азота (АФА) - радикальные и нерадикальные соединения, родоначальником которых является синтезируемый NO-синтазами оксид азота (NO) [6, 168]. К АФА относят сам оксид азота, пероксинитрит анион (ONOO⁻) и др. (рис.10.) [226]



Рис.10. Взаимодействие между активными формами кислорода и активными формами азота (Sugiura H., Ichinose M., 2011) [199].

Примечание: СОД – супероксиддисмутаза, КАТ – каталаза.

В норме, после эпизода гипервентиляции, вызванной физической нагрузкой, происходит снижение уровня NO в выдыхаемом воздухе (NO выд) [54]. Этот факт лежит в основе рекомендации ATS/ERS, 2005г. об отказе от нагрузки накануне исследования данного показателя [54]. Однако у пациентов с БФН динамика уровня NO выд после провокационного тестирования несколько иная. Так, в исследовании Scollo и коллег у детей, больных астмой и демонстрировавших БФН после тредмил-тестирования, отмечен достоверно больший исходный уровень NO выд в сравнении со здоровыми детьми [217]. Показатель NO выд у пациентов с астмой и БФН оставался высоким и после теста с нагрузкой, в группе контроля он был стабильно низким [217]. Уровень NO выд до нагрузки коррелировал с выраженностью постнагрузочной бронхообструкции [217]. Таким образом, по мнению авторов, уровень NO может выступать в качестве предиктора БФН [217].

Заслуживает внимания результат работы ElHawany и др., в рамках которой были обследованы 50 пациентов с подозрением на БФН (эпизоды одышки при нагрузке),

но без анамнеза атопии и диагноза астмы [91]. Установлено, что при исходном уровне NO выд менее 12 ppb пациенты не демонстрировали значимого снижения ОФВ1 после тредмил-теста и наоборот, у пациентов с документированным БФН исходные показатели NO выд были более 12 ppb [91]. Следовательно, уровень NO выд может служить суррогатным маркером БФН.

Большой научно-практический интерес представляют исследования, посвященные изучению динамики неинвазивных показателей воспаления, функции внешнего дыхания у здоровых спортсменов в ответ на интенсивную физическую нагрузку. В этой связи следует обратиться к описанному выше исследованию Bonsignore и др., в котором изучался NO выд и количество сегментоядерных нейтрофилов в индуцированной мокроте здоровых атлетов-марафонцев с целью определения влияния длительной нагрузки на данные показатели [66]. Установлено достоверное повышение уровня NO выд у атлетов после преодоления марафонской дистанции; исходное и постнагрузочное количество нейтрофилов в мокроте спортсменов было достоверно больше такового у здоровых представителей группы контроля, не занимающихся спортом [66]. Следовательно, NO может модулировать воспалительные изменения в дыхательных путях, связанные с физической нагрузкой [66].

Роль NO и эндотелина-1 в генезе БФН у футболистов изучена в работе Kasimay и коллег. В рамках исследования определяли уровень малонового диальдегида, NO выд, эндотелина-1 и глутатиона в сыворотке крови исходно и после стандартного тредмил-теста [139]. У 8 из 43 обследованных был выявлен БФН. В группе здоровых футболистов нагрузка приводила к достоверному снижению NO выд, эндотелина-1 крови, малонового диальдегида, что сопровождалось статистически значимым повышением уровня глутатиона [139]. В группе спортсменов с БФН, напротив, отмечено повышение показателей NO выд, эндотелина-1 крови, малонового диальдегида в ответ на нагрузку [139]. Таким

образом, результаты данного исследования подтверждают предположение о наличии у спортсменов с БФН признаков системного оксидативного стресса с участием АФА.

1.3.3. Методы определения уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе

История определения NO в выдыхаемом воздухе начала отсчет с конца 1990 годов в Европе, первоначально - в научно-исследовательских целях. В 2003 году первым прибором, одобренным FDA (Food and Drug Administration, США) для мониторинга противовоспалительной терапии астмы, стал Aerocrine AB (Стокгольм, Швеция) [54]. Согласно рекомендациям ATS/ERS в настоящее время стандартизованы 2 подхода к изучению NO выд: исследование в режиме реального времени (онлайн метод) и сбор выдыхаемого воздуха для отсроченного анализа (офлайн метод). Современные газоанализаторы позволяют определять фракцию NO в частях на миллиард (эквивалент: нл/л). При этом скорость выделения NO (V_{NO}) определяется по формуле: V_{NO} (нл/мин) = NO (нл/л) × скорость экспираторного потока (л/мин). Метод одиночного вдоха (онлайн) позволяет анализировать кривые зависимости фракции NO от времени или объема выдыхаемого воздуха в режиме реального времени, с автоматическим контролем достижения адекватного плато NO и «отсечением» субоптимальных попыток [54].

Несмотря на имеющиеся доказательства отсутствия влияния NO окружающей среды на уровни плато NO выд, предпочтительной рекомендацией является использование устройств, позволяющих освободить вдыхаемый перед измерением воздух от NO (допустимо содержание < 5 ppb), для исключения раннего пика NO на кривой зависимости NO выд/ время. Исключение контаминации образца выдыхаемого воздуха назальным NO достигается генерацией прибором сопротивления экспираторному потоку воздуха, что сопровождается перекрытием носоглотки мягким небом.

Плато NO выд в значительной степени определяется скоростью экспираторного потока вследствие вариативности диффузии NO в зависимости от

времени прохождения по респираторному тракту. Поэтому, стандартизация скорости воздушного потока служит ключевой составляющей воспроизводимости измерений. С 1999 года и по сей день применяется стандарт скорости экспираторного потока 0,05 л/сек, являющийся разумным компромиссом между уровнем чувствительности метода и комфортом пациента [54]. Данная скорость потока позволяет получать преимущественно результаты содержания NO в бронхиальном дереве. Наоборот, увеличение скорости экспираторного потока способствует определению содержания NO в альвеолярном воздухе (Ca_{NO}), также возможен расчет данного показателя при использовании техники повторяющихся дыхательных циклов. Следует отметить решающее значение исследования бронхиальной фракции NO выд при бронхообструктивной патологии.

В настоящее время наибольшее распространение в мировой клинической и научно-исследовательской практике получили газоанализаторы, основанные на принципе O_3/NO_2 -опосредованной хемилюминесценции, полностью удовлетворяющие требуемым параметрам для воспроизводимого и достоверного определения NO выд. Альтернативные технологии измерения NO выд включают: люминол/ H_2O_2 -опосредованную хемилюминесценцию, магнитно-резонансную спектроскопию, лазерную абсорбционную спектрометрию [54].

1.4. Современные подходы к диагностике бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

Диагностика БА/БФН включает тщательное изучение анамнеза, клинических симптомов бронхиальной обструкции, связанных с выполнением физической нагрузки, показателей функции внешнего дыхания и данных провокационных тестов. Важно отметить, что клинические симптомы не должны рассматриваться в качестве основных предикторов БФН [40, 241, 242]. Некорректно полагаться исключительно на симптоматику, т.к. это может привести к гиподиагностике асимптомного варианта данного состояния [4, 5, 15, 33, 40, 42, 45, 241, 242]. Более

того, ряд заболеваний и патологических состояний (дисфункция голосовых связок, сердечная недостаточность, первичная легочная гипертензия, гипертрофическая кардиомиопатия, аритмии) проявляются сходными симптомами одышки/затрудненного дыхания в ответ на нагрузку [188, 241]. Для достоверной регистрации снижения ОФВ1 в арсенале врача присутствуют прямые и непрямые методы [194, 241, 242] (рис. 11). К непрямым методам выявления БФН относят: тест с физической нагрузкой, с эукапнической гипервентиляцией, с ингаляцией маннитола, гипертонического раствора, аденозин монофосфата; прямые провокационные исследования включают: тест с ингаляцией метахолина, гистамина [46, 187, 194].

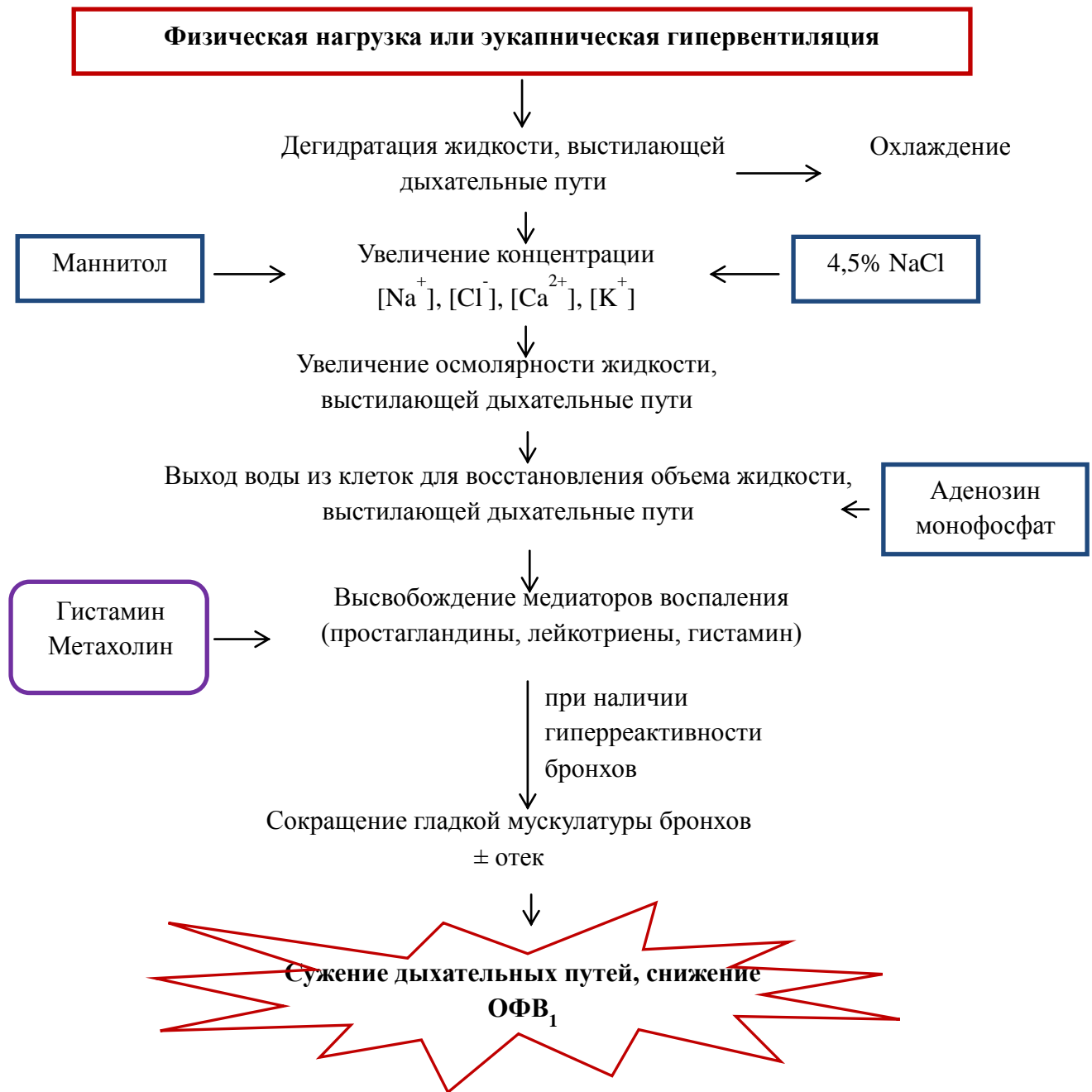


Рис.11. События, приводящие к бронхоконстрикции и снижению ОФВ₁, точки приложения провокационных диагностических тестов (Anderson S.D., 2010) [46].

Суть непрямых методов сводится к провокации высвобождения эндогенных медиаторов, приводящих к сокращению гладкой мускулатуры бронхов с увеличением сосудистой проницаемости или без него [46, 187, 242]. Поскольку ответ на действие непрямого провоцирующего фактора может модулироваться и/или полностью блокироваться под действием ингаляционных кортикостероидов (ИГКС),

результат данных методов в большей степени отражает активность воспаления в дыхательных путях обследуемого [46]. Напротив, применение прямых методов связано с непосредственным воздействием на рецепторы гладких миоцитов бронхов, вследствие чего происходит их сокращение. Прямые методы обладают достаточно высокой чувствительностью в отношении БГР, однако их специфичность не столь высока, как у непрямых, в особенности при использовании в качестве провокатора физической нагрузки [46]. Таким образом, приоритетным направлением в области диагностики БФН следует считать непрямые методы, позволяющие определить присутствие клеток воспаления в дыхательных путях [46, 194].

1.4.1. Тест с физической нагрузкой

У 90% пациентов с клиническими проявлениями астмы выполнение физических упражнений провоцирует обструкцию бронхов. В связи с этим нагрузка используется в качестве провоцирующего фактора для определения бронхообструкции физического усилия у пациентов астмой. Синдром БФН не может быть исключен при отсутствии БГР по результатам метахолинового теста. Кроме того, около 30% спортсменов атлетических видов спорта демонстрируют наличие БФН, и только у 5% атлетов регистрируется клиника астмы [188, 241, 242]. При занятиях спортом в условиях холодного климата частота БФН без клинических проявлений астмы у спортсменов может быть выше. Предпочтительный вид физической нагрузки, используемой в провокационном тесте, должен соответствовать тому виду спорта, которым занимается обследуемый [46, 187].

Исходя из того, что основными причинами БФН являются испарение воды и охлаждение слизистой бронхов (патогенетические гипотезы), протокол теста с физической нагрузкой должен проводиться при строго определенных условиях. Так, следует достигать высокого уровня вентиляции легких, превышающего ОФВ₁ в 15-22 раза, а влажность вдыхаемого воздуха должна составлять < 50% (<10 мг/л) [46, 48]. Следует отметить, что при температуре менее 10°C воздух всегда будет

достаточно сухим [46]. В качестве физической нагрузки используются бег, либо тредмил, либо велоэргометр. При использовании велоэргометра возможно наиболее точное дозирование физической нагрузки. Для мониторинга интенсивности нагрузки при проведении тредмил-теста определяется максимальный уровень частоты сердечных сокращений ($ЧСС_{max} = 220 - \text{возраст, лет}$) [46]. В качестве альтернативы может быть применено максимальное потребление кислорода (МПК) [46]. Существует множество протоколов проведения данного теста, некоторые из которых просто не в состоянии адекватно спровоцировать развитие бронхообструкции [43, 47, 49, 74, 210]. Большое количество ложноотрицательных результатов при использовании данных протоколов, вероятно, связано с высвобождением бронходилатирующих факторов (простагландин E_2) при низком уровне вентиляции легких, предотвращающих развитие бронхообструкции. Оптимальным является протокол теста, включающий быстрое (в течение 3 минут) увеличение интенсивности нагрузки до 60, 75 и 90% в 1, 2 и 3ю минуту, соответственно (либо до приведенного выше уровня ЧСС при проведении тредмил-теста), с последующим поддержанием показателя на достигнутом уровне на протяжении 5-6 минут [43, 46, 48]. Исследование функции внешнего дыхания выполняется исходно и по окончании теста, а также через 5, 10, 15, 20, 30 минут. Снижение уровня $ОФВ_1$ на 10% и более от исходного показателя является диагностическим критерием БФН. В таблице 2 представлены необходимые условия качественного проведения тредмил-теста.

Таблица 2

Условия и параметры тредмил-теста для выявления бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

Критерий	Условия
Возраст обследуемых	6-50 лет
Измерения	$ОФВ_1$ исходно, после нагрузки, через 5, 10, 15, 30 минут
Структура нагрузки	Начать с ходьбы, затем бег со скоростью 4,1 км/ч с уклоном 2,5%

Критерий	Условия
Показатель интенсивности нагрузки	ЧСС=80-90% максимальной (220уд/мин-возраст, лет)
Вентиляция	$>17,5 * \text{ОФВ}_1$
Продолжительность нагрузки	8 минут
Температура вдыхаемого воздуха	20-30°C
Критерий положительного результата	Снижение ОФВ_1 на 10% и более

Рекомендованные условия проведения тредмил-теста с целью выявления БФН у детей и взрослых (S.D.Anderson, 2011) [43].

При условии, что пациент не принимает ингаляционных или системных кортикостероидов, уменьшение ОФВ_1 на 10-24% считается легким, на 25-49% - средним и на 50% и более - выраженным. У пациентов с БФН в большинстве случаев снижение ОФВ_1 регистрируется уже в первые 10 минут после прекращения теста, восстановление показателя происходит в течение 30 минут отдыха. Для увеличения вероятности положительного результата теста следует отменить бронходилататоры на период, сопоставимый с продолжительностью их действия [43, 46].

1.4.2. Тест с эукапнической (изокапнической) гипервентиляцией

Адекватной альтернативой тесту с физической нагрузкой служит методика эукапнической гипервентиляции, по праву занимающая ведущее место в ряду диагностических подходов к выявлению БФН [43, 46, 194, 242]. К преимуществам метода относятся: простота выполнения, необходимость привлечения меньшего количества персонала и оборудования, низкая вероятность ложноотрицательного результата. Данная методика предпочтительна при диагностике БФН у спортсменов, представителей вооруженных сил с исходно нормальными параметрами ФВД [43, 46, 194]. Критерием положительного результата, как и в тесте с нагрузкой, является

снижение $ОФВ_1$ на 10% и более, однако для достоверной диагностики БФН рекомендовано регистрировать снижение показателя в 2х последовательных измерениях (с интервалом в 5 минут и более) [43, 194]. Продолжительность теста составляет 6 минут, целевой уровень вентиляции – $30 \cdot ОФВ_1$. Суть данной методики сводится к ингаляции газовой смеси, содержащей 5% CO_2 , 21% O_2 и N_2 в лабораторных условиях при комнатной температуре. При этом состояние эукапнии достигается в диапазоне вентиляции от 40 до 105 л/мин. На рисунке 12 продемонстрирована интерпретация результатов теста.



Рис.12. Определение тяжести БФН по результатам теста эукапнической гипервентиляции (Porsbjerg C., Brannan J.D.) [194].

Важно отметить, что данный тест не рекомендован для пациентов с установленным диагнозом астмы, в особенности при неконтролируемом течении заболевания и сниженных показателях ФВД.

1.4.3. Ингаляционный тест с маннитолом

Подобно другим непрямым тестам, ингаляция маннитола оказывает стимулирующий эффект на провоспалительные клетки (в большей мере тучные клетки), вызывая их дегрануляцию с высвобождением гистамина, простагландина D_2 , лейкотриена B_4 , C_4 , E_4 [43, 46, 48]. Далее, стимуляция рецепторов на гладких

миоцитах бронхов приводит к их сокращению и сужению дыхательных путей. Ингаляция маннитола является мощным осмотическим стимулом, уникальность данного препарата связана с его способностью сохранять стабильное состояние сухого мелкодисперсного порошка при высокой влажности среды. Стандартный протокол теста заключается в ингаляции порошка маннитола (Aridol™, Osmohale™) в возрастающих дозах (от 0 до 160 мг) с измерением $ОФВ_1$ через 60 секунд после каждой дозы [43, 194]. Результаты теста выражают в дозе препарата, вызвавшей снижение $ОФВ_1$ на 15% и более ($ПД_{15}$) (рис.13).

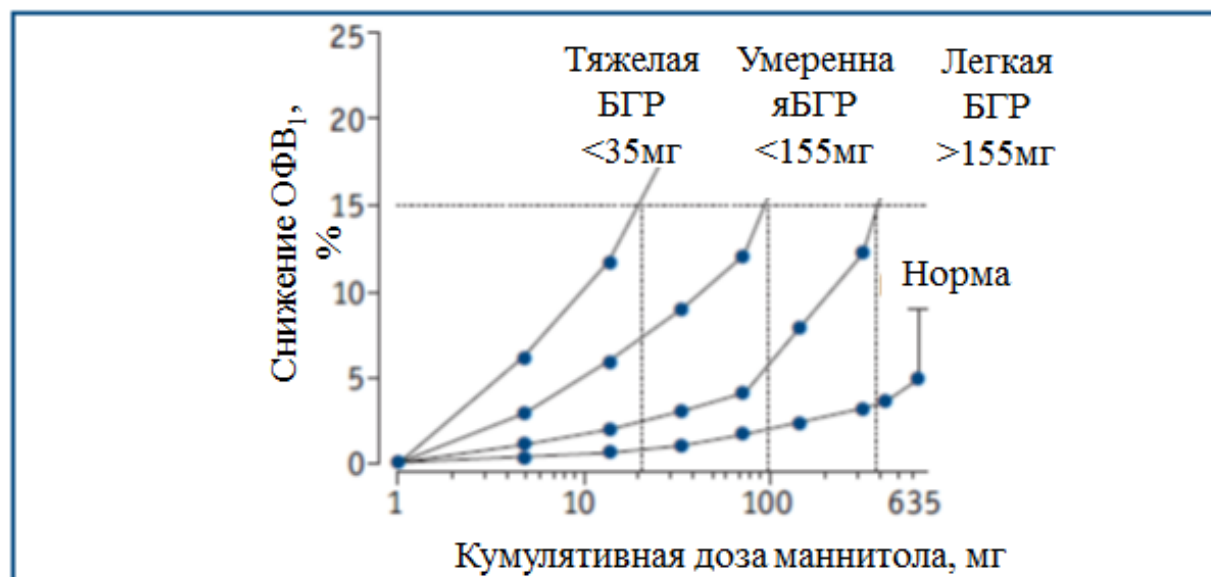


Рис.13. Провоцирующие дозы маннитола, вызывающие снижение $ОФВ_1$ на 15% при различной степени бронхиальной гиперреактивности (Brannan J.D., Koskela H., Anderson S.D., 2007) [69].

1.4.4. Стандартный провокационный метахолиновый тест

Согласно критериям, разработанным Олимпийским комитетом (пересмотр от 2006г., Турин), провокационная концентрация метахолина, при которой происходит снижение $ОФВ_1$ на 20%, ($ПК_{20}$) < 2 мг/мл и $ПК_{20}$ < 13,2 мг/мл у атлетов,

принимающих топические стероиды, является достаточной для диагностики тяжелой и среднетяжелой астмы, соответственно. Однако тест может оказаться не чувствительным в случае легкой субклинической формы заболевания, либо в случае хорошего контроля астмы [40, 242].

Современный взгляд на патогенез БФН базируется на неожиданных данных, полученных у спортсменов при попытке сравнения результатов фармакологических провоцирующих тестов и результатов теста с физической нагрузкой и других непрямых методов. В 2002 году исследователями Holzer K., Anderson S.D. были сделаны выводы о меньшей чувствительности прямого метахолинового теста в сравнении с тестами эукапнической гипервентиляции и ингаляцией маннитола у спортсменов летних атлетических видов спорта [128, 129]. Следует рассматривать две вероятные причины полученных результатов. Во-первых, основные медиаторы, вовлеченные в гиперосмолярный механизм развития БФН (ПГ D2, ЛТ E4) в 100 и 1000 раз более активны по сравнению с гистамином и метахолином [128]. Во-вторых, отрицательный фармакологический тест при положительном результате непрямого метода (нагрузка) в большинстве случаев определялись у обследованных с высокими показателями функции внешнего дыхания [128, 187, 242].

В противоположность летним видам спорта, у атлетов с высокими спирометрическими показателями, тренировки которых проводятся при низкой температуре, выявлена высокая распространенность БГР по данным метахолинового теста и сравнительно низкая доля положительных результатов непрямым методом (эукапническая гипервентиляция, нагрузка, ингаляции маннитола, аденозинмонофосфата) [43, 46, 242]. Причем, БГР у этой популяции спортсменов значительно менее выражена, чем при атопической астме [188, 242]. Вероятно, БГР у спортсменов зимних атлетических видов спорта в большей степени является следствием эпителиального повреждения, нежели классическим проявлением астмы [40, 242]. Необходимо отметить, что у некоторых представителей летних видов спорта (например, пловцы), многочасовые тренировки которых проходят в условиях

высокого содержания раздражителей в окружающей среде, также имеет место эпителиальное повреждение, ассоциированное с высоким процентом БГР по результатам метахолинового теста [242].

1.5. Пути коррекции бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

1.5.1. Немедикаментозные подходы к коррекции бронхоспазма физической нагрузки

В настоящее время происходит пополнение доказательной базы в отношении влияния модификации диеты на тяжесть и частоту эпизодов БФН [174, 175, 219, 230]. Так, диета с пониженным содержанием соли уменьшала интенсивность бронхообструкции после нагрузки [175, 219]. Применение омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в течение 3 недель и более оказывало супрессирующий эффект в отношении БФН, способствовало значимому снижению концентрации ЛТС4-E4, ПГ D2, ИЛ-1 β и ФНО- α в индуцированной мокроте исходно и после нагрузки у пациентов с астмой [174]. Назначение антиоксидантов также способствовало снижению частоты симптомов БФН у большинства обследованных [62, 230]. Следует отметить, что указанная диетическая коррекция не приводила к полной нормализации показателей спирометрии (равно как не приводили к ней и многие лекарственные препараты), но способствовала уменьшению интенсивности постнагрузочной бронхообструкции. Тем не менее, положительный эффект диеты в значительной степени уступает терапевтическому эффекту известных фармакологических подходов [219, 242]. Таким образом, диетические рекомендации носят дополнительный характер и обладают определенным потенциалом для улучшения качества жизни пациентов с БФН.

Инициация рефрактерного периода, ассоциированного со снижением частоты и тяжести развития БФН, достигается при помощи предварительной разминки [40, 62, 219, 242]. Систематический обзор 7 рандомизированных исследований

эффективности данного подхода к профилактике БФН был выполнен Stickland M.K. и коллегами [223]. Согласно проанализированным данным, наиболее стойкий эффект в отношении ослабления БФН продемонстрировали два варианта предварительной разминки: интервальная нагрузка высокой интенсивности ($\Delta\text{ОФВ1} = -10,6\% (-14,7 - 6,5\%)$) и нагрузка переменной интенсивности ($\Delta\text{ОФВ1} = -10,9\% (-14,4 - 7,5\%)$) [223]. Сравнительная эффективность интенсивной интервальной нагрузки и β_2 -агониста сальбутамола при БА+БФН у атлетов была изучена в работе Mickleborough T.D. и коллег [173]. Протокол разминки включал восемь 30-секундных интервалов бега на тредмиле с максимальной скоростью и перерывами в 45 минут. Установлено достоверное уменьшение БФН при использовании разминки ($\Delta\text{ОФВ1} = -9,1 \pm 0,6\%$) в сравнении с показателем без разминки ($\Delta\text{ОФВ1} = -18,3 \pm 4,0\%$, $p < 0.05$) [173]. При премедикации сальбутамолом отмечен достоверно больший протективный эффект в отношении БФН ($\Delta\text{ОФВ1} = +8,9 \pm 6,1\%$), лучшим профилактическим подходом послужило сочетанное применение Вентолина и разминки ($\Delta\text{ОФВ1} = +15,2 \pm 4,6\%$) [173].

Среди немедикаментозных методов профилактики БФН следует выделить маски, позволяющие поддерживать влажность вдыхаемого воздуха в условиях низких температур (рис. 14), эффективность которых в отношении основного механизма развития БФН была подтверждена в нескольких исследованиях [176, 214].



Рис. 14. Маска ColdAvenger. Механическое смешивание потоков вдыхаемого холодного воздуха и выдыхаемого теплого воздуха позволяет поддерживать динамический баланс тепла и влаги.

1.5.2. Медикаментозная терапия бронхоспазма физической нагрузки у спортсменов

Современная фармакотерапия позволяет пациентам с БА+БФН успешно переносить физическую нагрузку, вместе с этим, ряд препаратов, по мнению тренеров и самих спортсменов, повышают физическую производительность, что ведет к использованию диагноза «астма» в качестве прикрытия для «официального» применения подобных средств (в первую очередь β_2 -агонистов). Необходимо также отметить, что значительная доля лиц, занимающихся спортом и имеющих бронхиальную астму, не получает адекватной базисной терапии, ограничиваясь лишь использованием бронходилататоров, что повышает вероятность внезапных неблагоприятных исходов. Определенной проблемой также является фактически бесконтрольное использование β_2 -агонистов спортсменами, не имеющими астмы и

БФН, которое не только приводит к гипокалиемии, но также на фоне повышения потребности миокарда в кислороде (при физической нагрузке) может сопровождаться выраженными инотропным, хронотропным и электрофизиологическими эффектами этих препаратов и возрастанием риска развития ишемии сердечной мышцы и аритмий [15, 102, 219, 242]. Известно, что эти лекарственные средства не повышают физическую производительность у лиц, не имеющих БФН. Складывается ситуация, при которой спортсмены, имеющие астму, зачастую не получают необходимое лечение, а лица, не имеющие БФН, используют препараты, не приводящие к улучшению спортивных результатов, что, безусловно, повышает определенные медицинские риски, связанные с неконтролируемым течением заболевания и возможными побочными эффектами β_2 -агонистов.

1.5.2.1. Ингаляционные β_2 -агонисты

Использование β_2 -агонистов короткого действия, предшествующее физической нагрузке, – важный раздел стратегии ведения пациентов с БА+БФН [130, 173]. По данным плацебоконтролируемых исследований препараты этой группы обладают протективным эффектом в отношении бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой [62, 119]. Впервые в 1993 году медицинская комиссия Международного Олимпийского комитета разрешила использование у спортсменов двух β_2 -агонистов короткого действия: сальбутамола и тербуталина. Их применение должно было быть продекларировано и обосновано специальным врачебным заключением [237]. Неоднозначное отношение к использованию этих препаратов было связано с результатами исследований на животных, согласно которым, системные β_2 -агонисты в больших дозах оказывают влияние на скелетную мускулатуру и кардиомиоциты. Однако в настоящее время отсутствуют достоверные сведения об улучшении спортивных результатов у атлетов, принимающих β_2 -агонисты короткого действия.

Применение спортсменами длительнодействующего β_2 -агониста сальметерола было разрешено в 1996, а формотерола – в 2002 году. Согласно результатам плацебоконтролируемых исследований сальметерол обладает 12-часовым протективным эффектом в отношении БФН, в то время как салбутамол теряет его уже через 6 часов после применения. Однако постоянное использование сальметерола сопровождается уменьшением продолжительности его действия с 12 до 9 часов [104, 242]. Работа Nelson et al., посвященная изучению 20 пациентов с БА+БФН, продемонстрировала уменьшение продолжительности терапевтического эффекта сальметерола в период с 1 по 14 дни применения с ее последующей стабилизацией [181].

Другой β_2 -агонист длительного действия - формотерол также предотвращает развитие бронхоспазма у больных БА+БФН. Исследование Ferrari et al. выявило достоверно меньшее снижение показателя $ОФВ_1$ через 15 минут и 4 часа после проведения теста с физической нагрузкой по сравнению с плацебо у 14 пациентов, занимавшихся атлетическими видами спорта [94]. Однако регулярное применение препарата в течение 4 недель приводит к развитию тахифилаксии, что свидетельствует о предпочтительном использовании формотерола у спортсменов в режиме «по требованию» [94].

По результатам исследования Richter et al. сравнительная эффективность приема сальметерола 50 мкг, формотерола 12 мкг и тербуталина 500 мкг у 25 пациентов с БФН была сопоставима, а терапия формотеролом и тербуталином сопровождалась более быстрым началом действия препаратов [205]. Как и при использовании β_2 -агонистов короткого действия, применение сальметерола и формотерола не сопровождалось улучшением переносимости продолжительных и интенсивных физических нагрузок у атлетов и не влияло на результаты спортивных соревнований [205].

В последние годы значительное внимание исследователей привлекает проблема развивающейся толерантности к β_2 -агонистам при их регулярном

использовании, заключающаяся в снижении продолжительности протективного эффекта β 2-агонистов короткого и длительного действия в отношении стимулов, опосредованных тучными клетками (нагрузка, ингаляции аллергенов и гиперосмолярных аэрозолей) [116]. Отчасти, толерантность связана с деградацией β -рецепторов и секвестрацией тучных клеток, что делает эти клетки более восприимчивыми к осмотическим стимулам, отчасти – с полиморфизмом β 2-адренорецепторов [140]. Кроме того, толерантность проявляется удлинением периода восстановления проходимости бронхов при использовании в качестве провоцирующего фактора метахолина и физической нагрузки [116, 117]. Причем чем больше степень провоцируемой бронхоконстрикции, тем более выражена толерантность к β 2-агонистам [233]. Тем не менее, эффект толерантности полностью обратим и нивелируется в течение 72 часов после прекращения использования препарата [117].

Помимо широкого спектра известных точек приложения β 2-агонистов в респираторном тракте (гладкие миоциты, тучные клетки), представители данной группы препаратов уменьшают проницаемость микроциркуляторного русла [57, 77, 135]. Следовательно, β 2-агонисты снижают интенсивность повреждения эпителия и развития БГР и БФН [186]. Так, формотерол блокирует гистамин-индуцированную экссудацию плазмы в нижних дыхательных путях [105], вероятно, за счет уменьшения количества эндотелиальных «разрывов» [57].

Механизмы повышения чувствительности гладкой мускулатуры бронхов при ежедневном применении β 2-агонистов могут быть связаны с увеличением количества H_1 гистаминовых рецепторов на поверхности гладких миоцитов [159] и/или переключением механизмов расслабления на механизмы сокращения (рис. 15).

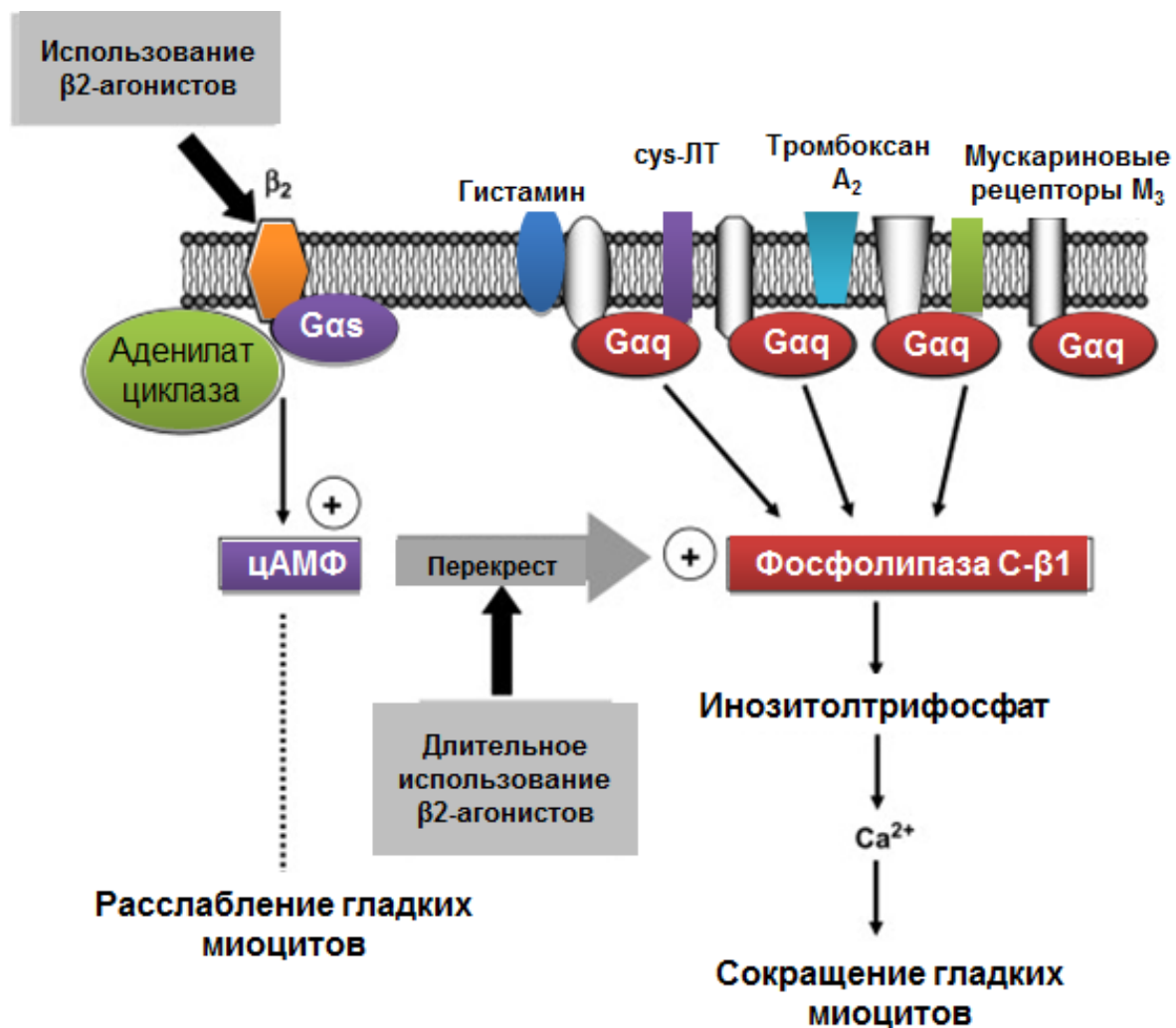


Рис. 15. Стимуляция β_2 -адренорецептора с последующей активацией аденилатциклазы с участием $G_{\alpha s}$ белка, увеличением количества цАМФ и расслаблением гладкого миоцита. При длительном использовании препарата происходит переключение на фосфолипазный путь передачи импульса, опосредованный $G_{\alpha q}$ -связанным рецептором (гистамин, cysЛТ, тромбоксан A_2 , мускариновые M_3 рецепторы. (Anderson S.D., Caillaud C., Brannan J.D., 2006) [50].

Таким образом, целесообразность и частота приема бронходилататоров при БФН должна тщательно мониторироваться. При появлении первых признаков развития толерантности необходимо снижение дозы и кратности приема препарата, рассмотрение вопроса о целесообразности назначения комбинированной терапии с использованием антагонистов лейкотриеновых рецепторов (ЛТРА), ингаляционных кортикостероидов (ИГКС).

1.5.2.2. Антилейкотриеновые препараты

Подтверждение ключевой роли эйкозаноидов в патогенезе БФН и астмы способствовало росту числа исследований, посвященных изучению эффективности ингибиторов синтеза ЛТ и блокаторов ЛТ-рецепторов [2, 6, 11, 16, 17, 21, 36]. Назначение данных препаратов у спортсменов, занимающихся атлетическими видами спорта, является высокоэффективной профилактикой БФН [40, 130, 188, 219]. Одним из первых антагонистов ЛТ рецепторов (ЛТРА) с подтвержденными протективными свойствами в отношении БФН при астме как у детей, так и у взрослых стал зафирлукаст при его использовании за 8 часов до нагрузки [86, 190]. Применение зафирлукаста в дозе 20 и 80 мг пациентами с БА+БФН предотвращало развитие бронхообструкции в тесте с физической нагрузкой в течение 2 и 8 часов, соответственно, в сравнении с группой обследованных, получивших плацебо, но предварительно пролеченных ИГКС.

Сходные свойства были определены у пранлукаста [227], zileutона [169]. Однако, наиболее популярным и одобренным в большинстве стран препаратом группы ЛТРА стал монтелукаст.

Согласно результатам плацебо-контролируемого исследования Steinshamn S. et al. монтелукаст обладает способностью уменьшать степень бронхообструкции после физической нагрузки и увеличивать скорость преодоления дистанции у бегунов с БА+БФН [220]. В другом плацебо-контролируемом исследовании оценивалась эффективность монтелукаста при БФН у 110 пациентов с использованием тредмил-

теста для провокации БФН. Продолжительность приема монтелукаста/плацебо составила 12 недель [156]. Тест с нагрузкой проводился через 20-24 часа после приема последней дозы препарата на 4й, 8й, 12й неделях лечебного периода и через 2 недели после его окончания [156]. В группе монтелукаста установлены достоверно более высокие показатели $ОФВ_1$ в течение 60 минут после тестирования. По окончании лечебного периода в группах, получавших плацебо и монтелукаст $\Delta ОФВ_1$ составила -30% и -18%, соответственно (рис. 16.).

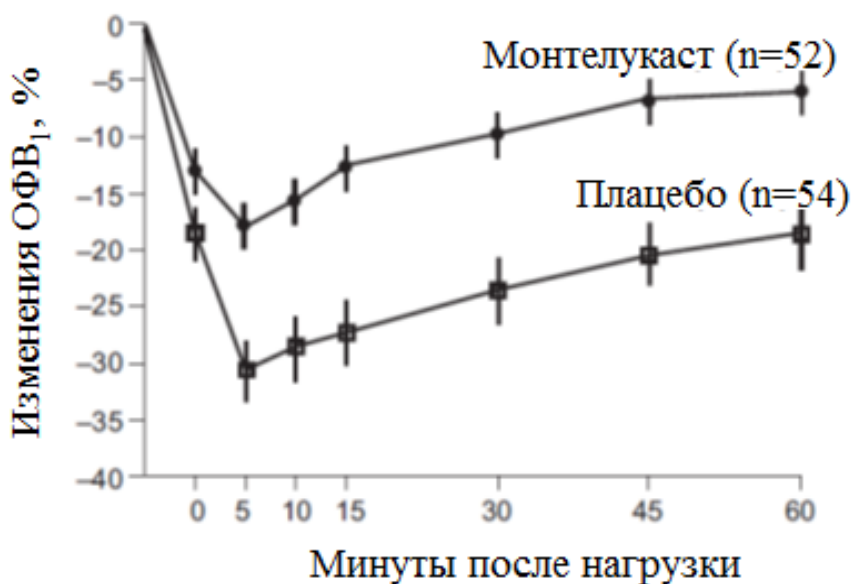


Рис. 16. Динамика $ОФВ_1$ после нагрузки через 12 недель применения монтелукаста/плацебо. В группе получавших монтелукаст отмечено достоверное уменьшение степени бронхообструкции ($p=0,002$) [156].

Пациенты, получавшие монтелукаст, демонстрировали более быстрое восстановление исходных значений $ОФВ_1$. Эффективность препарата на протяжении всех контрольных точек исследования была сопоставима, т.е. не было зафиксировано развития толерантности. Не было отмечено и синдрома отмены (рис. 17) [156].

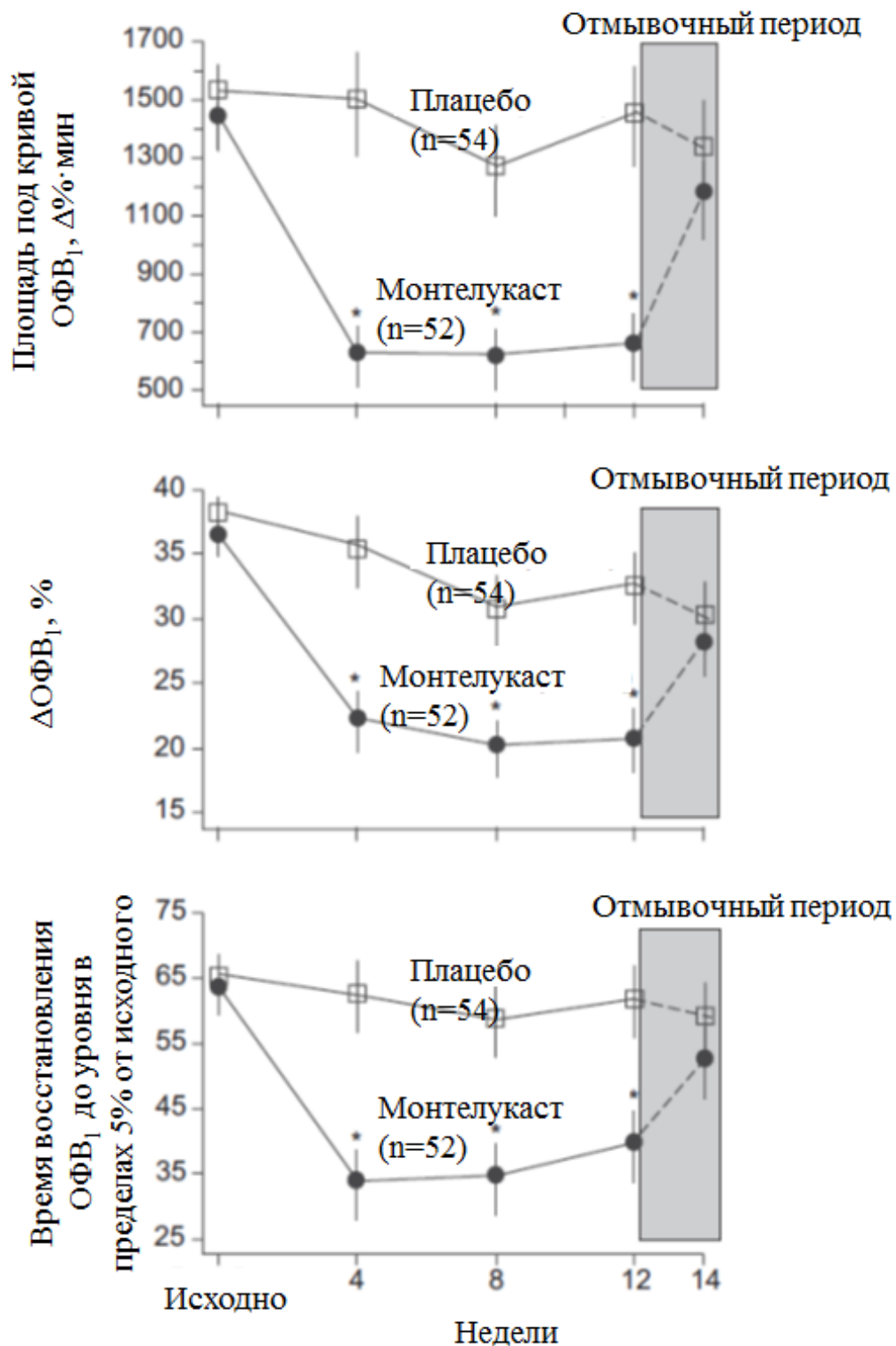


Рис.17. Эффективность лечения монтелукастом в сравнении с плацебо. На протяжении 2х-недельного отмывочного периода все пациенты получали плацебо ($M \pm Se$, * - $p < 0,05$ между группами сравнения) [156].

В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании эффективности монтелукаста у 11 физически активных лиц с БФН была исследована эффективность препарата, применяемого за 6 часов до теста с нагрузкой при температуре -3°C и теста эукапнической гипервентиляции. Установлено равноэффективное достоверное уменьшение $\Delta\text{ОФВ}_1$ в группе монтелукаста при выполнении обоих тестов (рис. 18) [208].

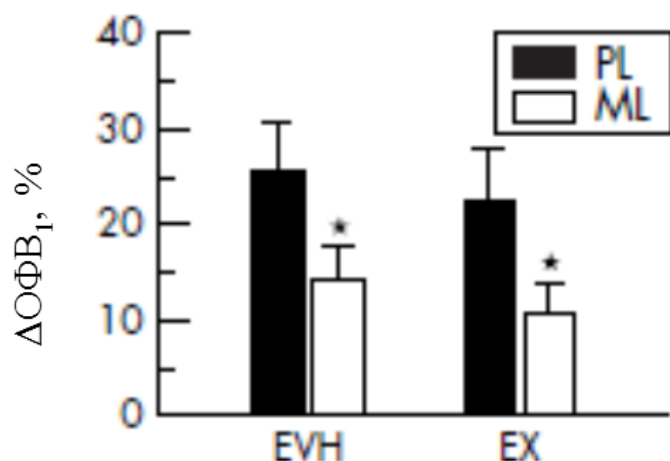
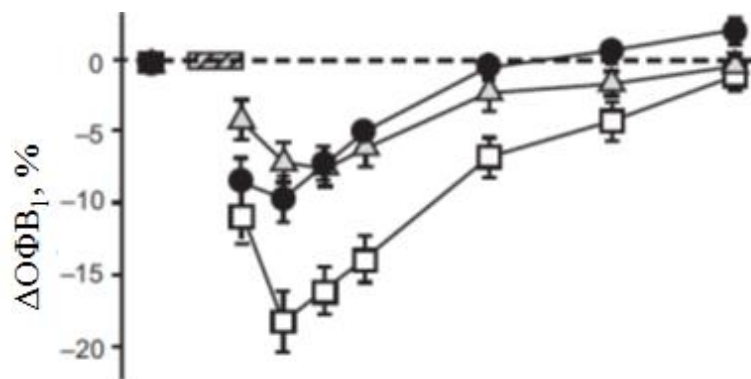


Рис. 18. Пик снижения ОФВ_1 в течение 15 минут после теста эукапнической гипервентиляции (EVH) и тредмил-теста (EX) в группе монтелукаста (ML) и плацебо (PL), * - $p < 0,05$ между группами сравнения [208].

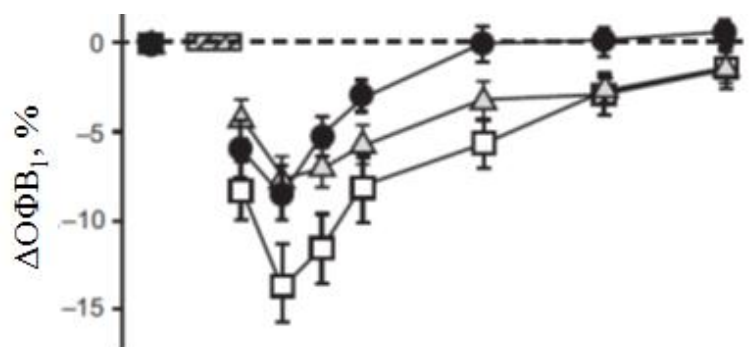
В спорте высоких достижений крайне важен вопрос продолжительности профилактического эффекта дозы препарата в отношении БФН. Известно, что протективный эффект β_2 -агонистов длительного действия может продолжаться до 10-12 часов и более. На вопрос об оптимальном выборе профилактического препарата попытались ответить Edelman J.M. и соавт. [89]. В тройном перекрестном плацебо-контролируемом исследовании приняли участие 47 пациентов с БФН, ОФВ_1 мониторировали через 2, 8,5 и 24 часа после принятия дозы монтелукаста, сальметерола или плацебо. Результаты исследования продемонстрировали эффективность монтелукаста и сальметерола через 2 и 8,5 часа после приема препарата (рис. 19а, б). Профилактические свойства сальметерола в отношении БФН

нивелировались через 24 часа от момента приема препарата, в то время как монтелукаст сохранял способность уменьшать степень постнагрузочной бронхообструкции (рис. 19в) [89].

а) через 2 часа после приема препарата



б) через 8,5 часов после приема препарата



в) через 24 часа после приема препарата

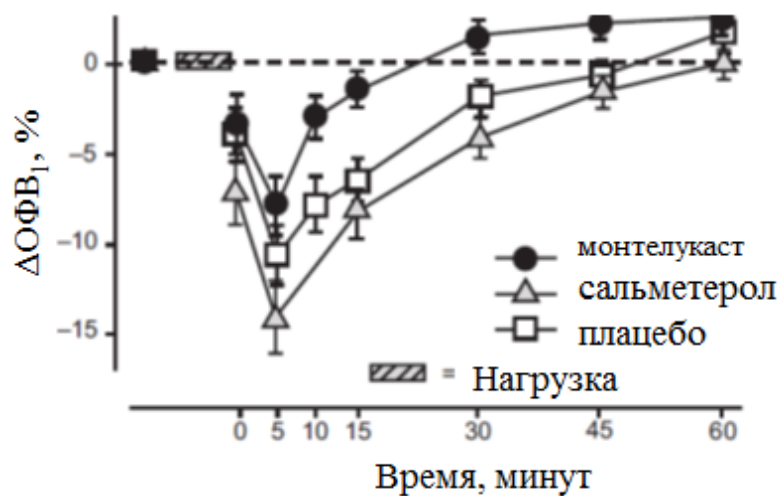


Рис. 19. Динамика ОФВ1 через 2; 8,5 и 24 часа после приема монтелукаста, сальметерола и плацебо [89].

Таким образом, препараты группы ЛТРА могут использоваться в качестве альтернативы премедикации β 2-агонистами у лиц с БФН. Отсутствие значимых противопоказаний для применения антилейкотриеновых препаратов, хорошая переносимость, а также разрешение Международного Олимпийского комитета на их неограниченное использование послужили дополнительными причинами популярности этих средств у спортсменов.

1.5.2.3. Ингаляционные кортикостероиды

Основополагающим терапевтическим подходом к лечению персистирующей БА (в том числе и БА+БФН) является назначение ИГКС [7, 8, 12, 14, 18, 102, 104, 242]. В период с 1993 по 2002 гг. их использование спортсменами требовало заполнения соответствующей медицинской декларации. В наши дни Международным Олимпийским комитетом разрешено свободное применение препаратов данной фармакологической группы [237]. Подтверждением эффективности ИГКС при астме физического усилия являются результаты исследования Jonasson G. и соавт., в котором 57 детям с БА+БФН, ранее не принимавшим ИГКС, был назначен будесонид в низких дозах [136]. Обследованные были рандомизированы в следующие фармакотерапевтические группы: 1) 100 мкг будесонида утром, 2) 200 мкг утром, 3) 100 мкг 2 раза в день, 4) плацебо. Продолжительность лечебного периода составила 12 недель. Исходное среднее снижение ОФВ₁ в тесте с физической нагрузкой было 22%. У пациентов, принимавших будесонид, показатель уменьшился до 7,2-7,8%, в группе плацебо он составил 16,7%. В лечебных группах принимавших будесонид в различных дозировках, результаты были сопоставимы [136]. Исследование Pederson S. и Hansen O.R. было посвящено изучению дозозависимого эффекта будесонида у детей со среднетяжелым течением астмы+БФН, ранее не получавших базисную терапию [191]. Помимо функции внешнего дыхания, оценивали дневные и ночные симптомы заболевания, утренние и вечерние показатели ПСВ. Исходная дозировка препарата

100 мкг/сутки увеличивалась каждые 4 недели лечебного периода до 200 и 400 мкг/сутки, соответственно. Выявлено дозозависимое увеличение исходного уровня $ОФВ_1$. С увеличением дозы будесонида усиливался его защитный эффект в отношении бронхоспазма физического усилия. При использовании будесонида в дозе 400 мкг/сутки падение $ОФВ_1$ в тесте с физической нагрузкой было минимальным. Клинические проявления заболевания были сопоставимы при всех изученных дозировках препарата [191].

В последние годы были выполнены проспективные плацебоконтролируемые исследования эффективности флутиказона пропионата (ФП) у пациентов с БА+БФН, ранее не получавших ИГКС. Прием ФП был ассоциирован с достоверно меньшим снижением $ОФВ_1$ в тесте с физической нагрузкой, данные изменения сохранялись на протяжении 24 недель лечебного периода. Использование ФП в качестве базисной терапии сопровождалось статистически значимым уменьшением БГР в тесте с метахолином к концу 6й недели терапии [127].

Таким образом, все приведенные выше исследования свидетельствуют о том, что назначение ИГКС пациентам с БА+БФН является эффективным. Данная группа препаратов снижает выраженность клинических проявлений заболевания, а также влияет на один из основополагающих патофизиологических механизмов астмы – БГР.

Исключение из вышеописанного правила составляют лыжники, в генезе БФН которых ключевую роль играет повторное повреждение эпителия респираторного тракта, повышение проницаемости МЦР с инициацией эксудативного воспаления (рис. 6). Так, двойное слепое плацебо-контролируемое исследование Sue-Chu M., Karjalainen E.M. и коллег было посвящено изучению эффективности будесонида в дозе 800 мкг/сутки в течение 22 недель у симптомных лыжников с положительным метахолиновым тестом [225]. Не обнаружено достоверных различий по выраженности воспалительной инфильтрации в бронхиальных биоптатах, по клеточному составу бронхоальвеолярного лаважа, частоте и тяжести симптомов.

Положительная динамика БГР к метахолину как в группе плацебо, так и в лечебной группе, по мнению авторов, была связана с уменьшением интенсивности тренировок на протяжении периода наблюдения. Таким образом, в популяции лыжников с БФН внимание врачей в первую очередь должно быть направлено на снижение воздействия неблагоприятных условий окружающей среды (ношение масок, изменение условий и интенсивности тренировок), нежели на фармакологическую коррекцию воспаления.

Резюмируя вышеизложенное, следует отметить, что проблема БФН крайне актуальна в спорте высоких достижений. Фактическая распространенность данного синдрома значительна, поскольку наряду с клинически-выраженными формами существуют и субклинические варианты течения БФН, диагностика которых возможна только при использовании провокационных тестов. Гиподиагностика БФН имеет неблагоприятные последствия не только для спортивной производительности и карьеры, но и для здоровья спортсмена. В современных знаниях о патогенезе БФН у спортсменов при отсутствии астмы по-прежнему остается много пробелов. Нет четкого понимания возможности применения терапевтических подходов, принятых для лечения БФН без астмы. Однако, на основании проведенного анализа исследований последних лет, несомненно, важную роль в патогенезе БФН как в сочетании с астмой, так и при ее отсутствии играет активация свободнорадикального окисления и эпителиальное повреждение. Физическая нагрузка ассоциирована с развитием оксидативного/ нитрозивного стресса, о чем свидетельствуют как увеличение уровня NO выд, так и концентрации стабильных метаболитов АФК/АФА в крови и моче, при этом тренировки в условиях низких температур оказывают дополнительное повреждающее действие на эпителий респираторного тракта. Эти данные необходимо учитывать при разработке тактики тренировочного процесса и профилактических мероприятий в спорте высоких достижений.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с задачами, поставленными в работе, спланировано и проведено трехэтапное исследование следующего дизайна: 1 и 2й этапы - одномоментное исследование методом поперечного среза, 3й этап – открытое нерандомизированное проспективное исследование в одной группе с контролем по исходным показателям с продолжительностью лечебного периода – 10 дней (рис. 20). Протокол исследования разработан в соответствии со стандартом «Надлежащая клиническая практика» и одобрен Этическим комитетом БУ ВО ХМГМА (заключение № 42 от 10.05.2012).

Исследование осуществлялось на базе следующих образовательных и спортивных учреждений г.Ханты-Мансийска:

- 1) БУ ВО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»;
- 2) ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России;
- 3) БУ ХМАО-Югры Центр спортивной подготовки сборных команд Югры;
- 4) АУ СПО ХМАО-Югры Югорский колледж-интернат олимпийского резерва;
- 5) Бюджетное учреждение дополнительного образования детей ХМАО-Югры Специализированная детско-юношеская спортивная школа олимпийского резерва (биатлон);
- 6) Бюджетное учреждение дополнительного образования детей ХМАО-Югры Специализированная детско-юношеская спортивная школа олимпийского резерва «Долина ручьев» (лыжные гонки).

Исследование осуществлялось в три этапа.

Обследованы подростки и молодые взрослые г.Ханты-Мансийска, занимающиеся зимними видами спорта.

Критерии включения:

- 1) возраст 12-26 лет;
- 2) стаж занятий спортом в течение 3х и более лет;

- 3) виды спорта: лыжные гонки, биатлон, хоккей, сноуборд;
- 4) подписанное информированное согласие;
- 5) отсутствие тяжелых сопутствующих соматических заболеваний в стадии декомпенсации.

Критерии исключения:

- 1) невозможность или нежелание спортсмена выполнять условия исследования;
- 2) заболевания, способные затруднить проведение любого этапа программы;
- 3) респираторные инфекции в течение 3 недель перед включением в программу;
- 4) применение системных кортикостероидов в течение 4 недель перед включением в программу.

Дизайн исследования спортсменов и здоровых добровольцев, не занимающихся профессиональным спортом, представлен на рисунке 20.

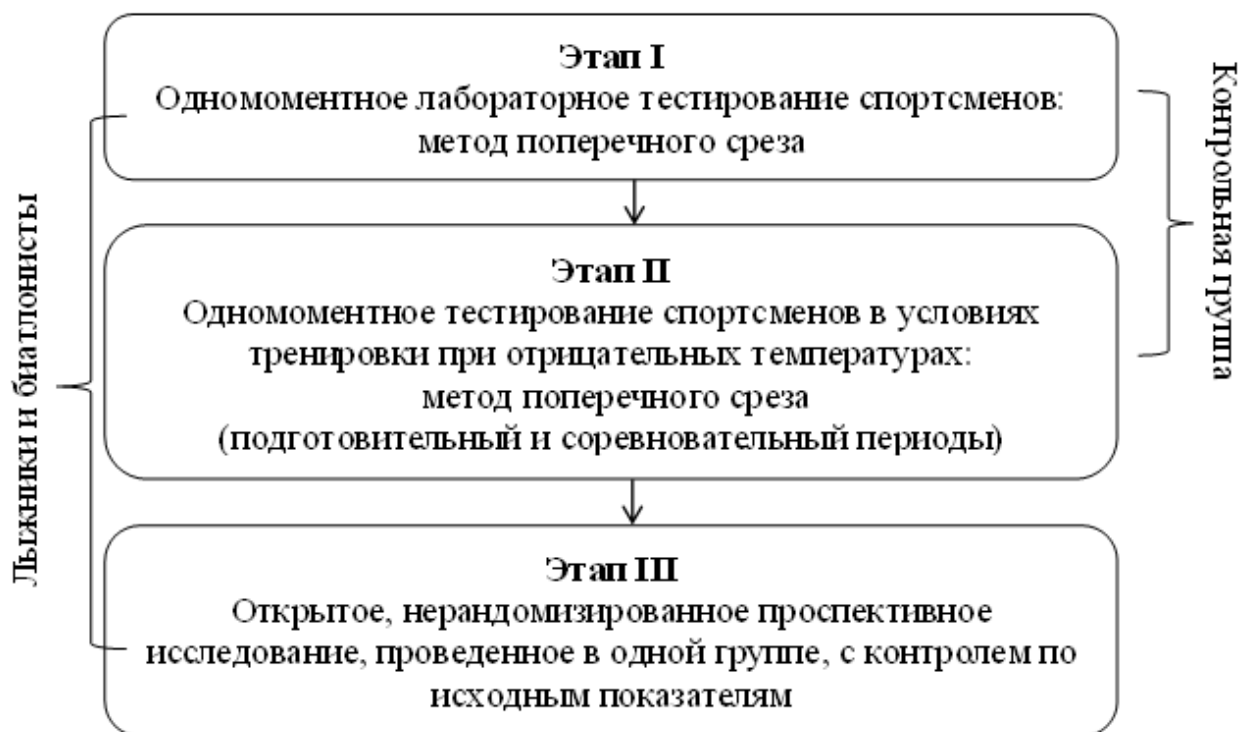


Рис. 20. Этапы исследования спортсменов и представителей группы контроля.

I этап: одномоментное лабораторное тестирование на базе ХМГМА

На первом этапе было обследовано 52 спортсмена, занимающегося зимними видами спорта (биатлонисты, лыжники), 34 здоровых добровольца группы контроля, не занимающихся спортом профессионально.

Объем обследования включал следующие методы:

Клинические:

- анкетирование пациентов с целью выявления симптомов бронхообструкции, уточнения анамнеза атопии, сопутствующей патологии, частоты ОРВИ, пассивного и активного курения, лекарственной непереносимости;
- физический осмотр на предмет выявления патологии органов дыхания, а также объективных изменений со стороны других органов и систем.

Функциональные:

- выполнение непрямого провокационного лабораторного теста с физической нагрузкой на тредмиле с исследованием функции внешнего дыхания (ФВД, MasterScreen Pneumo, Jaeger) исходно, на 1й, 5й, 10й и 15й минуте после нагрузки (Приложение 1)
- исследование эргоспирометрических показателей в условиях тредмил-теста (Oxicon mobile, Erich Jaeger) [43, 53, 222]. Основные параметры: максимальное потребление кислорода ($VO_2\max$); потребление кислорода на уровне анаэробного порога ($VO_2(АП)$); максимальный кислородный пульс ($O_2/ЧСС\max$); максимальная минутная вентиляция легких ($VE\max$) (Приложение 3). Данное обследование выполнялось только в группе спортсменов
- определение уровня NO в выдыхаемом воздухе, ppb (NO выд, анализатор CLD 88, Eco Medics совместно с устройством, освобождающим вдыхаемый воздух от оксида азота Depox 88)* исходно и после нагрузки. Тестирование проводилось согласно рекомендациям ATS/ERS, 2005 (Приложение 4) [39, 54]

* **Примечание:** метод определения NO в выдыхаемом воздухе, использующийся в настоящей работе, основан на принципе хемилюминесценции. Его отличительными особенностями являются воспроизводимость, быстрота получения достоверного результата, неинвазивность, высокий уровень чувствительности и специфичности, широчайший диапазон определяемых концентраций NO (0,1-5000 ppb*). Ключевой характеристикой прибора является возможность установления и поддержания экспираторной скорости воздушного потока на уровне 0,05 л/сек, позволяющий определять бронхиальную фракцию NO. Максимальная степень надежности результатов измерений также основана на применении модуля Denox 88, генерирующего свободный от NO воздух, вдыхаемый пациентом перед определением фракции NO, в соответствии с рекомендациями ATS/ERS.

II этап: одномоментное исследование в условиях тренировки на открытом воздухе (на базах спортивных объектов)

На втором этапе обследовано 78 подростков и молодых взрослых, занимающихся зимними видами спорта (биатлон, лыжные гонки); 30 здоровых добровольцев группы контроля, не занимающихся спортом профессионально.

Объем обследования включал следующие методы:

Клинические:

- анкетирование пациентов с целью уточнения симптомов бронхообструкции, уточнения анамнеза, сопутствующей патологии, частоты ОРВИ, пассивного и активного курения, лекарственной непереносимости;
- физический осмотр на предмет выявления патологии органов дыхания, а также объективных изменений со стороны других органов и систем.

Лабораторные:

- определение уровня ЛТЕ₄ методом ИФА с пересчетом на уровень креатинина (Приложение 5),

- определения суммарного уровня нитритов и нитратов (СКНН), 3-нитротирозина в образцах конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) исходно и после нагрузки (Приложение 6-8).

Функциональные:

- не прямой провокационный лабораторный тест с физической нагрузкой при низкой температуре (интенсивная тренировка/соревнование на открытом воздухе, $t < 0^{\circ}\text{C}$) с исследованием ФВД (Oxicon mobile, Erich Jaeger) исходно, на 1й, 5й, 10й и 15й минуте после нагрузки (Приложение 2).

- определение NO в выдыхаемом воздухе, ppb (NO выд, анализатор CLD 88, Eco Medics совместно с устройством, освобождающим вдыхаемый воздух от оксида азота Denox 88) исходно и после нагрузки. Тестирование проводилось согласно рекомендациям ATS/ERS, 2005 (Приложение 4).

Всем спортсменам с диагностированным БФН, независимо от наличия/отсутствия анамнеза атопии, выполнено кожное аллерготестирование (прик-тесты, Allergopharma, Германия).

III этап: проспективное исследование медикаментозного подхода к профилактике и контролю БФН у спортсменов

Терапия монтелукастом в дозе 10 мг в сутки на протяжении 10 дней, контрольные обследования исходно и по окончании лечебного периода. Объем обследования включал следующие методы:

- физический осмотр на предмет выявления патологии органов дыхания, а также объективных изменений со стороны других органов и систем.

Лабораторные:

- взятие образцов утренней мочи для определения уровня ЛТЕ₄ методом ИФА с пересчетом на уровень креатинина мочи (Приложение 5),

- взятие образцов конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) для определения суммарного уровня нитритов и нитратов (Приложения 5, 6).

Функциональные:

- выполнение непрямого провокационного лабораторного теста с физической нагрузкой при низкой температуре (интенсивная тренировка/соревнование на открытом воздухе, $t < 0^{\circ}\text{C}$) с исследованием ФВД (Oxicon mobile, Erich Jaeger) исходно, на 1й, 5й, 10й и 15й минуте после нагрузки (Приложение 2)
- определение уровня NO в выдыхаемом воздухе, ppb (NO выд, анализатор CLD 88, Eeo Medics совместно с устройством, освобождающим вдыхаемый воздух от оксида азота Depox 88) исходно и после нагрузки. Тестирование проводилось согласно рекомендациям ATS/ERS, 2005 (Приложение 4) [54].

Сопутствующая терапия во время лечебного периода:

Следующие препараты обследуемые спортсмены не использовали в течение лечебного периода:

- кортикостероиды, вводимые перорально, парентерально, ингаляционно;
- β_2 -агонисты;
- теофиллины;
- антагонисты лейкотриенов (кроме применяемого препарата);
- препараты, способные повлиять на функцию легких (β -блокаторы и т.д.), течение бронхиальной астмы и воспаление (азатиоприн, метотрексат и т.д.), дающие клинически - значимые взаимодействия с препаратами, применяемыми в программе (ингибиторы моноаминоксидазы, и т.д.), психоактивные препараты, влияющие на уровень самооценки.

Статистический анализ данных

Статистическая обработка результатов проведена с использованием непараметрических методов при помощи пакета программ «Statistica for Windows 10,0». Данные представлены в виде в виде средних арифметических значений с

ошибкой среднего, среднеквадратичных отклонений или 95% доверительных интервалов. Для оценки различия средних в попарно несвязанных выборках применяли U-критерий Манна-Уитни, в связанных выборках – критерий Вилкоксона. Степень взаимосвязи между признаками оценивали, вычисляя коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Разницу значений считали значимой при $p < 0,05$.

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Клиническая характеристика обследованных групп

Общий объем исследования спортсменов и здоровых добровольцев, не занимающихся профессиональным спортом, составил 286 наблюдений. Схема распределения обследованных лиц по группам сравнения представлена ниже (рис. 21).

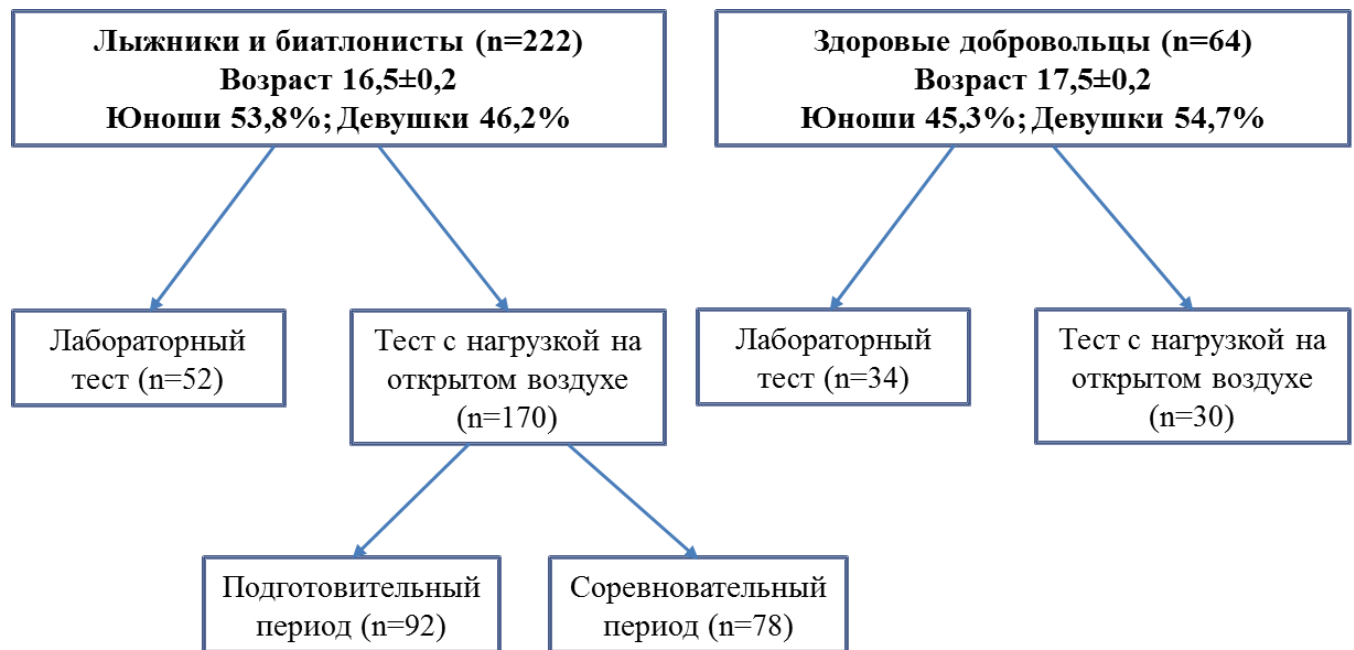


Рис. 21. Структура обследованных групп.

Стаж занятий спортом в группе лыжников и биатлонистов составил $6,5 \pm 0,2$ лет. Возраст и антропометрические показатели спортсменов и группы контроля были сопоставимы (табл. 3). До проведения процедур исследования осуществлялся сбор анамнеза с целью выявления жалоб со стороны респираторного тракта (в том числе при физической нагрузке), сопутствующей патологии, статуса курения, непереносимости лекарственных препаратов и др.

Возраст и антропометрические показатели сравниваемых групп

Показатель	Спортсмены (n=222) m±S _e	Группа контроля (n=64) m±S _e
Возраст, лет	16,5±0,2	17,5±0,2
Вес, кг	59,4±0,9	62,8±1,6
Рост, см	167,7±0,8	168,0±1,3
ИМТ, кг/м ²	20,6±0,1	22,1±0,4
Юноши, % / Девушки, %	55 / 45	45,3 / 54,7

Примечание: m – среднее значение; S_e – стандартная ошибка среднего.

Распространенность заболеваний и факторов, потенциально способных провоцировать респираторную симптоматику у респондентов [15, 33, 102], представлена в таблице 4.

Таблица 4

Клиническая характеристика исследуемых групп

Признак	Спортсмены (n=222) n (%)	Группа контроля (n=64) n (%)
Бронхиальная астма в анамнезе	8 (3,6%)	0
Аллергический ринит	8 (3,6%)	0
Вазомоторный ринит	5 (2,3%)	0
Атопический дерматит	19 (8,6%)	4 (6,3%)
Пассивное курение	39 (17,6%)*	2 (3,1%)
Активное курение	1 (0,5%)*	10 (15,6%)
Семейный анамнез атопии	33 (14,9%)*	2 (3,1%)
Непереносимость НПВС ¹	0	0
ГЭРБ ²	6 (2,7%)	2 (3,1%)
Синусит	4 (1,8%)	0

Примечание: *- p<0,05 по сравнению с группой контроля (χ^2 с поправкой Йетса);

- 1 - нестероидные противовоспалительные средства;
- 2 - гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь.

Распространенность респираторной симптоматики у спортсменов во время рутинных тренировок на открытом воздухе составила 37%: у 24% респондентов зарегистрированы эпизоды непродуктивного кашля во время и после преодоления дистанций на открытом воздухе при температуре ниже нулевой отметки, у 13% - ощущения недостаточно глубокого вдоха в сочетании с общим утомлением, у 1% - затрудненный выдох, возникшие в те же временные рамки. Группа спортсменов с зарегистрированным БФН характеризовалась следующей распространенностью респираторных симптомов: непродуктивный кашель – 27%, ощущение недостаточно глубокого вдоха – 18%, затрудненный выдох – 9%. Отягощенный атопический анамнез отмечен у 1 лыжника и 2х биатлонисток с выявленным БФН, однако положительные результаты кожного аллерготестирования (прик-тесты, Allergopharma, Германия) с целью выявления бытовой, эпидермальной, пыльцевой, грибковой сенсibilизации определили аллергию на пыльцу сорных трав только у одной спортсменки из группы обследованных с диагностированной БФН.

Показатели функции внешнего дыхания

Показатели функции внешнего дыхания (ФВД) у спортсменов и в группе контроля были сопоставимы. В таблице 5 представлена сравнительная характеристика исходных параметров (ФВД) у спортсменов.

Характеристика основных показателей функции внешнего дыхания у спортсменов

Показатель	Общее значение (n=222) $m \pm \sigma^*$	Спортсмены (n=122) $m \pm \sigma$	Спортсменки (n=100) $m \pm \sigma$	p
ОФВ ₁ , л	4,1 ± 0,9	4,5 ± 1,0	3,7 ± 0,6	<0,01
ОФВ ₁ , %	121,2 ± 14,5	120,5 ± 14,5	122,1 ± 14,5	0,51
ФЖЕЛ, л	5,0 ± 1,2	5,4 ± 1,3	4,4 ± 0,8	<0,01
ФЖЕЛ, %	122,3 ± 16,2	121,3 ± 16,2	123,5 ± 16,2	0,27
ПСВ, л	7,8 ± 1,9	8,5 ± 2,1	7,1 ± 1,3	<0,01
ПСВ, %	107,3 ± 19,5	108,7 ± 21,7	105,6 ± 16,1	0,59
МОС ₂₅₋₇₅ , л	4,0 ± 1,2	4,2 ± 1,3	3,5 ± 1,0	<0,01
МОС ₂₅₋₇₅ , %	96,3 ± 25,2	98,0 ± 25,2	94,1 ± 25,2	0,30
МОС ₂₅ , л	6,8 ± 1,7	7,4 ± 2,0	6,1 ± 1,1	<0,01
МОС ₂₅ , %	108,2 ± 21,5	110,2 ± 24,1	105,6 ± 17,5	0,27
МОС ₅₀ , л	4,6 ± 1,3	4,9 ± 1,4	4,1 ± 1,1	<0,01
МОС ₅₀ , %	103,1 ± 25,4	106,0 ± 26,1	99,6 ± 24,1	0,06
МОС ₇₅ , л	1,9 ± 0,8	2,0 ± 0,8	1,8 ± 0,8	0,06
МОС ₇₅ , %	84,7 ± 35,3	84,6 ± 33,9	85,0 ± 37,1	0,97

Примечание: * - m – среднее значение; σ - среднеквадратичное отклонение.

Достоверные различия были отмечены при анализе абсолютных спирометрических показателей (ОФВ₁, ФЖЕЛ, ПСВ, СОС, p<0,01), что объясняется большими антропометрическими параметрами спортсменов (табл. 6).

Характеристика основных показателей функции внешнего дыхания в группе контроля

Показатель	Общее значение (n=64) $m \pm \sigma^*$	Спортсмены (n=29) $m \pm \sigma$	Спортсменки (n=35) $m \pm \sigma$	p
ОФВ ₁ , л	4,2 ± 0,8	4,9 ± 0,5	3,6 ± 0,6	<0,01
ОФВ ₁ , %	123,4 ± 16,2	122,4 ± 16,9	124,1 ± 15,9	0,63
ФЖЕЛ, л	5,0 ± 1,2	5,9 ± 0,9	4,2 ± 0,6	<0,01
ФЖЕЛ, %	122,9 ± 15,5	123,8 ± 16,5	122,3 ± 14,9	0,85
ПСВ, л	8,1 ± 1,9	9,4 ± 1,4	7,0 ± 1,5	<0,01
ПСВ, %	108,2 ± 21,6	109,1 ± 24,5	107,5 ± 19,2	0,73
МОС ₂₅₋₇₅ , л	4,1 ± 1,1	4,7 ± 0,9	3,7 ± 1,0	<0,01
МОС ₂₅₋₇₅ , %	101,0 ± 26,5	101,9 ± 25,6	100,3 ± 27,5	0,52
МОС ₂₅ , л	7,3 ± 1,7	8,3 ± 1,5	6,5 ± 1,4	<0,01
МОС ₂₅ , %	113,1 ± 26,0	113,3 ± 30,1	112,9 ± 22,4	0,75
МОС ₅₀ , л	4,8 ± 1,3	5,3 ± 1,3	4,3 ± 1,1	<0,01
МОС ₅₀ , %	106,9 ± 29,3	106,7 ± 32,5	106,9 ± 26,8	0,93
МОС ₇₅ , л	2,0 ± 0,7	2,4 ± 0,7	1,8 ± 0,7	<0,01
МОС ₇₅ , %	90,6 ± 30,7	96,5 ± 31,2	85,9 ± 29,8	0,13

Примечание: * - m – среднее значение; σ - среднеквадратичное отклонение.

Как и в группе спортсменов, у юношей отмечены достоверно большие абсолютные параметры ФВД. Значимых отличий между спортсменами и группой контроля не зарегистрировано.

3.2. Распространенность бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, и особенности функции внешнего дыхания в исследуемых группах

Среди диагностических методов, позволяющих получить объективное подтверждение БФН, лидирующие позиции занимают непрямые тесты (эукапническая гипервентиляция и тест с физической нагрузкой) [46-49]. Они обладают большей чувствительностью в сравнении с прямыми методиками и приводят к дегрануляции тучных клеток вследствие дегидратации и повышения осмолярности жидкости, выстилающей дыхательные пути [46, 242]. Вследствие этого, для выявления БФН был выбран тест с физической нагрузкой, проводившийся при комнатной температуре в условиях лаборатории и на открытом воздухе при температуре ниже нулевой отметки.

При использовании лабораторного тредмил-тестирования у 21% спортсменов зарегистрировано снижение $ОФВ_1$ на 10% и более после нагрузки, что является признаком БФН [15, 188]. Исходные абсолютные показатели $ОФВ_1$ и ФЖЕЛ в данной группе были достоверно больше таковых при отсутствии объективных признаков бронхообструкции (табл. 7).

Таблица 7

Показатели ФВД у спортсменов в зависимости от наличия бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой (тестирование в лабораторных условиях)

Показатель	Наличие БФН (n=11) m (95% ДИ)*	Отсутствие БФН (n=41) m (95% ДИ)	p
Исходно			
$ОФВ_1$, л	5,2 (4,7-5,7)	4,2 (3,9-4,4)	<0,01
ФЖЕЛ, л	6,5 (5,5-7,6)	5,1 (4,8-5,5)	<0,01
$МОС_{25-75}$, л	5,0 (4,2-5,8)	4,1 (3,7-4,4)	0,03

Показатель	Наличие БФН (n=11) m (95% ДИ)*	Отсутствие БФН (n=41) m (95% ДИ)	p
1 ^{ая} минута после нагрузки			
ФЖЕЛ, л	5,9 (4,9-7,0)	4,9 (4,6-5,2)	0,03
Δ ОФВ ₁ , %	-16,0 (-21,9-10,1)	2,4 (0,2-5)	<0,01
Δ МОС ₂₅₋₇₅ , %	-10,0 (-23,6-3,5)	22,3 (12,1-32,4)	<0,01
5 ^{ая} минута после нагрузки			
Δ ОФВ ₁ , %	-10,3 (-16,6-4,0)	3,0 (0,6-6,6)	<0,01
Δ МОС ₂₅₋₇₅ , %	-4,5 (-15,1-6,0)	19,1 (8,8-29,4)	<0,01

Примечание: m – среднее значение; * - 95% доверительный интервал.

В условиях тренировочного процесса при низкой температуре ниже нулевой отметки значимое снижение ОФВ₁ определено только в 6,4 % случаев. Причем, частота выявления БФН не отличалась в различные периоды годового цикла тренировки спортсменов и составила 6,4% в соревновательном и 6,5% в подготовительном периодах макроцикла. При тестировании на открытом воздухе спортсмены с диагностированным БФН демонстрировали достоверно более низкие объемно-скоростные показатели выдоха как исходно, так и после нагрузки. Выявленные статистически значимые различия прослеживались на обоих этапах исследования (табл.8, 9).

Показатели ФВД у спортсменов в зависимости от наличия бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, тестирование на открытом воздухе, подготовительный период

Показатель	Наличие БФН (n=6) m (95% ДИ)*	Отсутствие БФН (n=86) m (95% ДИ)	p
Исходно			
ОФВ ₁ , л	3,4 (2,6-4,2)	4,2 (4,0-4,4)	0,03
ФЖЕЛ, %	136,1 (127,0-145,2)	124,5 (121,8-127,2)	0,02
МОС ₂₅₋₇₅ , л	2,8 (1,7-3,8)	5,0 (2,5-7,4)	0,03
1 ^{ая} минута после нагрузки			
ОФВ ₁ , л	3,2 (2,4-4,0)	4,2 (4,0-4,4)	0,02
МОС ₂₅₋₇₅ , л	2,7 (1,5; 4,0)	3,8 (3,6; 4,1)	0,04
ΔОФВ ₁ , %	-6,4 (-10,3; -2,5)	-1,6 (-2,3; -0,9)	<0,01
ΔМОС ₂₅₋₇₅ , %	-9,8 (-18,5-1,2)	1,6 (-2,5-5,6)	0,01
5 ^{ая} минута после нагрузки			
ОФВ ₁ , л	3,1 (2,3-3,9)	4,1 (3,9-4,3)	<0,01
МОС ₂₅₋₇₅ , л	2,3 (1,5-3,2)	3,8 (3,6-4,1)	<0,01
МОС ₂₅₋₇₅ , %	69,3 (49,7-88,9)	95,0 (89,8-100,1)	<0,01
ΔОФВ ₁ , л	-9,0 (-13,4; -4,6)	-2,4 (-1,1; -1,1)	<0,01
ΔМОС ₂₅₋₇₅ , %	-16,2 (-31,7-0,6)	2,0 (-2,2-6,3)	<0,01

Примечание: m – среднее значение; * - 95% доверительный интервал.

Таблица 9

Показатели ФВД у спортсменов в зависимости от наличия бронхоспазма,
вызванного физической нагрузкой
(тестирование на открытом воздухе, соревновательный период)

Показатель	Наличие БФН (n=5) m (95% ДИ)*	Отсутствие БФН (n=73) m (95% ДИ)	p
1ая минута после нагрузки			
ПСВ, %	84,2 (66,5; 107,4)	108,8 (69,9; 164,0)	0,03
Δ МОС ₂₅₋₇₅ , %	-25,8 (-37,1; -15,0)	-0,1 (-43,2; 70,2)	0,01
Δ ОФВ ₁ , %	-12,6 (-19,0; -6,2)	-0,1 (-1,3; -1,2)	<0,01
5ая минута после нагрузки			
ПСВ, %	86,7 (76,5; 99,4)	108,4 (73,6; 150,4)	0,03
Δ МОС ₂₅₋₇₅ , %	-27,9 (-31,5; -21,5)	1,3 (-45,8; 31,3)	<0,01
Δ ОФВ ₁ , %	-11,8 (-24,7; -1,1)	-0,9 (-1,9; -0,1)	<0,01

Примечание: m – среднее значение; * - 95% доверительный интервал.

Распространенность БФН среди здоровых добровольцев группы контроля, не занимающихся профессиональным спортом, была сопоставима с показателями спортсменов и составила 7,8%. Обследуемые этой группы с выявленным БФН характеризовались более высокими исходными значениями ФЖЕЛ (табл. 10).

Показатели ФВД в группе контроля в зависимости от наличия бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

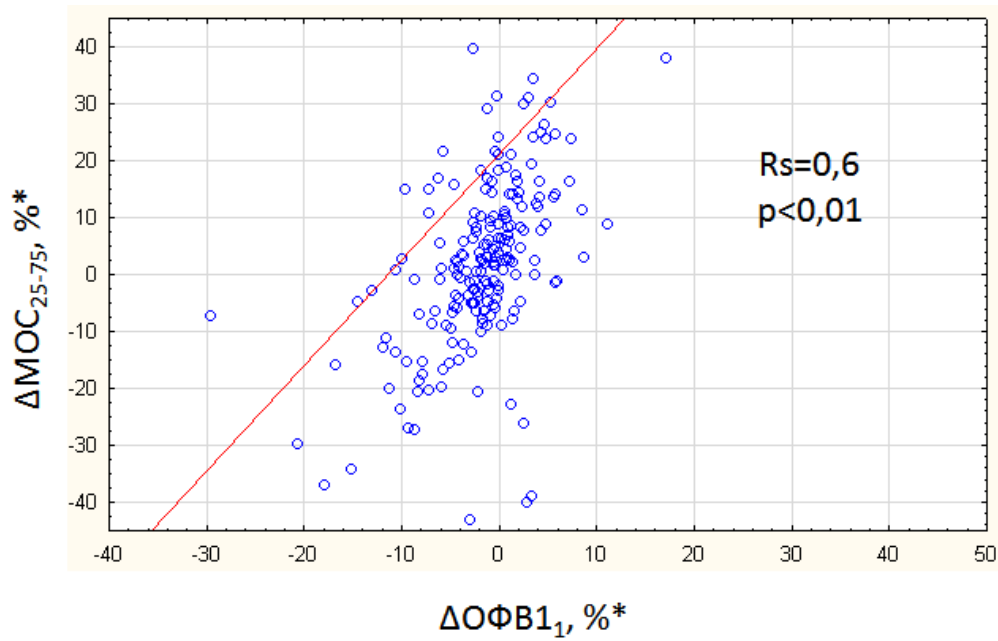
Показатель	Наличие БФН (n=5) m (95% ДИ)*	Отсутствие БФН (n=59) m (95% ДИ)	p
Исходно			
ФЖЕЛ, л	6,1 (4,9-7,3)	4,9 (4,6-5,2)	0,03
1 ^{ая} минута после нагрузки			
ОФВ ₁ , %	106,6 (94,2-119,0)	123,7 (119,3-128,0)	0,02
ΔОФВ ₁ , %	-10,4 (-17,2-3,6)	0,0 (-0,9-0,9)	<0,01
ΔМОС ₂₅₋₇₅ , %	-9,8 (-18,5-1,2)	1,6 (-2,5-5,6)	0,04
5 ^{ая} минута после нагрузки			
ОФВ ₁ , %	98,9 (84,2-113,7)	125,0 (118,7-131,2)	<0,01

Примечание: m – среднее значение; * - 95% доверительный интервал.

Обращает внимание достоверно больший исходный объем ФЖЕЛ у обследуемых спортсменов и представителей контрольной группы с выявленным БФН.

Также следует отметить выраженную положительную корреляционную взаимосвязь между основными показателями, отражающими динамику проходимости бронхов в провокационном тесте с нагрузкой (рис. 22)

А)



Б)

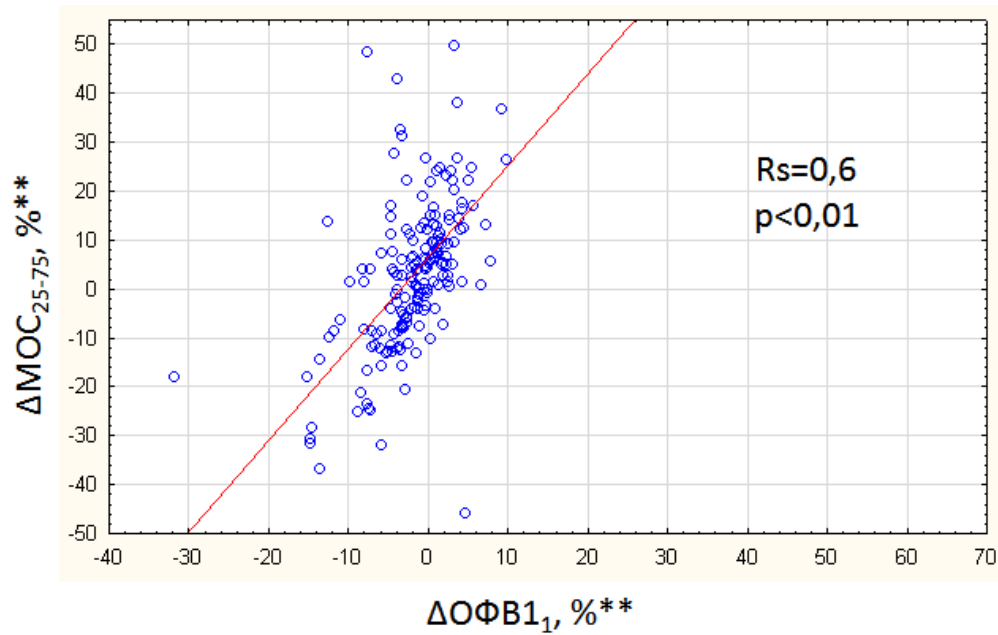


Рис. 22. Корреляционные взаимосвязи между спирометрическими показателями бронхообструкции у спортсменов.

А – взаимосвязь между показателями через 1 минуту после нагрузки;

Б – взаимосвязь между показателями через 5 минут после нагрузки.

Примечание: * - разница между показателем через 1 минуту после нагрузки и исходным значением (%); ** - разница между показателем через 5 минут после нагрузки и исходным значением (%); Rs – коэффициент корреляции Спирмена.

3.3. Характеристика уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе у спортсменов, его взаимосвязь с параметрами функции внешнего дыхания

Большинство спортсменов и здоровых добровольцев группы контроля, не занимающихся спортом профессионально, продемонстрировали ожидаемое уменьшение NO выд в выдыхаемом воздухе, связанное с «вымыванием» NO из респираторного тракта вследствие гипервентиляции [54]. Распределение обследованных лиц в зависимости от динамики данного показателя было одинаковым во всех сравниваемых группах и не зависело от условий тестирования (табл. 11).

Таблица 11

Частота снижения и повышения показателя NO выд в выдыхаемом воздухе в группах сравнения

Группа	Уменьшение NO выд	Увеличение NO выд
Спортсмены, лабораторный тест (n=52)	80,8%	19,2%
Спортсмены, тест на открытом воздухе (n=170)	75,9%	24,1%
Группа контроля, лабораторный тест (n=34)	79,4%	20,6%
Группа контроля, тест на открытом воздухе (n=30)	86,7%	13,3%

Обобщенная сравнительная характеристика показателя NO выд в тесте с физической нагрузкой у спортсменов и в группе контроля представлена на рисунке 23. В группе спортсменов NO выд после нагрузки был значимо выше, чем у добровольцев группы контроля.

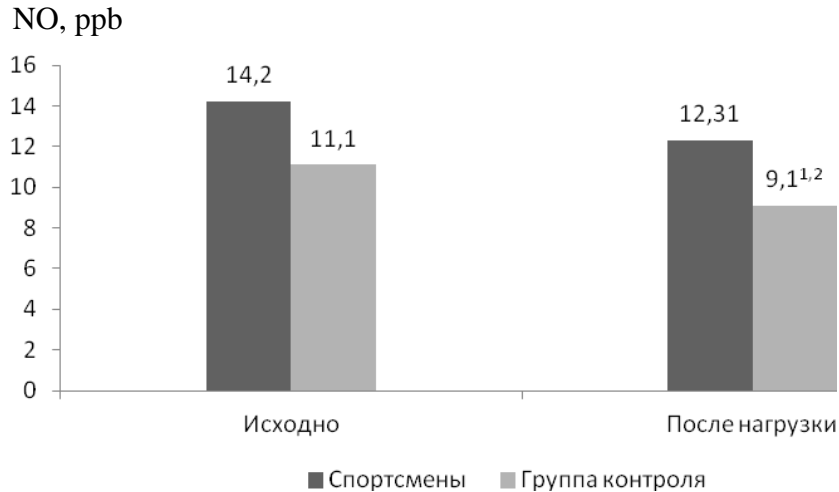


Рис. 23. Динамика NO выд у спортсменов и в группе контроля.

Примечание:

1 – $p < 0,01$ по сравнению с исходным показателем;

2 - $p = 0,02$ по сравнению с показателем в группе спортсменов.

Рисунок 24 демонстрирует динамику NO выд в исследуемых группах при лабораторном тестировании и при нагрузке в условиях низких температур.

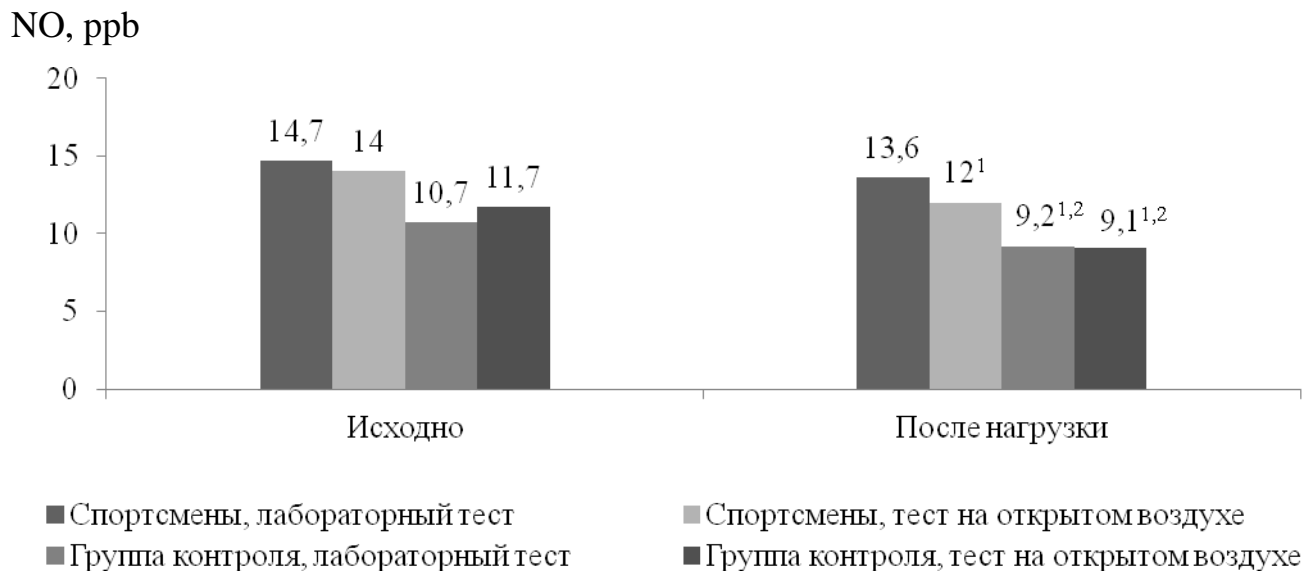


Рис. 24. Сравнительная характеристика NO выд у спортсменов и в группе контроля при различных вариантах тестирования.

Примечание:

1 – $p < 0,01$ по сравнению с исходным показателем;

2 - $p = 0,02$ по сравнению с показателем в группе спортсменов.

Следует отметить, что группа контроля характеризовалась более низкими показателями NO выд после теста с нагрузкой при лабораторном тестировании и в тесте с нагрузкой на открытом воздухе.

В группе обследованных в лабораторных условиях спортсменов мужчин исходный уровень NO выд был достоверно выше по сравнению с показателем спортсменок (рис. 25). Подобные различия зафиксированы и в группе контроля при выполнении теста с нагрузкой на открытом воздухе.

NO, ppb



Рис 25. Распределение исходного уровня NO выд в зависимости от пола.

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с показателем в группе спортсменок.

Интенсивность продукции NO в дыхательных путях спортсменов обоего пола при тестировании в условиях тренировочного процесса при низких температурах была сопоставима.

Спортсмены отличались от группы здоровых добровольцев по динамике NO выд на фоне нагрузки. Так, повышение уровня NO выд после нагрузки было более

выраженным, нежели интенсивность его снижения при отрицательной постнагрузочной динамике показателя (рис. 26).

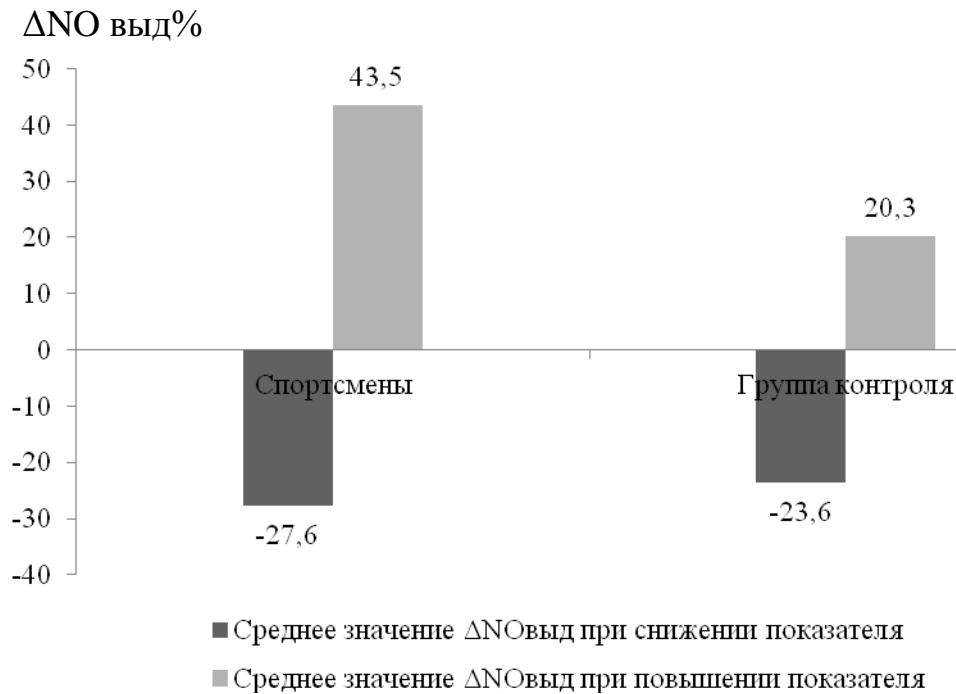


Рис. 26. Выраженность изменений NO выд в выдыхаемом воздухе у спортсменов и в группе контроля.

Подобные тенденции в группе лыжников и биатлонистов определялись вне зависимости от условий проведения провокационного теста (рис.27).

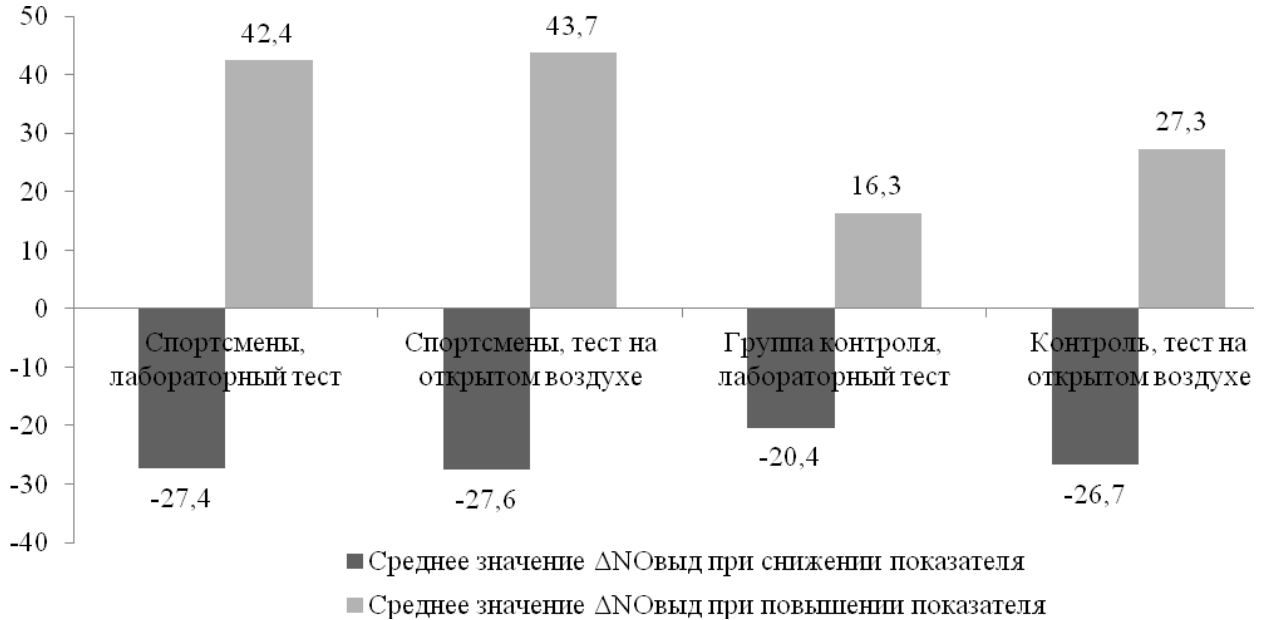
Δ NO выд %

Рис. 27. Выраженность изменений NO выд (Δ NO выд, %) в группах сравнения.

Далее было выполнено сравнение спирометрических показателей исследуемых групп со снижением и неизменной/повышенной NO выд до и после интенсивной тренировки при низкой температуре. Выявлены достоверные различия по показателям мгновенных объемных скоростей, как в подготовительном, так и в соревновательном периодах макроцикла (табл. 12, 13).

Показатели ФВД у спортсменов в зависимости от динамики уровня NO выд до и после тренировки на открытом воздухе в подготовительном периоде

Показатель	Снижение NO выд (n=71) m (95% ДИ)*	Повышение или отсутствие изменений NO выд (n=21) m (95% ДИ)	p
Исходно			
ОФВ ₁ , л	4,0 (3,8-4,3)	4,5 (4,1-4,9)	0,04
МОС ₂₅₋₇₅ , л	3,6 (3,3-3,9)	9,1 (1,1-19,2)	0,02
МОС ₂₅ , л	6,7 (6,3-7,1)	12,6 (2,1-23,0)	0,02
МОС ₅₀ , л	4,3 (4,0-4,6)	11,0 (1,2-23,1)	<0,01
МОС ₇₅ , л	1,6 (1,4-1,7)	2,0 (1,6-2,5)	0,04
1 ^{ая} минута после нагрузки			
ОФВ ₁ , л	4,0 (3,7-4,2)	4,4 (4,0-4,8)	0,04
МОС ₂₅₋₇₅ , л	3,6 (3,3-3,9)	4,2 (3,7-4,7)	0,02
МОС ₂₅ , л	6,7 (6,3-7,1)	7,6 (6,8-8,3)	0,04
МОС ₅₀ , %	4,3 (4,0-4,6)	4,9 (4,4-5,4)	0,03

Примечание: m – среднее значение; * - 95% доверительный интервал.

Показатели ФВД у спортсменов в зависимости от динамики уровня NO выд до и после тренировки на открытом воздухе в соревновательном периоде

Показатель	Снижение NO выд (n=58) m (95% ДИ)*	Повышение или отсутствие изменений NO выд (n=20) m (95% ДИ)	p
Исходно			
МОС ₂₅₋₇₅ , л	4,2 (3,8-4,5)	3,2 (2,8-3,7)	<0,01
МОС ₂₅₋₇₅ , %	103,1 (95,7-110,4)	88,4 (78,5-98,3)	0,03
МОС ₅₀ , л	4,7 (4,3-5,0)	3,9 (3,5-4,3)	0,01
МОС ₇₅ , л	2,1 (1,9-2,3)	1,6 (1,3-1,9)	0,01
1 ^{ая} минута после нагрузки			
МОС ₅₀ , л	4,6 (4,2-5,0)	3,9 (3,4-4,3)	0,02
МОС ₇₅ , л	2,1 (1,9-2,4)	1,6 (1,4-1,9)	0,01
МОС ₇₅ , %	97,7 (86,8-108,5)	77,6 (67,7-87,5)	0,03
5 ^{ая} минута после нагрузки			
МОС ₂₅₋₇₅ , л	4,0 (3,7-4,4)	3,3 (2,9-3,8)	0,02
МОС ₅₀ , л	4,6 (4,2-5,1)	3,9 (3,4-4,4)	0,04
МОС ₇₅ , л	2,1 (1,9-2,4)	1,7 (1,4-1,9)	0,03

Примечание: m – среднее значение; * - 95% доверительный интервал.

Повышение или отсутствие изменения NO выд в группе контроля было ассоциировано с более низкими исходными значениями ОФВ₁, ФЖЕЛ, МОС₅₀ (табл. 14).

Показатели ФВД группы контроля в зависимости от динамики уровня NO выд при выполнении теста с нагрузкой

Показатель	Снижение NO выд (n=53) m (95% ДИ)*	Повышение или отсутствие изменений NO выд (n=11) m (95% ДИ)	p
ОФВ ₁ , %	126,1 (121,7-130,4)	113,7 (105,1-122,3)	<0,01
ФЖЕЛ, %	124,9 (120,6-129,2)	114,8 (105,5-124,0)	0,03
МОС ₅₀ , %	111,6 (103,7-119,5)	89,2 (72,8-105,5)	0,01

Примечание: m – среднее значение; * - 95% доверительный интервал.

Выявлены корреляционные взаимосвязи NO выд с основными показателями функции внешнего дыхания при лабораторном исследовании спортсменов (табл. 15).

Таблица 15

Взаимосвязь показателей функции внешнего дыхания с уровнем NO выд в выдыхаемом воздухе у спортсменов при лабораторном тестировании

Показатель 1	Показатель 2	R _s	p
NO выд (ppb)*	ОФВ ₁ , л *	0,41	< 0,01
NO выд (ppb) **	ΔОФВ ₁ , % **	0,38	0,04
	ΔОФВ ₁ , % ***	0,58	0,001
	ПСВ% ***	-0,56	0,002

Примечание: * - исходные показатели, ** - 1я минута после нагрузки, *** - 5я минута после нагрузки; R_s – коэффициент корреляции Спирмена.

Так, большие постнагрузочные показатели NO выд были ассоциированы с более низкими значениями ПСВ после нагрузки.

При исследовании вышеуказанных взаимосвязей у спортсменов установлена положительная корреляция NO выд после нагрузки с основными исходными и

постнагрузочными параметрами функции внешнего дыхания (ОФВ₁, ФЖЕЛ, МОС) (табл.16, 17).

Таблица 16

Взаимосвязь показателей функции внешнего дыхания с уровнем NO выд у спортсменов при тренировке на открытом воздухе в подготовительном периоде

Показатель 1	Показатель 2	R _s	p
NO выд (ppb)**	ОФВ ₁ , л*	0,33	<0,01
	ФЖЕЛ, л*	0,32	<0,01
	МОС ₂₅₋₇₅ , л *	0,37	<0,01
	ОФВ ₁ , л**	0,31	<0,01
	ФЖЕЛ, л**	0,26	0,02
	МОС ₂₅₋₇₅ , л **	0,24	0,03

Примечание: * - исходные показатели, ** - 1я минута после нагрузки; R_s – коэффициент корреляции Спирмена.

Таблица 17

Взаимосвязь показателей функции внешнего дыхания с уровнем NO выд у спортсменов при тренировке на открытом воздухе в соревновательном периоде

Показатель 1	Показатель 2	R _s	p
NO выд (ppb)**	ОФВ ₁ , %*	0,30	<0,01
	ФЖЕЛ, %*	0,33	<0,01
	ФЖЕЛ, %**	0,28	0,02
Δ NO выд (%)	ФЖЕЛ, % *	0,31	0,01
	МОС ₅₀ , л **	-0,27	0,04
	МОС ₇₅ , л **	-0,25	0,04
	МОС ₂₅₋₇₅ , л ***	-0,30	0,03

Примечание: * - показатель до тренировки; ** - 1я минута после нагрузки; *** - 5я минута после нагрузки; R_s – коэффициент корреляции Спирмена.

3.4. Особенности метаболизма оксида азота в дыхательных путях лыжников и биатлонистов

Определение метаболитов NO в конденсате выдыхаемого воздуха в группах сравнения выполнялось до и после теста с нагрузкой. Суммарная концентрация нитритов и нитратов, содержание 3-нитротирозина значительно отличались у спортсменов и лиц, не занимающихся профессиональным спортом (табл. 18). Эти показатели были достоверно выше в группе лыжников и биатлонистов.

Таблица 18

Показатели метаболизма оксида азота у спортсменов и в группе контроля

Показатель	Спортсмены, (n=170) $m \pm S_e$	Группа контроля, (n=64) $m \pm S_e$	p
До физической нагрузки			
NO выд, ppb	14,0±0,8	11,1±0,7	0,07
V _{NO} , нл/мин	40,6±2,4	40,0±2,1	0,03
СКНН*, мкмоль/л	10,2±0,7	7,1±0,7	<0,01
NO ₂ -, мкмоль/л	3,8±0,2	2,0±0,1	<0,01
NO ₃ -, мкмоль/л	6,3±0,6	4,8±0,7	<0,01
3-нитротирозин, нг/мл	9,3±0,9	3,7±0,2	<0,01
После физической нагрузки			
NO выд, ppb	12,0±0,7	9,1±0,6	0,02
V _{NO} , нл/мин	34,4±2,2	27,9±2,0	0,09
СКНН*, мкмоль/л	9,2±0,6	7,7±0,9	<0,01
NO ₂ -, мкмоль/л	3,3±0,2	2,1±0,2	<0,01
NO ₃ -, мкмоль/л	5,5±0,5	5,2±0,7	0,12
3-нитротирозин, нг/мл	10,1±0,9	3,7±0,2	<0,01
ΔNO выд**, %	-8,9±3,5	-15,9±2,8	0,83
ΔСКНН**, %	8,1±6,4	33,0±21,6	0,45
Δ3-нитротирозина**, %	54,3±19,2	11,6±8,3	0,90

Примечание: m – среднее значение; S_e – стандартная ошибка среднего; * - суммарная концентрация нитратов и нитритов; ** - разница между пострезультативными и исходными показателями, выраженная в процентах.

При этом, показатели здоровых добровольцев группы контроля на этапе лабораторного тестирования и в условиях тренировки на открытом воздухе, как до, так и после нагрузки были сопоставимы (табл. 19).

Таблица 19

Показатели метаболизма оксида азота у спортсменов и в группе контроля

Показатель	Группа контроля, лабораторный тест (n=34) $m \pm S_e$	Группа контроля, тест на открытом воздухе (n=30) $m \pm S_e$	p
До физической нагрузки			
NO выд, ppb	10,7±1,1	11,7±0,9	0,27
V _{NO} , нл/мин	30,5±3,0	33,7±2,8	0,28
СКНН*, мкмоль/л	8,1±1,1	6,0±0,8	0,39
NO ₂ -, мкмоль/л	2,2±0,2	1,7±0,1	0,15
NO ₃ -, мкмоль/л	5,6±1,1	3,8±0,8	0,42
3-нитротирозин, нг/мл	3,8±0,3	3,5±0,2	0,58
После физической нагрузки			
NO выд, ppb	9,2±1,0	9,1±0,8	0,61
V _{NO} , нл/мин	29,1±3,2	26,5±2,3	0,95
СКНН*, мкмоль/л	7,9±0,8	7,4±1,7	0,05
NO ₂ -, мкмоль/л	2,1±0,2	2,1±0,5	0,23
NO ₃ -, мкмоль/л	5,4±0,8	5,0±1,2	0,22
3-нитротирозин, нг/мл	3,4±0,3	4,0±0,3	0,18
ΔNO выд**, %	-12,7±3,7	-19,5±4,4	0,15
ΔСКНН**, %	13,1±9,6	56,8±46,3	0,72
Δ3-нитротирозина**, %	6,5±11,0	17,6±12,7	0,55

Примечание: m – среднее значение; S_e – стандартная ошибка среднего; * - суммарная концентрация нитратов и нитритов; ** - разница между постнагрузочными и исходными показателями, выраженная в процентах.

Уровень 3-нитротирозина был значимо выше у спортсменов, обследованных в соревновательном периоде макроцикла. Напротив, в этом периоде отмечена достоверно меньшая суммарная концентрация нитратов и нитритов (табл. 20).

Таблица 20

Показатели метаболизма оксида азота у лыжников и биатлонистов в различные периоды годового тренировочного цикла

Показатель	Подготовительный период (n=92) $m \pm S_e$	Соревновательный период (n=78) $m \pm S_e$	p
До тренировки на открытом воздухе при низких температурах			
NO выд, ppb	12,6±0,7	15,8±1,6	0,09
V_{NO} , нл/мин	36,5±2,0	46,0±4,8	0,07
СКНН*, мкмоль/л	10,8±0,86	7,5±0,9	0,01
NO ₂ -, мкмоль/л	4,0±0,3	3,0±0,4	0,01
NO ₃ -, мкмоль/л	6,8±0,8	4,4±0,7	0,14
3-нитротирозин, нг/мл	8,1±1,0	14,8±0,9	<0,01
После тренировки на открытом воздухе при низких температурах			
NO выд, ppb	10,4±0,6	13,9±1,5	0,07
V_{NO} , нл/мин	29,3±1,7	40,6±4,4	0,02
СКНН*, мкмоль/л	9,8±0,8	6,3±0,4	<0,01
NO ₂ -, мкмоль/л	3,4±0,2	2,7±0,2	0,07
NO ₃ -, мкмоль/л	5,9±0,6	3,6±0,4	0,04
3-нитротирозин, нг/мл	8,9±1,0	16,2±1,2	<0,01
ΔNO выд**, %	-10,0±5,5	-8,8±5,3	0,61
Δ СКНН**, %	7,3±7,1	12,2±15,1	0,99
Δ 3-нитротирозина**, %	61,0±22,6	17,3±10,5	0,45

Примечание: m – среднее значение; S_e – стандартная ошибка среднего; * - СКНН – суммарная концентрация нитритов и нитратов; ** - разница значений до и после нагрузки в процентах.

Исследование динамики уровня суммарной концентрации нитратов и нитритов, а также 3-нитротирозина в конденсате в ответ на нагрузку при низких температурах позволило выявить следующую особенность: в случае увеличения содержания данных метаболитов после нагрузки, оно было более выраженным, нежели при снижении показателей (рис. 28).

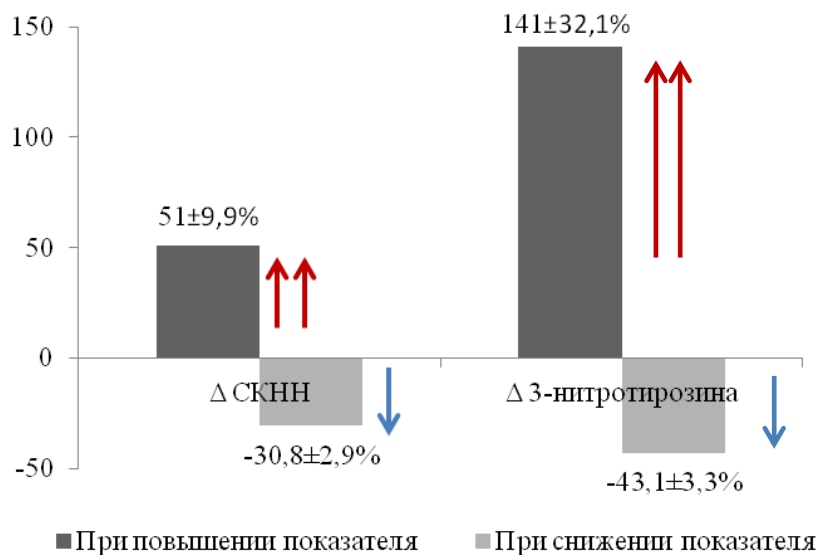


Рис. 28. Динамика метаболитов NO в конденсате выдыхаемого воздуха в ответ на физическую нагрузку при низких температурах.

У спортсменов с диагностированным БФН определен значимо более низкий исходный уровень NO выд. В этой же группе отмечено более высокое содержание метаболитов NO в конденсате выдыхаемого воздуха, однако достоверные различия зафиксированы только по исходному уровню NO₂. (табл. 21).

Сравнительная характеристика NO и его метаболитов у спортсменов с бронхоспазмом, вызванным физической нагрузкой, и без него

Показатель	Наличие БФН (n=22) m±S _e	Отсутствие БФН (n=200) m±S _e	p
Исходно			
NO выд, ppb	9,4±2,1	14,2±0,8	0,03
V _{NO} , нл/мин	27,2±6,2	41,4±2,5	0,02
СКНН*, мкмоль/л	13,2±4,0	10,0±0,7	0,21
NO ₂ -, мкмоль/л	5,1±0,8	3,7±0,2	0,03
NO ₃ -, мкмоль/л	8,1±3,4	6,2±0,6	0,68
3-нитротирозин, нг/мл	11,5±3,6	9,2±0,9	0,47
После нагрузки			
NO выд, ppb	8,5±1,9	12,2±0,8	0,14
V _{NO} , нл/мин	24,9±5,7	35,0±2,3	0,16
СКНН*, мкмоль/л	13,6±3,6	8,9±0,6	0,08
NO ₂ -, мкмоль/л	4,1±0,8	3,3±0,2	0,19
NO ₃ -, мкмоль/л	7,9±3,0	5,4±0,5	0,50
3-нитротирозин, нг/мл	12,0±4,1	10,0±0,9	0,55
ΔNO выд**, %	-0,7±22,0	-10,0±3,9	0,69
ΔСКНН*, %	23,6±43,0	7,3±6,4	0,92
Δ3-нитротирозина**, %	31,2±45,0	55,7±20,2	0,97

Примечание: m – среднее значение; S_e – стандартная ошибка среднего; * - суммарная концентрация нитратов и нитритов; ** - разница показателя до и после нагрузки, рассчитанная по формуле: (NO выд после нагрузки – NO выд до нагрузки) / NO выд до нагрузки * 100%.

Значимо более низкий исходный уровень NO выд у спортсменов с диагностированным БФН может служить информативным инструментом скрининга в диагностическом алгоритме выявления БФН на начальном его этапе. Согласно расчетам*, оптимальным пороговым значением показателя NO выд следует считать уровень ≤ 14 ppb, характеризующийся высоким уровнем чувствительности в отношении выявления бронхообструкции (77,8%). Использование данного показателя позволит ограничивать контингент спортсменов для более детального обследования и выполнения непрямых провокационных тестов.

* - расчет чувствительности параметра проводился по формуле:

$$Se = TP / (TP + FN) \times 100\%, \text{ где}$$

Se – чувствительность метода;

TP – истинно положительные результаты исследования;

FN – ложноотрицательные результаты исследования.

3.5. Эргоспирометрические показатели аэробной емкости у спортсменов, принявших участие в лабораторном тестировании

Эффективная организация тренировочного процесса в профессиональном спорте невозможна без использования объективных методик тестирования, в частности эргоспирометрии. В настоящем исследовании кардиореспираторное тестирование было применено с целью изучения показателей аэробной емкости, а также поиска взаимосвязей между данными показателями и продукцией NO выд в дыхательных путях лыжников и биатлонистов.

В группе спортсменов мужского пола выявлены достоверно большие эргоспирометрические показатели тренированности (табл. 22). Более высокие показатели у мужчин были, безусловно, ожидаемы вследствие половых различий по антропометрическим параметрам.

Сравнительная характеристика эргоспирометрических параметров спортсменов и спортсменок по результатам лабораторного тредмил-тестирования

Показатель	Общее значение (n=52) $m \pm S_e$	Спортсмены (n=28) $m \pm S_e$	Спортсменки (n=24) $m \pm S_e$	p
VE, л	115,4±4,0	134±4,2	94,0±2,8	p<0,001
VE (АП), л	103,5±5,1	120,1±4,2	82,7±6,0	p<0,001
ЧД, в мин.	45,7±0,8	46,8±1,3	44,5±0,9	p=0,064
ЧД, %	110,5±2,0	112,6±3,1	108,0±2,4	p=0,142
РД, абс	26,6±2,0	24,2±2,4	29,3±3,1	p=0,151
РД, %	84,9±8,2	76,3±10,4	94,8±12,9	p=0,142
VO ₂ max, мл/мин	3189,4±112,4	3702,0±131,6	2603,7±67,8	p<0,001
VO ₂ (АП), мл/мин	3018,9±157,9	3470,4±192,3	2454,4±146,8	p<0,001
VO ₂ , мл/мин/кг	49,8±1,4	54,7±1,7	44,2±1,7	p<0,001
VO ₂ /ЧСС (АП)	25,8±5,9	24,4±3,2	27,9±4,4	p=0,011
VO ₂ /ЧСС, абс.	20,4±1,3	24,0±1,9	15,7±1,0	p<0,001
VO ₂ /ЧСС, %	154,6±7,5	155,2±10,5	153,8±10,7	p=0,988
VCO ₂ max, мл/мин	3141,1±104,3	3660,2±97,8	2547,8±75,7	p=0,011
VCO ₂ (АП), мл/мин	2937,3±138,3	3489,8±127,8	2345,3±120,1	p=0,011

Примечание: m – среднее значение; S_e – стандартная ошибка среднего; VE – максимальная минутная вентиляция легких; АП – анаэробный порог; ЧД – частота дыхания; РД – резерв дыхания; VO₂max – максимальное потребление кислорода;

$VO_2/ЧСС$ – кислородный пульс; VCO_{2max} – максимальное содержание CO_2 в выдыхаемом воздухе.

Определена взаимосвязь некоторых показателей, характеризующих аэробную емкость, с NO выд у спортсменов (табл. 23).

Таблица 23

Взаимосвязь показателей эргоспирометрии и NO выд у спортсменов

Показатели	Rs	p
VO_{2max} , мл/мин & NO выд ²	0,4	<0,05
VO_{2max} , мл/мин/кг & NO выд ¹	0,3	<0,05
VO_{2max} , мл/мин/кг & NO выд ²	0,4	<0,05
$VO_2/ЧСС$, абс & NO выд ¹	0,4	<0,05
$VO_2/ЧСС$, абс & ΔNO выд	-0,5	<0,05
$VO_2/ЧСС$, % & ΔNO выд	-0,5	<0,01

Примечание: Rs – коэффициент корреляции Спирмена; 1 - до нагрузки; 2 – после нагрузки.

Также имели место положительные корреляции вышеуказанных эргоспирометрических маркеров аэробной емкости с основными параметрами функции внешнего дыхания (ФЖЕЛ, $ОФВ_1$, ПСВ; $r_s=0,6$ $p<0,01$).

При сравнении эргоспирометрических показателей спортсменов с наличием и отсутствием БФН выявлены значимые отличия по параметрам максимальной вентиляции и кислородного пульса (табл. 24).

Сравнительная характеристика эргоспирометрических параметров спортсменов в зависимости от наличия БФН по результатам лабораторного тредмил-тестирования

Показатель	Наличие БФН n=11 m±S _e	Отсутствие БФН n=41 m±S _e	p
VE, л	124,4±8,2	113,1±4,5	p=0,18
VE (АП), л	104,9±5,8	98,4±5,5	p<0,05
ЧД _{max} , в мин.	44,4±1,5	46,1±1,0	p=0,46
ЧД _{max} , %	109,1±4,3	110,8±2,3	p=0,75
РД, абс.	33,2±4,9	24,8±2,0	p=0,09
РД, %	118,4±17,3	76,6±8,9	p=0,05
VO ₂ _{max} , мл/мин	3493,7±231,3	3113,4±126,3	p=0,22
VO ₂ (АП), мл/мин	3421,4±289,2	2878,0±181,0	p=0,16
VO ₂ /ЧСС, %	129,4±4,2	160,5±8,8	p<0,05
VO ₂ /ЧСС мл/мин/кг (АП)	22,4±4,0	27,1±8,1	p=0,57

Примечание: m – среднее значение; S_e – стандартная ошибка среднего; VE – максимальная минутная вентиляция легких; АП – анаэробный порог; ЧД – частота дыхания; РД – резерв дыхания; VO₂_{max} – максимальное потребление кислорода; VO₂/ЧСС – кислородный пульс; VCO₂_{max} – максимальное содержание CO₂ в выдыхаемом воздухе.

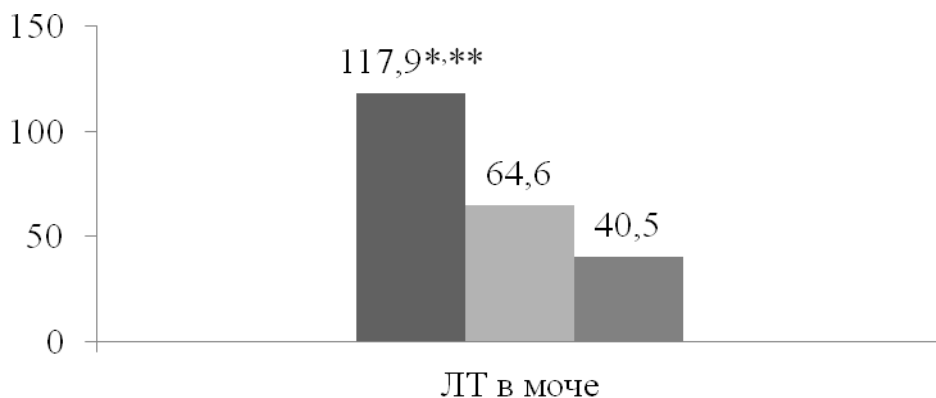
Наряду с вышеуказанными различиями, важным результатом анализа параметров эргоспирометрии у лыжников и биатлонистов в зависимости от наличия/отсутствия синдрома БФН служит установленное пороговое значение VE (АП) = 110 л/мин, превышение которого может рассматриваться в качестве

дополнительного параметра скрининга БФН при прогностической ценности отрицательного результата 71,4%.

3.6. Метаболизм цистеиниловых лейкотриенов у спортсменов

Поскольку цистеиниловые лейкотриены (cysLT) играют важную роль в развитии и поддержании бронхоконстрикции и воспаления в дыхательных путях [32, 34, 39], особый интерес представлял уровень конечного продукта метаболизма ЛТЕ₄ в моче обследованных спортсменов, ежедневные тренировки которых связаны с продолжительной экспозицией сухого холодного воздуха. Рисунок 29 демонстрирует сравнительную характеристику уровня ЛТЕ₄ в группах сравнения. Данный показатель не отличался у спортсменов с наличием и отсутствием БФН, что может быть обусловлено малым объемом выборки спортсменов с диагностированной бронхообструкцией.

нг/мкмоль/л



Соревновательный период ■ Подготовительный период ■ Группа контроля

Рис. 29. Содержание ЛТЕ₄ в моче обследованных спортсменов и группы контроля.

Примечание: * - $p < 0,01$ по сравнению с группой контроля; ** - $p < 0,05$ по сравнению с подготовительным периодом.

У спортсменов зарегистрированы отрицательные взаимосвязи основных объемно-скоростных спирометрических показателей до и после нагрузки с уровнем cysLT_4 в моче независимо от периода тренировочного цикла (рис. 30, 31).

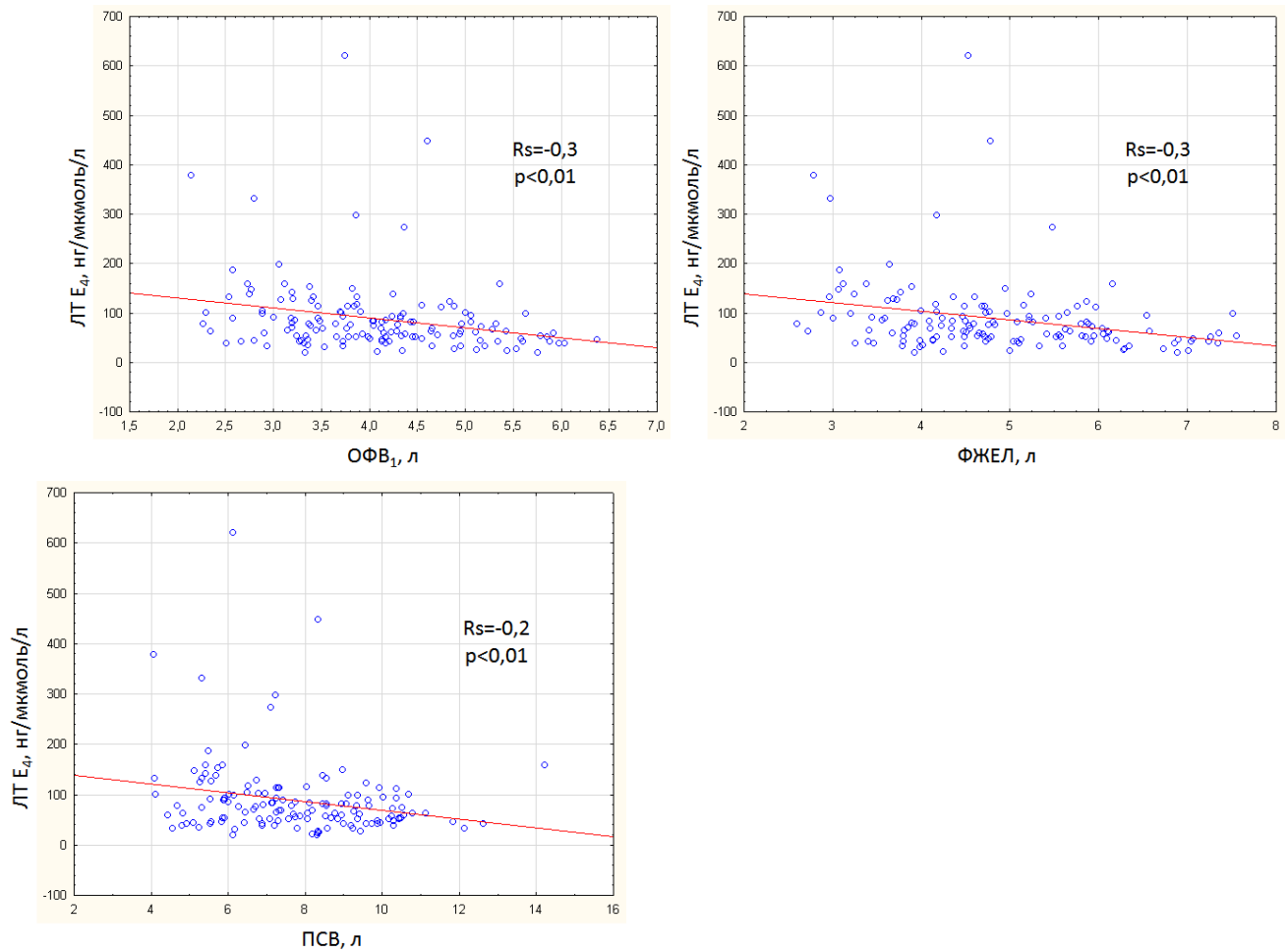


Рис. 30. Корреляции между уровнем LTE_4 в моче и исходными показателями спирометрии у спортсменов.

Примечание: R_s – коэффициент корреляции Спирмена.

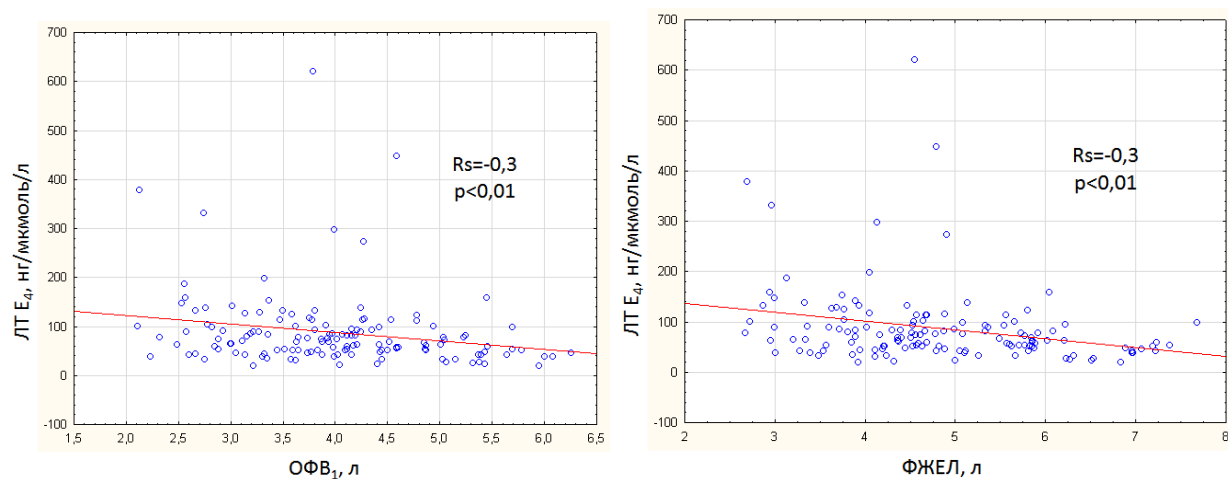


Рис. 31. Корреляции между уровнем ЛТЕ₄ в моче и показателями спирометрии после нагрузки у спортсменов.

Примечание: R_s – коэффициент корреляции Спирмена.

3.7. Эффективность медикаментозной коррекции бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

Спортсменам с диагностированным БФН по результатам теста с нагрузкой в условиях тренировки на открытом воздухе ($n=11$) была назначена терапия монтелукастом в суточной дозе 10 мг с продолжительностью приема препарата - 10 дней. Из них 1 спортсменка лыжница не получила назначенного лечения (отказ родителей), 10 спортсменов принимали рекомендованный препарат. По окончании курса терапии было проведено повторное тестирование с регистрацией показателей функции внешнего дыхания, определением вышеописанных параметров в конденсате выдыхаемого воздуха до и после тренировки на открытом воздухе при низкой температуре.

Динамика ОФВ₁ у спортсменов, прошедших курс терапии монтелукастом, приведена на рисунке 32.

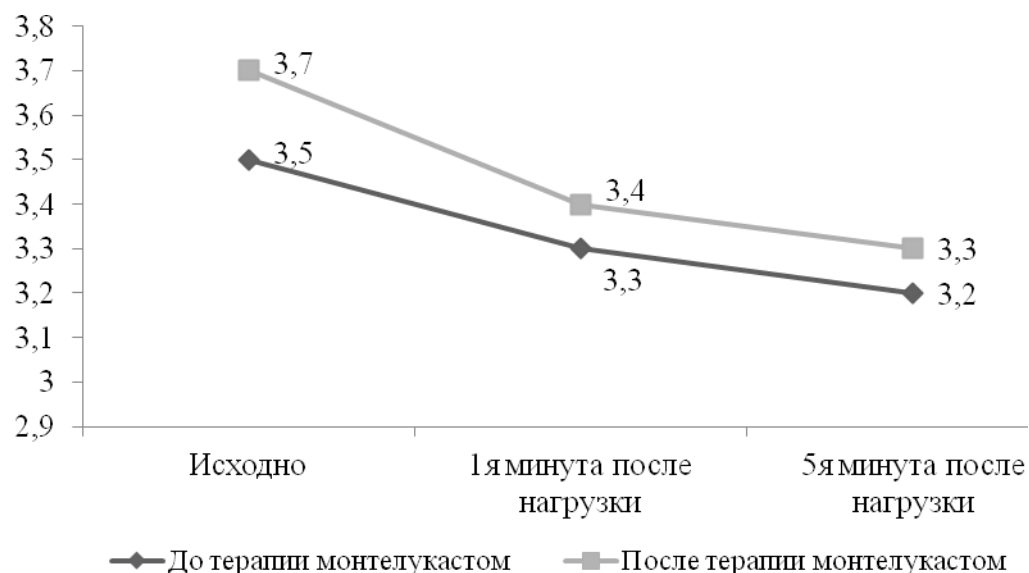
ОФВ₁, л

Рис. 32. Динамика ОФВ₁ после 10-дневного курса лечения монтелукастом.

При контрольном тестировании все спортсмены продемонстрировали отсутствие критериев БФН после нагрузки (рис. 33).

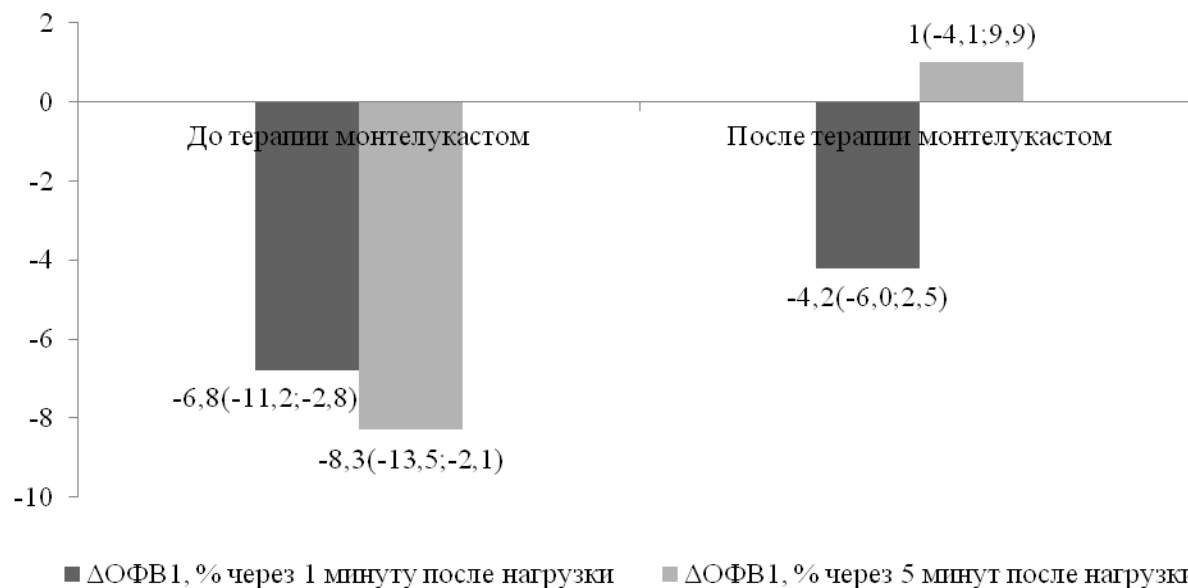
ΔОФВ₁, %

Рис. 33. Динамика показателя ΔОФВ₁ после 10-дневного курса лечения монтелукастом.

Исходный уровень NO выд был сопоставим у спортсменов с БФН до и после лечения монтелукастом, однако динамика показателя после лечения изменилась (рис. 34)

Δ NO выд, %

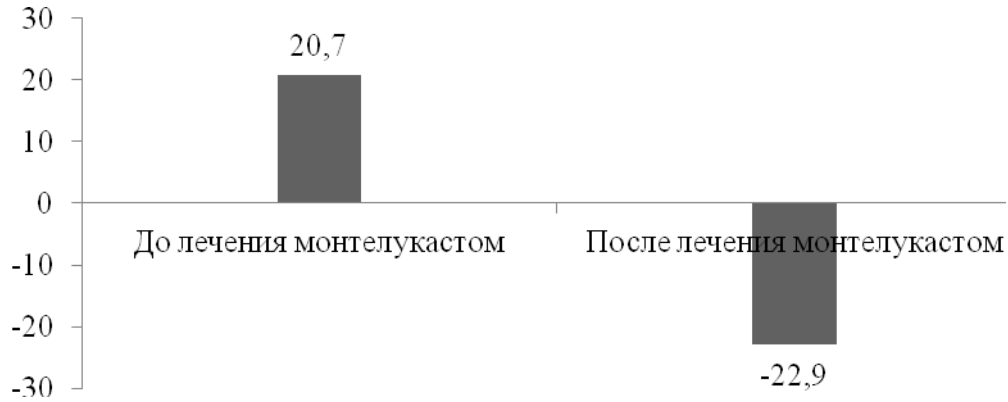


Рис. 34. Динамика показателя Δ NO выд после 10-дневного курса лечения монтелукастом.

После проведенного лечения преднагрузочные показатели СКНН, нитратов и нитритов в КВВ были ниже первоначальных значений, однако после теста с нагрузкой регистрировался рост содержания СКНН за счет нитратов (рис. 35-37). Достоверных различий при сравнении спортсменов с БФН и без него не зарегистрировано вследствие нерепрезентативной малой выборки спортсменов с бронхообструкцией.

СКНН, мкмоль/л

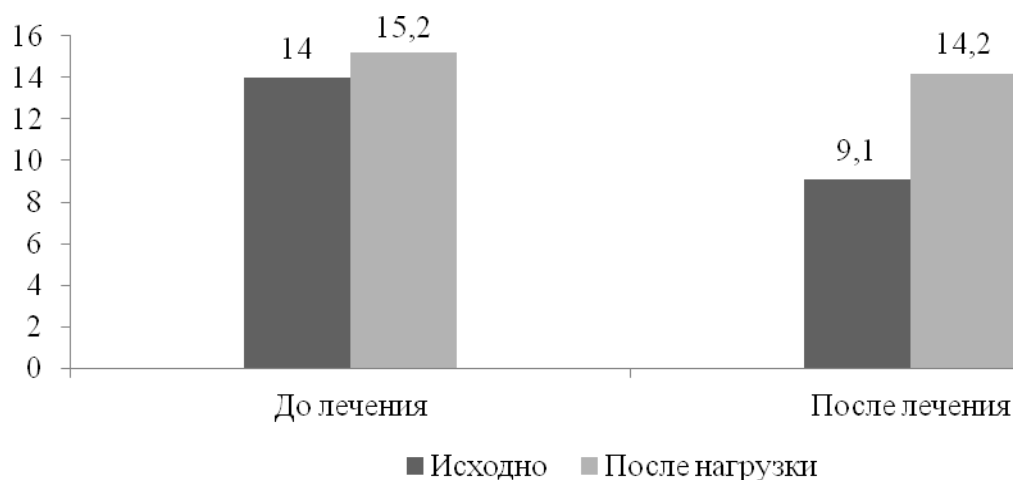


Рис. 35. Динамика суммарной концентрации нитритов/нитратов в конденсате выдыхаемого воздуха на фоне терапии монтелукастом.

NO_3^- , мкмоль/л

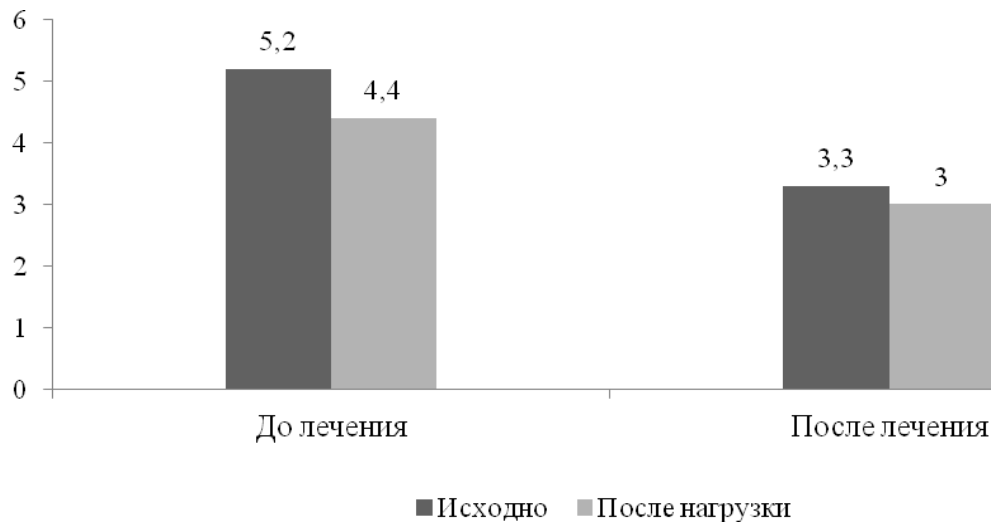


Рис. 36. Динамика концентрации нитритов в конденсате выдыхаемого воздуха на фоне терапии монтелукастом.

NO_2^- , мкмоль/л

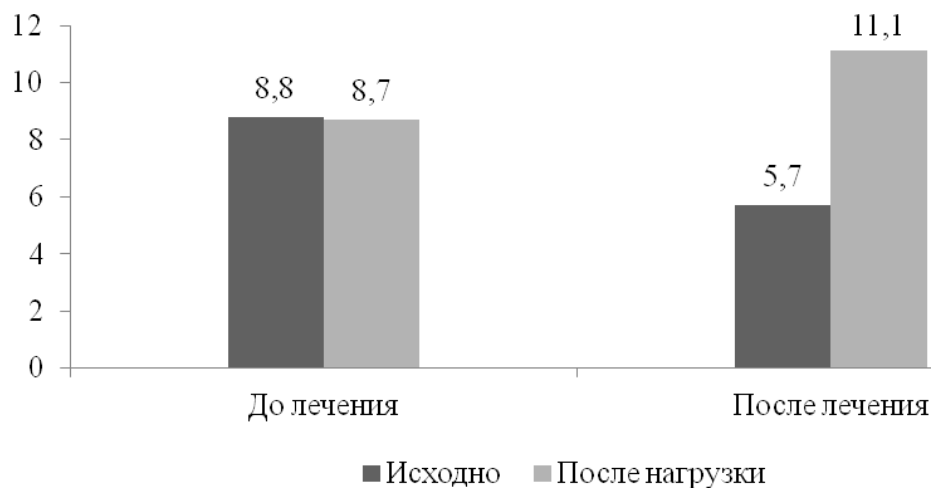


Рис. 37. Динамика концентрации нитратов в конденсате выдыхаемого воздуха на фоне терапии монтелукастом.

Содержание 3-нитротирозина в исследуемой группе спортсменов имело тенденцию к повышению после курса лечения монтелукастом (рис. 38).

3-нитротирозин, нг/мл

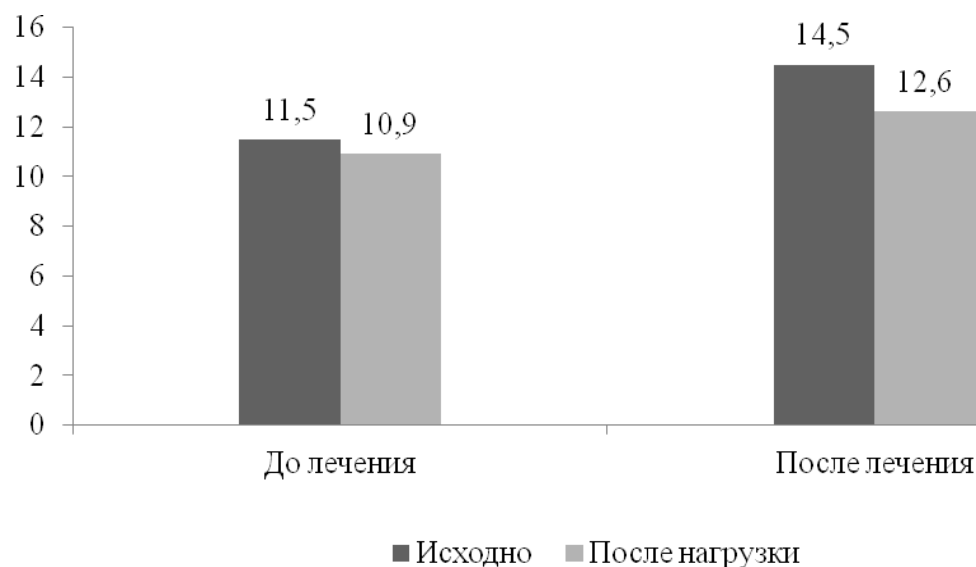


Рис. 38. Динамика концентрации 3-нитротирозина в конденсате выдыхаемого воздуха на фоне терапии монтелукастом.

Показатели ЛТ E₄ в моче до и после лечения были сопоставимы.

Таким образом, применение монтелукаста у спортсменов с субклиническим течением БФН привело к клинико-функциональному разрешению бронхообструкции при отсутствии динамики содержания суsЛТ в моче и тенденции к снижению СКНН.

3.8. Соотношение ЛТ E₄/NO выд в исследуемых группах

В публикациях последних лет, посвященных изучению механизмов и поиску эффективных подходов к коррекции БФН, в качестве предиктора эффективности антилейкотриеновой терапии используется соотношение ЛТЕ₄/NO выд. Установлено, что более высокое соотношение ЛТЕ₄/NO выд ассоциировано с менее выраженным снижением ОФВ₁ на фоне терапии монтелукастом, т.е. лучшими

превентивными свойствами препарата [55]. В настоящем исследовании выполнен анализ данного соотношения у спортсменов и его взаимосвязи с объективными признаками бронхообструкции.

У спортсменов соотношение LTE_4/NO выд составило $9,4 \pm 1,1$; в группе контроля – $4,9 \pm 0,4$ ($p=0,006$). На рисунке 39 представлено распределение показателя в зависимости от наличия/отсутствия БФН у спортсменов и в группе контроля.

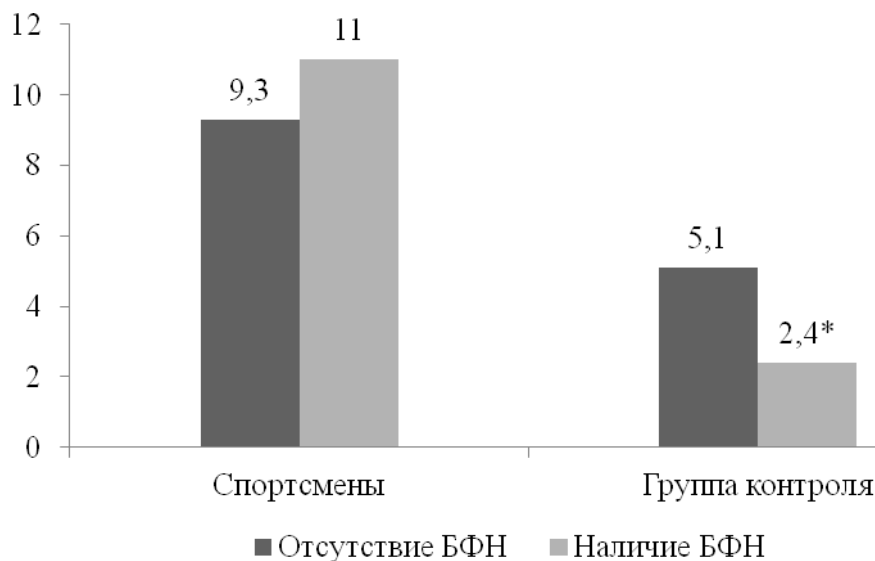


Рис. 39. Соотношение LTE_4/NO выд в группах сравнения в зависимости от наличия БФН.

Примечание: * - $p=0,03$ по сравнению с представителями группы контроля без БФН.

Также выявлены достоверные половые различия по данному соотношению: у спортсменов показатель составил $7,4 \pm 1,1$; у спортсменок – $8,8 \pm 1,2$ ($p=0,02$).

Таким образом, максимальный показатель зарегистрирован у лыжников и биатлонистов с диагностированным БФН, которые в дальнейшем продемонстрировали хороший ответ на терапию монтелукастом.

ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Распространенность бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, среди лыжников и биатлонистов и особенности его клинического течения

Бронхиальная гиперреактивность (БГР), определяемая посредством бронхиального провокационного тестирования с использованием физических стимулов (нагрузка, гипервентиляция сухого воздуха, ингаляция гиперосмолярных аэрозолей) или фармакологических агентов (ингаляция метахолина, гистамина), – одно из наиболее распространенных хронических медицинских состояний в популяции спортсменов атлетических олимпийских видов спорта [40-42, 74, 138, 188, 218, 219, 242]. Биатлон и лыжные гонки занимают лидирующие позиции по распространенности синдрома БГР, поскольку данные виды спорта предполагают поддержание высокого уровня минутной вентиляции легких (до 200 л/мин и более) на протяжении длительного времени [188, 242]. Кроме того, соревнования и тренировки лыжников и биатлонистов проходят при низкой температуре окружающей среды, что вносит дополнительный вклад в реализацию бронхообструкции. В противоположность вышеизложенному, в горнолыжном спорте и прыжках с трамплина, при которых имеют место сходные условия тренировочной среды, но отсутствует фактор гипервентиляции сухого холодного воздуха, частота выявления БГР не превышает 4% [145].

Распространенность БФН у лыжников и биатлонистов, выявленная по результатам лабораторного тредмил-тестирования (21%), сопоставима с опубликованными данными, полученными при обследовании элитных спортсменов зимних олимпийских видов спорта [242].

В настоящем исследовании интерес представляло сравнение частоты выявления БФН при выполнении физической нагрузки в условиях комнатной

температуры и при низкой температуре окружающей среды. Вопреки ожиданиям, тестирование с использованием нагрузки на открытом воздухе позволило диагностировать БФН только в 6,5% случаев. Полученные результаты распространенности БФН при использовании различных условий проведения провокационного теста с нагрузкой можно объяснить несколькими причинами. Во-первых, согласно современным представлениям о патогенезе БФН, основополагающий путь реализации бронхоспазма – гиперосмолярный механизм, приводящий к дегрануляции тучных клеток [188, 219]. В свою очередь, гиперосмолярность поверхности слизистой респираторного тракта инициируется гипервентиляцией, сопровождающей интенсивную нагрузку независимо от места ее выполнения [242]. Термальный же механизм развития БФН, по данным публикаций последних лет, имеет лишь дополнительное значение [15, 40, 102, 188, 242], что было подтверждено полученными результатами исследования. Во-вторых, при диагностике бронхоспазма в условиях тренировки на открытом воздухе, отсутствовала четкая стандартизация физической нагрузки. Безусловно, нагрузка была интенсивной, использовался бег на лыжах с ускорением, но средняя продолжительность тренировки составляла 30-40 минут. В лабораторном тредмил-тестировании использовался метод дозирования нагрузки по субмаксимальной ЧСС, время проведения теста было ограничено 8 минутами [188, 222]. Продолжительность нагрузки может иметь значение для диагностики БФН, поскольку опубликованные в последнее время результаты исследования БФН подтверждают наличие рефрактерного периода примерно у 50% лиц с БФН [90, 185, 207, 244]. Этот период развивается сразу после эпизода БФН и продолжается 2-3 часа, в течение которых дополнительная нагрузка не приводит к развитию повторной бронхообструкции или влечет за собой менее интенсивное снижение ОФВ₁. При этом рефрактерный период может также следовать и за физической нагрузкой меньшей интенсивности, не вызывающей развитие БФН [242].

Важными представляются также и результаты сравнения спирометрических показателей у спортсменов и представителей группы контроля с наличием и отсутствием феномена БФН. Так, лица с диагностированным бронхоспазмом характеризовались достоверно большими показателями ФЖЕЛ. Необходимо отметить, что жизненная емкость легких является одним из основных функциональных параметров, определяющих интенсивность вентиляции легких при нагрузке. Следовательно, спортсмены с большей емкостью легких, способные вентилировать большие объемы сухого холодного воздуха, входят в группу риска по развитию синдрома бронхиальной обструкции.

Одной из задач настоящего исследования было сопоставление частоты выявления БФН на различных этапах процесса тренировки. Годовой тренировочный макроцикл спортивной подготовки лыжников и биатлонистов состоит из следующих периодов: подготовительного, соревновательного и переходного. Для скрининга бронхоспазма были выбраны периоды, отличающиеся максимальной интенсивностью нагрузок (подготовительный и соревновательный). Исследование спортсменов в подготовительном периоде выполнялось на его завершающей стадии (осенне-зимний этап: ноябрь, декабрь), характеризующейся большим объемом соревновательных упражнений, интегральным характером подготовки. На данном этапе решаются следующие задачи: развитие силовой и скоростной выносливости; достижение высшей степени тренированности. Основная направленность соревновательного периода (январь-апрель). — сохранение и улучшение спортивной формы. Основная задача в данный период состоит в функциональной мобилизации организма спортсмена на предельные напряжения. Таким образом, выбранные для исследования периоды были сопоставимы по интенсивности физических нагрузок, но отличались их временным режимом, психологической составляющей нагрузки, приобретающей особое значение в соревновательный период. Тем не менее, частота выявления БФН была сходной в соревновательный и подготовительный периоды годового цикла тренировки спортсменов и составила 6,4% и 6,5%, соответственно.

Этот результат свидетельствует о том, что для развития бронхообструкции большее значение имеет не столько режим нагрузки, сколько ее интенсивность.

Положительная корреляционная взаимосвязь между основными показателями, отражающими динамику проходимости бронхов в провокационном тесте с нагрузкой, а именно: $\Delta\text{МОС}_{25-75}$ и $\Delta\text{ОФВ}_1$, была ожидаема. В исследованиях диагностических подходов к выявлению БФН продемонстрировано, что показатель МОС_{25-75} , отражающий изменения на уровне мелких бронхов, может служить дополнительным или альтернативным диагностическим маркером БФН, что особенно актуально при снижении ОФВ_1 менее 15% и/или при субмаксимальной нагрузке [213].

Полученные результаты исследования позволяют утверждать, что БФН в популяции лыжников и биатлонистов чаще характеризуется стертой клинической симптоматикой. Только 54% спортсменов с диагностированным БФН подтвердили наличие респираторных симптомов, из которых наиболее часто регистрировался непродуктивный кашель. С другой стороны, в общей когорте обследованных спортсменов респираторные симптомы отмечались в 37% случаев, включая индивидов без признаков бронхообструкции. Наряду с бронхитическим синдромом, неинформативным в отношении БФН является ощущение затруднения инспираторной фазы дыхательного цикла, регистрировавшееся у 13% обследованных. Этот симптом неспецифичен и может сопровождать транзиторную дисфункцию голосовых связок, часто встречающуюся у представителей зимних видов спорта, а также утомление дыхательной мускулатуры [240, 242]. Наиболее специфичным, но, вместе с тем, редко встречающимся является классический симптом затрудненного выдоха, зарегистрированный у 2х лыжников с выявленным БФН и не отмечавшийся у спортсменов с нормальными постнагрузочными параметрами функции внешнего дыхания. Следовательно, симптом затрудненного выдоха – единственный информативный субъективный признак БФН у спортсменов.

Согласно опубликованным данным, атопия является фактором риска бронхообструктивных состояний у спортсменов [121]. Однако, атопический механизм формирования и поддержания гиперреактивности бронхов актуален, в большей мере, для летних олимпийских видов спорта с преимущественно аэробной нагрузкой (спортивная ходьба, бег, велоспорт и др.). В настоящем исследовании из общего числа спортсменов с БФН только 1 биатлонистка продемонстрировала положительные результаты кожного аллерготестирования (внутрикожные прик-тесты), являющегося эталоном верификации атопии. Следовательно, в случае зимних видов спорта, таких как лыжные гонки и биатлон, ключевым механизмом бронхообструкции служит формирование неспецифической бронхиальной гиперреактивности, связанной с повторяющимися процессами повреждения и репарации респираторного эпителия, нейтрофильной инфильтрацией слизистой [40, 242].

4.2. Взаимосвязь уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе с параметрами функции внешнего дыхания у спортсменов

В настоящее время накоплена значительная доказательная база об участии NO в патогенезе астмы. Определено повышение NO выд у пациентов с астмой, что коррелирует с активностью воспалительного процесса в слизистой бронхов [59, 153]. Образование исходит из L-аргинина при помощи NO-синтаз, присутствующих во многих клетках респираторного тракта [26, 60]. Конститутивные формы NO-синтаз продуцируют NO в условиях определенных физиологических состояний, тогда как увеличение NO выд при астме является результатом активации экспрессии индуцибельной NO-синтазы.[100]. Исследованию NO выд при БФН, как одного из проявлений атопической астмы, были посвящены многие исследования последних лет [26, 52, 79]. Однако динамика показателя при БФН без астмы изучена недостаточно.

Установлено, что выполнение интенсивной нагрузки ассоциировано со снижением уровня NO выд, что связано с его выведением в условиях

гипервентиляции легких [54]. Так, большинство спортсменов и здоровых добровольцев группы контроля, не занимающихся спортом профессионально, продемонстрировали ожидаемое уменьшение NO выд. Сходные изменения прослеживались при различных температурных режимах тестирования, что свидетельствует о главенствующей роли скорости вентиляции для динамики данного показателя. Анализ средних значений ΔNO у спортсменов и в контрольной группе продемонстрировал тенденцию к более выраженному снижению показателя в обеих группах при нагрузке в условиях низких температур. Эти результаты согласуются с опубликованными данными исследования V.Braten [70], в котором приводится динамика NO выд у здоровых добровольцев при интенсивной нагрузке при температуре +18С и -10С. Выявлены достоверно более низкие показатели NO в выдыхаемом воздухе при нагрузке в низкотемпературных условиях [70].

Несмотря на сопоставимую динамику NO выд, ее значения у спортсменов после нагрузки были достоверно выше, чем у добровольцев группы контроля. Данные результаты могут быть обусловлены спецификой активности индуцибельной NO-синтазы у спортсменов, респираторный тракт которых подвергается ежедневному воздействию больших объемов сухого холодного воздуха. С другой стороны, более интенсивная продукция NO в дыхательных путях спортсменов может быть связана с тем, что он является мощным эндотелий-зависимым фактором расслабления и участвует в развитии реактивной вазодилатации [60], следующей за охлаждением поверхности дыхательных путей. Кроме того, согласно результатам исследования Verges S. и соавт., посвященного изучению динамики NO выд у атлетов при выполнении нагрузки в условиях гипоксии и нормоксии, у спортсменов со снижением PaO_2 на фоне нагрузки отмечались достоверно меньшие показатели NO выд. Авторы заключили, что NO может быть вовлечен в процесс газообмена и модулировать гипоксическую вазоконстрикцию [234]. Следовательно, более высокие постнагрузочные уровни NO выд у спортсменов могут свидетельствовать о более эффективном газообмене на фоне провокации нагрузкой.

Повышение уровня NO выд у лыжников и биатлонистов после нагрузки, отчасти, может быть объяснено результатами исследования уровня нейрональной NO-синтазы в мышцах спортсменов, занимающихся атлетическими видами спорта 6 и более лет (триатлонисты, велосипедисты, бегуны) [164]. Установлено достоверно большее содержание нейрональной NO-синтазы в биоптатах латеральной широкой мышцы бедра спортсменов в сравнении с лицами, не занимающимися спортом [164]. Известно, что одним из источников NO в выдыхаемом воздухе являются конститутивные NO-синтазы. В респираторном тракте нейрональная NO-синтаза локализуется в клетках цилиндрического эпителия, пневмоцитах 1 типа, а также в холинергических нервных волокнах, обладая бронходилатирующим эффектом, и, являясь функциональным антагонистом ацетилхолина [60, 226]. Возможно, активная экспрессия нейрональной NO-синтазы характерна не только для мышечной ткани, но и для эпителиоцитов и пневмоцитов респираторного тракта.

Иным объяснением большего уровня NO выд спортсменов после нагрузки по сравнению с лицами, не занимающимися спортом, служат результаты исследования Sachs-Olsen и соавт. [211]. Целью работы было определение взаимосвязи между интенсивной физической нагрузкой и NO выд у подростков с диагнозом астмы и без него посредством множественного регрессионного анализа. Было установлено, что у здоровых подростков каждый час интенсивной нагрузки увеличивает NO выд на 3,9 ppb. На основании полученных результатов было сделано предположение о том, что интенсивная нагрузка инициирует воспалительные изменения в дыхательных путях, независимо от наличия астмы [211].

Интересна также специфика изменения NO выд у спортсменов. Все обследованные были подразделены на две группы: первая группа – индивиды с повышением или неизменным уровнем NO выд после нагрузки, вторая – лица с закономерным снижением показателя. У спортсменов среднее значение повышения NO выд (первая группа) было в 2 раза больше, чем среднее значение снижения показателя во второй группе. Представители группы контроля характеризовались

равнозначным повышением и снижением NO выд после нагрузки. Это может быть связано с особенностями активации экспрессии NO-синтазы в дыхательных путях спортсменов в условиях регулярной интенсивной физической нагрузки, прежде всего индуцибельной NO-синтазы, поскольку именно ее активность детерминирует основной пул NO в выдыхаемом воздухе [152].

У спортсменов и представителей группы контроля с диагностированным БФН не выявлено значимых отличий по показателям NO выд как исходно, так и после теста с физической нагрузкой. Эти результаты совпадают с данными исследования Voutilainen M. и соавт., целью которого была оценка NO выд в качестве предиктора БГР и астмы у атлетов и лиц, не занимающихся спортом. Было установлено, что NO выд обладает низкой чувствительностью (55%) и специфичностью (71%) в отношении диагностики бронхообструкции у спортсменов. Авторы сделали вывод о том, что NO выд является слабым предиктором БГР и астмы у элитных атлетов и не может использоваться в качестве скрининга у спортсменов с респираторной симптоматикой в ответ на нагрузку [236]. Кроме того, БФН в чистом виде (без клинических симптомов астмы) является проявлением неспецифической гиперреактивности бронхов, при которой, вероятно, экспрессия индуцибельной NO-синтазы может быть не столь высока, как при персистирующем атопическом эозинофильном воспалении.

В рамках настоящего исследования было выполнено сравнение спирометрических показателей исследуемых групп со снижением и неизменным/повышенным NO выд до и после интенсивной тренировки при низкой температуре. В подготовительном периоде спортсмены с приростом NO выд в ответ на нагрузку характеризовались достоверно большими объемно-скоростными показателями функции внешнего дыхания ($ОФВ_1$, $МОС_{25-75}$, $МОС_{25}$, $МОС_{50}$, $МОС_{75}$). В этом периоде были отмечены положительные корреляции NO выд с ФЖЕЛ, $ОФВ_1$, $МОС_{25-75}$. Таким образом, лучшие функциональные показатели респираторной системы были взаимосвязаны с большей продукцией и приростом NO в

дыхательных путях после нагрузки. В соревновательном периоде у спортсменов, а также в группе контроля, напротив, большие объемно-скоростные параметры спирометрии были ассоциированы со снижением NO выд после тестирования. Однако и в этих группах показатель NO положительно коррелировал с ФЖЕЛ как исходно, так и после нагрузки.

В большинстве работ, целью которых был поиск взаимосвязей между спирометрическими показателями и NO выд, объектом изучения являлись пациенты с бронхиальной астмой. Причем данная популяция характеризуется отрицательной взаимосвязью ОФВ₁, ФЖЕЛ и NO выд [143]. Поскольку NO выд – относительный показатель, измеряющийся в единицах ppb (частей на миллион), полученные в настоящем исследовании корреляции невозможно объяснить лишь большей площадью поверхности дыхательных путей. Таким образом, речь идет о функциональных особенностях и/или активности экспрессии NO-синтазы у индивидов с большими объемами легких, что может быть связано с более интенсивной минутной вентиляцией, и, следовательно, более выраженной реактивной вазодилатацией.

4.3. Обоснование выявленных особенностей метаболизма оксида азота в дыхательных путях лыжников и биатлонистов

Период полураспада молекулы NO составляет 1–5 секунд. Взаимодействие NO с различными молекулярными мишенями - важнейший путь его метаболизма и инактивации. Наиболее значимо взаимодействие NO с супероксид-анионом (O_2^-) с образованием пероксинитрита ($ONOO^-$) - молекулы с большим потенциалом цитотоксичности. Другой ключевой механизм инактивации NO *in vivo* – реакция с молекулярным кислородом с образованием нитрита (NO_2^-), который в присутствии гемопротеинов окисляется до нитрата (NO_3^-) [26, 60]. Также была продемонстрирована реакция NO с тиолсодержащими белками (альбумин, тканевой активатор плазминогена) с образованием S-нитрозотиолов, представляющих собой

резервные источники NO [199]. В дополнение к показателю $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, к биомаркерам нитрозивного стресса и промежуточным продуктам метаболизма реактивных форм азота *in vivo* относится 3-нитротирозин [26, 27, 199], поскольку аминокислота тирозин наиболее восприимчива к нитрованию данными соединениями.

Как до, так и после теста с нагрузкой суммарная концентрация нитритов и нитратов, содержание 3-нитротирозина были значимо выше у спортсменов по сравнению с лицами, не занимающимися спортом профессионально. В настоящее время количество опубликованных исследований, целью которых является изучение динамики метаболитов NO в респираторном тракте спортсменов, ограничено. Большая часть работ включает определение данных соединений в плазме. Так, M. S. Rohalu и соавт. продемонстрировали повышение плазменной концентрации 3-нитротирозина после физической нагрузки у здоровых индивидов [206]. Авторы объяснили полученную динамику показателя инициацией оксидативного и нитрозивного стресса в результате нагрузки.

Влияние физической нагрузки на оксидативный статус респираторного тракта здоровых бегунов марафонцев в зависимости от длины пройденной дистанции была исследована Araneda O.F. и соавторами. [51]. После бега на расстояние в 10 км значимые изменения показателей H_2O_2 , NO_2^- отсутствовали. Достоверное увеличение уровня NO_2^- и H_2O_2 в КВВ спортсменов определено через 20 и 80 минут после преодоления дистанции в 21 и 42 км. При этом содержание малонового диальдегида оставалось неизменным. В целом, показатели ΔNO_2 и $\Delta\text{H}_2\text{O}_2$ положительно коррелировали с продолжительностью дистанции бега при отрицательной взаимосвязи данного показателя с ΔpH [51]. Авторы заключили, что интенсивные длительные нагрузки приводят к увеличению уровня прооксидантов в респираторном тракте при отсутствии динамики перекисного окисления липидов.

Ответ на вопрос о природе повышения NO выд и более высоких концентраций его метаболитов в КВВ профессиональных спортсменов неоднозначен. С одной

стороны, логичным представляется интерпретация полученных результатов в связи с персистирующим воспалением слизистой дыхательных путей, связанным с повторяющимися эпизодами ее иссушения (гиперосмолярности) и охлаждения [41, 63, 82, 145, 146, 154, 242]. В качестве аргументов можно привести большую распространенность бронхообструктивной патологии среди лыжников [154], более высокие уровни NO выд у пациентов с астмой [228], активацию цитокинового воспаления и экспрессии NO-синтазы в дыхательных путях лошадей после интенсивного бега при температуре ниже нулевой отметки [82], увеличение количества гранулоцитов и макрофагов в бронхах здоровых добровольцев после бега при температуре -23С [63]. С другой стороны, широко известна и физиологическая роль NO в респираторном тракте: регуляция базального тонуса и проницаемости сосудов, модуляция реактивности бронхов, антимикробная защита [54, 199]. Полученные результаты можно рассматривать с позиции потенциальной способности NO регулировать секрецию бронхиальной слизи, основным источником которой служат железы, располагающиеся в подслизистом слое бронхов. В работе Nagaki M. и соавт. эффект ингибиторов NO-синтазы L-NAME и L-NMMA на секрецию гликопротеинов муцина изучался при помощи определения осаждаемых трихлоруксусной кислотой гликоконъюгатов при исследовании эксплантов и изолированных подслизистых желез человека [180]. При этом ингибиторы NO-синтазы не оказывали непосредственного влияния на секрецию гликопротеинов, подавляя метахолин и брадикинин-индуцированную секрецию в изолированных железах [180]. Кроме того, изосорбида динитрат, как источник NO, способствовал значимому повышению секреции муцина. Результаты приведенного исследования свидетельствуют о стимулирующем эффекте эндогенного NO на выработку муцина подслизистыми железами респираторного тракта [180]. Существуют и другие секретогоги: фактор активации тромбоцитов, гистамин, ФНО α , стимулирующие выработку муцина в эпителиальных клетках трахеи морских свинок, однако данные эффекты блокировались при инкубации с ингибиторами NO-синтазы. Таким

образом, действие этих медиаторов также осуществляется с вовлечением внутриклеточного NO [37].

Ингибиторы NO-синтазы обладают способностью замедлять частоту биения ресничек эпителиоцитов респираторного тракта коров, стимулированных изопротеренолом, брадикинином, субстанцией Р. Данный эффект полностью обратим при добавлении предшественника NO L-аргинина, что свидетельствует об NO-зависимом механизме стимуляции двигательной активности ресничек вышеназванными соединениями [132, 133]. Циллиарная моторика также активируется под действием ФНО α и ИЛ-1 β , вырабатываемых альвеолярными макрофагами под действием индуцибельной NO-синтазы [133]. Это стимулирующее воздействие блокируется L-NMMA и восстанавливается при добавлении L-аргинина, подтверждая регулируемую роль индуцибельной NO-синтазы в его реализации [133].

Помимо активности моторики ресничек, эффективность мукоциллиарного клиренса определяется и свойствами жидкости, покрывающей респираторный эпителий, состав и объем которой, в свою очередь, зависит от транспорта электролитов. Функциональная активность ионных каналов также в значительной степени подвержена модулирующему действию NO [88]. Молекула NO активирует как апикальные анионные каналы, так и базолатеральные калиевые каналы по цГМФ-зависимому пути [88], выступая в качестве физиологического регулятора трансэпителиального ионного обмена.

Резюмируя вышеизложенное, компенсаторная гиперсекреция муцина и восстановление жидкости, покрывающей респираторный эпителий, после его иссушения в условиях гипервентиляции сухого холодного воздуха при интенсивной нагрузке у спортсменов, связаны с активацией продукции NO, что подтверждается результатами настоящего исследования (рис. 40).

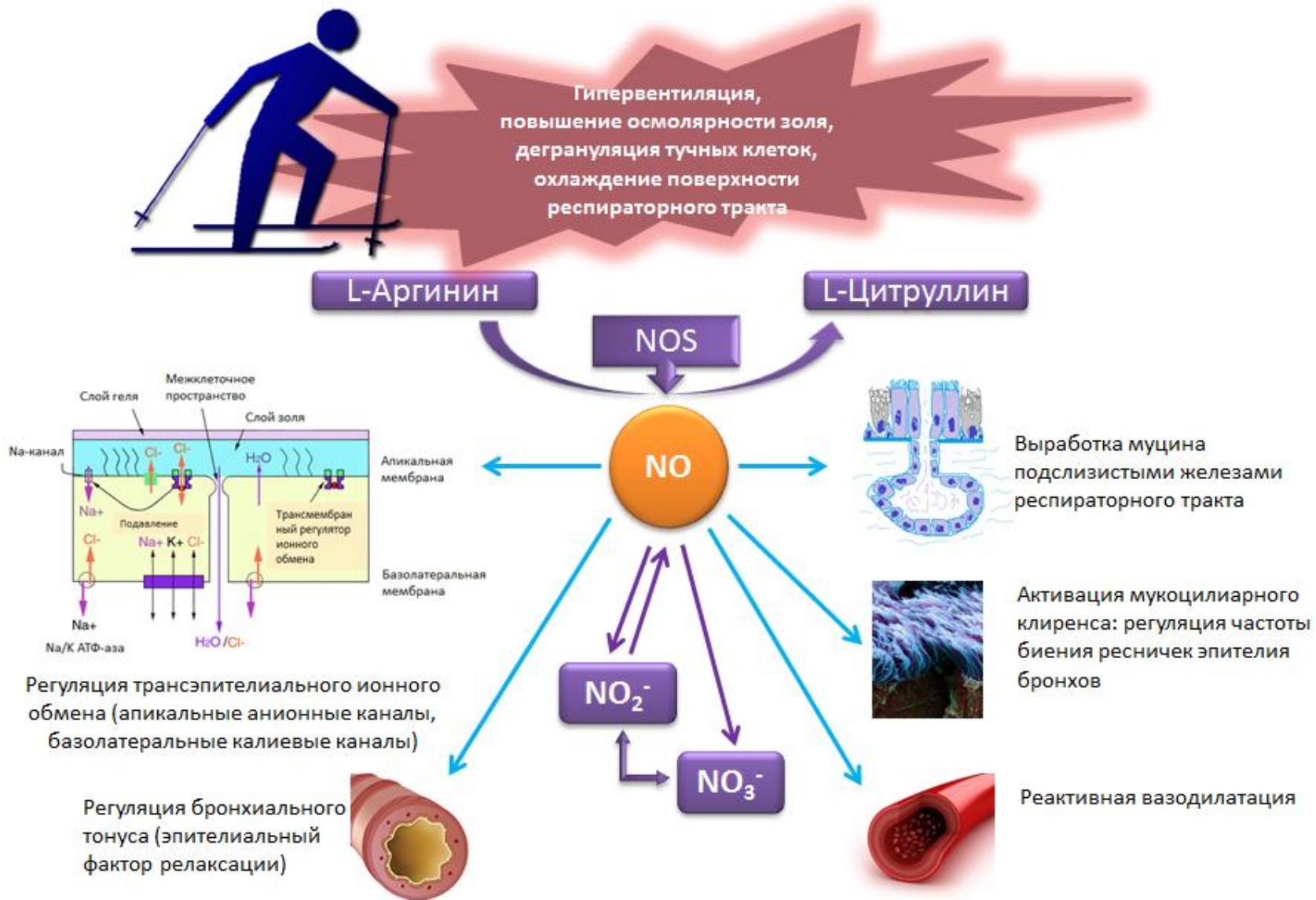


Рис. 40. Особенности метаболизма оксида азота у лыжников и биатлонистов.

Не менее значимый аргумент в пользу более интенсивной продукции NO в дыхательных путях атлетов, занимающихся зимними видами спорта, - экспериментально подтвержденная способность эндогенного NO оказывать модулирующее влияние на бронхиальную гиперреактивность (БГР), индуцируемую различными медиаторами. Так, в 1993 году Nijkamp и соавт. выявили гистамин-индуцированную бронхоконстрикцию у морских свинок под действием ингибитора NO-синтазы *in vivo*, а также дозозависимое сокращение гладкой мускулатуры трахеальной трубки морской свинки под действием гистамина *in vitro* [183]. В исследовании Ricciardolo и соавт. была продемонстрирована NO-зависимая регуляция бронхоконстрикции, индуцированной брадикинином, лимонной кислотой, селективным агонистом тахикинина NK1 и протеаз-активируемым рецептором 2 у морских свинок [200-204].

Внутрипросветная перфузия препаратов интактной трахеальной трубки морских свинок брадикинином, эндотелином-1, субстанцией P, аденозином и кальцитонин ген-связанным белком приводила к дозозависимой релаксации [38, 92, 95-97, 184]. При этом добавление ингибитора NO-синтазы сопровождалось сокращением трахеальной трубки, что подтверждает NO-зависимый механизм расслабления дыхательных путей. Этот же эффект воспроизводился при удалении респираторного эпителия. Следовательно, эпителий респираторного тракта является основным источником эндогенного NO, препятствующего бронхоконстрикции под действием различных триггеров. Приведенные результаты исследований подчеркивают значимую роль респираторного эпителия в регуляции БГР, он является не просто физиологическим барьером между бронхоконстрикторными стимулами и гладкими миоцитами, а модулятором бронхиального тонуса посредством высвобождения эпителиальных факторов расслабления.

Дальнейшие исследования продемонстрировали быстрое (в пределах 2х секунд) высвобождение NO в респираторном эпителии морских свинок, индуцированное брадикинином. Данный феномен отсутствовал в собственном слое,

свободном от ионов кальция [201]. Следовательно, эндогенное высвобождение NO с целью бронхопротекции происходит при участии кальций-зависимой конститутивной NO-синтазы.

Дополнительным механизмом реализации бронхопротективных свойств NO в дыхательных путях является цГМФ-зависимый эффект гладких миоцитов бронхов. Так, было продемонстрировано индуцированное брадикинином увеличение содержания цГМФ в дыхательных путях морских свинок. Данный эффект блокировался при добавлении ингибиторов NO-синтазы, что свидетельствует о роли цГМФ в качестве конечного медиатора NO-зависимой эпителиальной бронхопротекции [95].

Рецидивирующие инфекции и экспозиция аллергенов в условиях нагрузочной гипервентиляции способствуют развитию БГР у спортсменов. Исследования, проведенные *in vitro* и *in vivo*, показали, что БГР, вызванная экспозицией аллергенов, не усиливается при предварительном добавлении ингибиторов NO-синтазы [84, 167, 215]. Вирус-индуцированная БГР полностью блокируется при экспозиции L-аргинина [98], что демонстрирует взаимосвязь данного синдрома с дефицитом эндогенного NO. Также установлено, что дефицит выработки NO конститутивной NO-синтазой у морских свинок ведет к прогрессированию БГР в рамках ранней аллергической реакции (4-6 часов после экспозиции аллергена), а восстановление уровня NO при помощи индуцибельной NO-синтазы способствует обратному развитию БГР в более поздние сроки (24-48 часов). Такие выводы были сделаны на основании отсутствия эффекта от ингаляции специфического ингибитора индуцибельной NO-синтазы аминогуанидина на гистамин-индуцированную БГР после ранней аллергической реакции и значимой активации снижающейся БГР при ингаляции препарата в фазу позднего аллергического ответа [216].

В подтверждение вышеизложенного, Toward и Broadley установили, что ингаляция липополисахаридов морскими свинками подавляла продукцию NO со снижением его содержания в респираторном тракте, что совпадало с увеличением

гистамин-индуцированной гиперреактивности (через час после экспозиции) [232]. Через 48 часов после ингаляции БГР к гистамину уменьшалась одновременно с повышением уровня метаболитов NO в бронхоальвеолярном лаваже, предполагая возобновление синтеза NO при активации экспрессии гена индуцибельной NO-синтазы под действием NF- κ B [158, 170].

У обследованных в настоящей работе спортсменов с БФН уровень NO в выдыхаемом воздухе до нагрузки был значимо ниже, а уровень NO₂- в КВВ – достоверно выше показателей группы спортсменов без БФН. Если роль NO выд при атопической астме в сочетании с БФН несомненна, имеет объемную доказательную базу и рассматривается в качестве предиктора БФН, то ее роль при изолированном субклиническом БФН в спорте остается дискуссионной. Подтверждением неоднозначной интерпретации NO у спортсменов и, отчасти, объяснением более низких показателей у обследованных с БФН являются результаты исследования Voutilainen M. и соавт. [236] по оценке NO выд в качестве предиктора бронхиальной гиперреактивности и астмы у 87 атлетов и 87 лиц, не занимающихся спортом, с респираторными симптомами. У спортсменов не было выявлено взаимосвязи между повышенным уровнем NO выд (30 ppb) и функциональными критериями астмы (метахолиновый тест, эукапническая гипервентиляция). Чувствительность и специфичность параметра составили 55% и 71%, соответственно [236]. Напротив, лица, не занимающиеся спортом, продемонстрировали значимую ассоциацию NO выд с функциональными критериями астмы. Вероятно, регулярные физические нагрузки оказывают дополнительное влияние на продукцию NO в респираторном тракте спортсменов, что следует принимать во внимание при интерпретации показателя NO выд в данной популяции [236].

В настоящем исследовании также определены особенности содержания метаболитов NO в КВВ спортсменов в различные периоды годового цикла тренировки. В соревновательном периоде выявлено достоверно большее содержание 3-нитротирозина в КВВ. Вместе с тем, в этом периоде отмечено достоверно меньшее

содержание СКНН в КВВ при сопоставимых с подготовительным периодом значениях NO выд. В соответствии с современными представлениями о метаболизме NO, достоверное снижение $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ к соревновательному периоду, вероятно, связано с «дефицитом потребления», т.е. их расходом на нитрование тирозина (рис. 41).

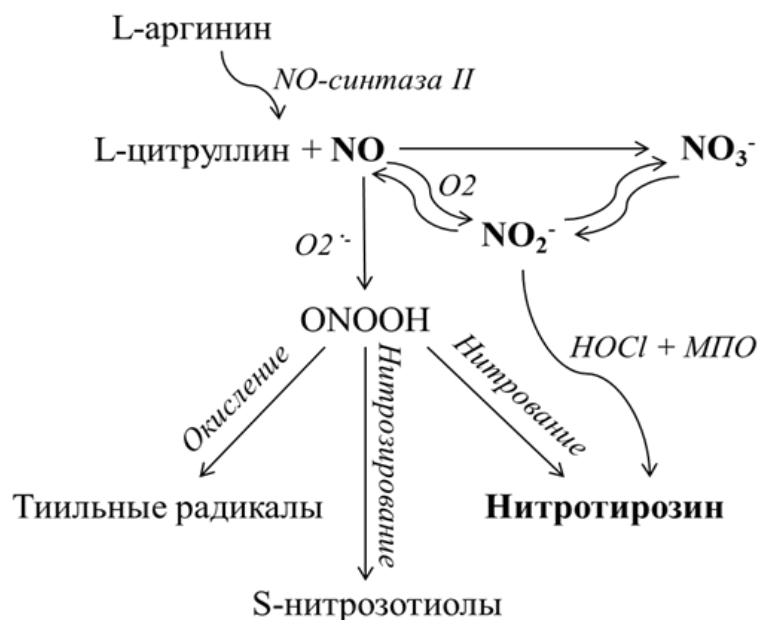


Рис. 41. Метаболизм NO, синтез активных соединений азота. NO_2^- - нитрит анион; NO_3^- - нитрат анион; ONOON - пероксиазотистая кислота; MPO - миелопероксидаза; HOCl – хлорноватистая кислота.

Таким образом, перечисленные выше NO-зависимые механизмы бронходилатации, активации мукоциллиарного клиренса, бронхотективные свойства NO в отношении БГР приобретают решающее значение в условиях повышенной нагрузки на респираторный тракт спортсменов, в особенности представителей аэробных зимних видов спорта. Можно предполагать существование адаптивных особенностей функционирования эпителия дыхательных путей и метаболизма NO у лыжников и биатлонистов (рис. 41). Так, сравнение показателей динамической спирометрии в подготовительном периоде тренировочного цикла (начальный этап интенсивной подготовки к соревнованиям) у спортсменов в

зависимости от динамики NO выд продемонстрировало достоверно большие значения ФЖЕЛ, ОФВ₁, МОС₂₅₋₇₅ у обследованных с повышением или стабильными уровнями NO выд после нагрузки, что, вероятно, связано с активацией NO-опосредованных защитных механизмов в эпителии респираторного тракта. С другой стороны, в соревновательном периоде положительная динамика NO выд у спортсменов, напротив, сопровождалась достоверно меньшими значениями мгновенных объемных скоростей как исходно, так и после тренировки, что позволяет предполагать истощение данных компенсаторных механизмов.

Следует отметить, что спортсмены с диагностированным БФН характеризовались достоверно меньшими исходными значениями NO выд. Этот важный и приоритетный результат настоящей работы имеет практическую составляющую, т.к. данный показатель может служить информативным инструментом скрининга в диагностическом алгоритме выявления БФН на начальном его этапе. Использование порогового уровня NO выд ≤ 14 ppb на начальном этапе скрининга позволит оптимизировать диагностику данного синдрома, ограничить объем и сократить контингент спортсменов для более детального обследования и выполнения непрямых провокационных тестов при уровне чувствительности показателя 77,8%.

Таким образом, модификация метаболизма NO у обследованных спортсменов с БФН и ее вклад в реализацию данного синдрома схематически представлены на рисунке 42.

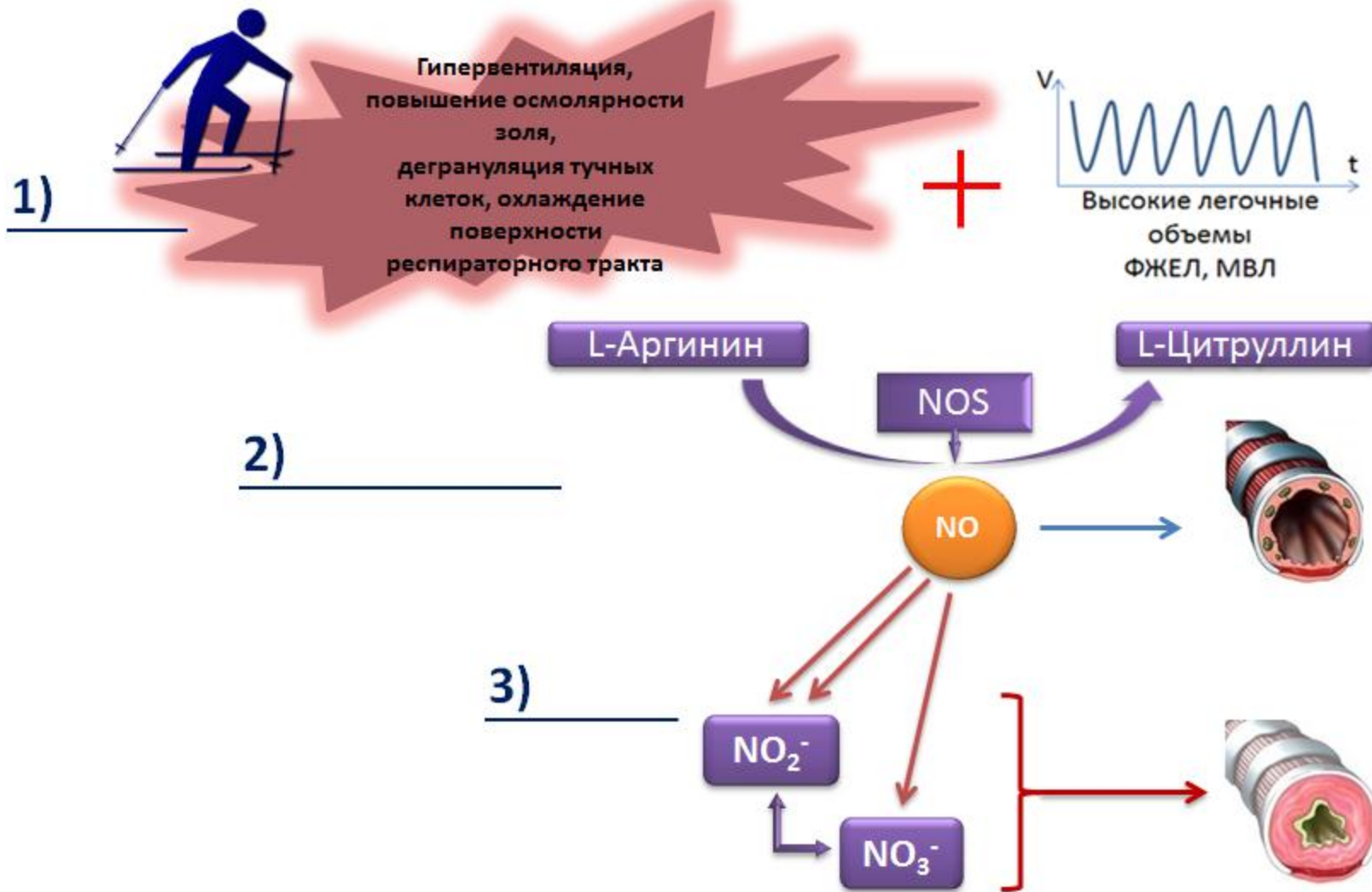


Рис. 42. Роль NO в формировании БФН у лыжников и биатлонистов.

4.4. Результаты кардио-респираторного тестирования лыжников и биатлонистов, взаимосвязь эргоспирометрических показателей с уровнем NO в выдыхаемом воздухе

Эргоспирометрия или, кардиореспираторное нагрузочное тестирование, позволяет одновременно оценивать основную функцию сердечно-сосудистой и дыхательной систем, заключающуюся в газообмене между клетками и окружающей средой (или, аэробную работоспособность) [9, 171]. Исследование газообмена - определяющий подход для понимания механизмов, лимитирующих работоспособность, поскольку нагрузка требует совместной реакции сердечной и легочной систем для поддержания мышечного дыхания, необходимого для ее выполнения.

Основной функцией сердечно-сосудистой и дыхательной систем является поддержание клеточного дыхания. Слаженность взаимодействия функционирования этих систем отражена в потреблении кислорода (O_2) и выделении углекислоты (CO_2) в ответ на определенный уровень работы и их отношение к частоте сердечных сокращений, вентиляции и друг к другу (рис. 43).

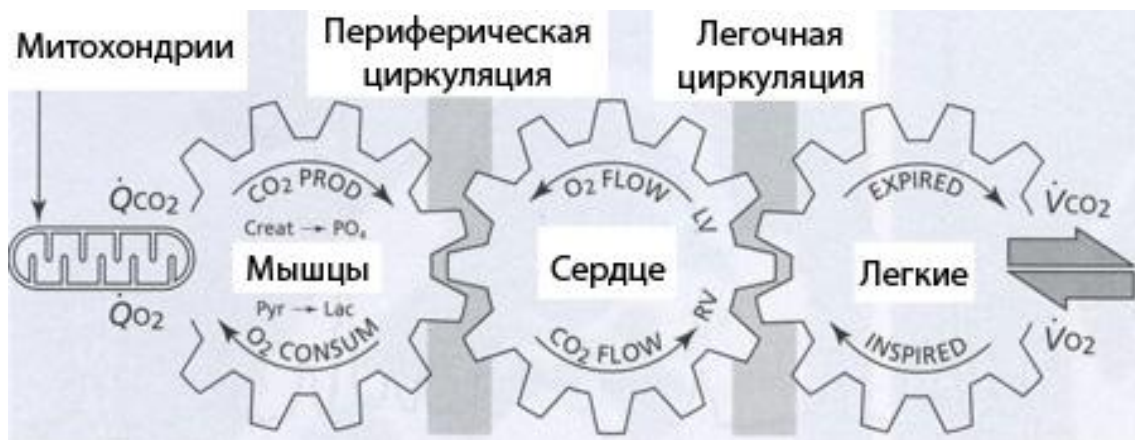


Рис. 43. Схема зубчатых колес: взаимосвязь клеточного и внешнего дыхания (K. Wasserman) [212].

Большинство показателей, определяемых методом эргоспирометрии, являются неинвазивными, и могут быть проведены в современной функционально-

диагностической лаборатории [1, 171], какой и является лаборатория функциональной диагностики спортсмена. Таким образом, метод эргоспирометрии позволяет исследователю следующее: а) количественно оценить ограничение выполняемой нагрузки; б) изучить адекватность функционирования различных компонентов в единстве легочного и клеточного газообмена; в) определить систему органов, лимитирующую выполнение нагрузки; г) установить $\dot{V}O_2$, при котором наступает ограничение выполнения работы. Аэробная работоспособность, определяемая при кардиореспираторном тестировании спортсменов, является не только базисом для демонстрации высоких спортивных достижений, но и средством наилучшего и быстрого восстановления спортсменов после физических нагрузок.

Аэробная работоспособность особенно важна в циклических видах спорта. Высокие аэробные способности спортсмена – ключевой фактор восстановления как после длительной работы небольшой интенсивности, так и после мощных кратковременных нагрузок. В процессе анаэробных (рывковых, силовых кратковременных) нагрузок накапливаются продукты распада, для восстановления которых, а также для процессов суперкомпенсации требуется поступление достаточного количества кислорода. Успешная ликвидация «кислородного долга» – залог процессов восстановления и тренированности спортсмена. Таким образом, дыхательные (аэробные) процессы являются фундаментом для развития анаэробных систем [239].

Основными показателями аэробной выносливости являются максимальное потребление кислорода ($\dot{V}O_2 \max$) и анаэробный порог (АП). $\dot{V}O_2 \max$ представляет собой самое высокое потребление кислорода, которое может быть достигнуто в процессе динамической нагрузки, в которой задействованы большие группы мышц. Очевидно, что наивысший лимит утилизации O_2 является одним из показателей физической формы или тренированности [9]. Он обычно предопределен максимальным сердечным выбросом, содержанием O_2 крови, фракцией распределения сердечного выброса в работающие мышцы и возможностью

экстракции мышцами O_2 [239]. У тренированных спортсменов для обеспечения должным количеством кислорода требуется легочная вентиляция, достигающая на пике физической нагрузки до 200 мл/мин и выше. Но, тем не менее, фактором, лимитирующим аэробную работоспособность, наиболее часто является сердечно-сосудистая система.

Анаэробный порог - наивысшая интенсивность нагрузки, ЧСС или потребления кислорода при работе большой группы мышц, в течение которой производство лактата равно его утилизации [239]. Он представляет собой уровень потребления кислорода (VO_2) во время физической нагрузки, при которой аэробное производство энергии дополняется анаэробным энергопроизводством, что является отражением повышения уровня лактата и соотношения лактат/пируват в мышце и артериальной крови [9, 239]. Для оценки производительности сердечной мышцы применяют такой показатель, как кислородный пульс нагрузки, представляющий собой потребление кислорода на одно сердечное сокращение ($VO_2/ЧСС$), тренд которого в значительной мере отражает ударный объем сердца [239].

В настоящем исследовании кардио-респираторное тестирование было применено в лабораторном тредмил-тесте с целью изучения показателей аэробной емкости, а также с целью поиска взаимосвязей между данными показателями и продукцией NO в дыхательных путях лыжников и биатлонистов. В группе спортсменов мужского пола выявлены большие эргоспирометрические показатели тренированности. Полученные достоверные различия связаны с разницей в антропометрических параметрах у спортсменов представителей различного пола, имеющих определяющее значение для показателей газообмена на фоне нагрузки.

При сопоставлении показателей, характеризующих аэробную работоспособность, с NO выд у спортсменов также получены интересные результаты. Определены положительные корреляции $VO_2 \text{ max}$, мл/мин/кг с исходным и постнагрузочным NO выд. Следовательно, уровень NO выд находится в прямой взаимосвязи с основным критерием аэробной работоспособности атлета. Эти

результаты являются приоритетными и не представлены в ранее опубликованных работах. В данном контексте следует вновь вернуться к ранее упомянутому исследованию Verges S. и соавт., свидетельствующему об участии NO в процессе газообмена [234]. Определена отрицательная взаимосвязь между показателем динамики $\Delta NO\%$ и значениями кислородного пульса спортсменов. Таким образом, лучшие функциональные параметры сердечно-сосудистой системы, отражающие эффективность доставки кислорода в ткани, ассоциированы с более выраженным постнагрузочным снижением NO выдоха. Эти результаты настоящего исследования также получены впервые.

У обследованных в лабораторных условиях спортсменов мужчин исходный уровень NO_{выд} был достоверно выше по сравнению с показателем спортсменок. Подобные различия зафиксированы и в группе контроля при выполнении теста с нагрузкой на открытом воздухе. Обнаруженные половые различия согласуются с результатами исследования Zhang H. и соавт., участниками которого были здоровые дети [245], а также работы V. Braten по изучению динамики NO_{выд} при нагрузке у здоровых взрослых [70].

При сравнении эргоспирометрических показателей спортсменов с наличием и отсутствием БФН выявлена достоверно большая минутная вентиляция легких VE на уровне анаэробного порога. Это важный результат работы, подтверждающий главенствующую роль механизма повышения осмолярности жидкости, выстилающей дыхательные пути в патогенезе БФН. В свою очередь, повышение параметра VE определяет выраженность и скорость этих изменений. Выполненный анализ позволил сформулировать пороговое значение VE (АП) = 110 л/мин, превышение которого может рассматриваться в качестве дополнительного параметра скрининга БФН при прогностической ценности отрицательного результата 71,4%. Значимо меньший уровень кислородного пульса у спортсменов с БФН, вероятно, характеризует менее эффективную доставку кислорода на

периферию в условиях повышенной нагрузки на сердечно-сосудистую систему при бронхообструкции.

4.5. Особенности обмена цистеиниловых лейкотриенов у лыжников и биатлонистов

Клинические исследования свидетельствуют о ключевой роли cysLT в патогенезе бронхообструкции при астме в сочетании с БФН [108, 110, 112, 242]. Так, пациенты с астмой в сочетании с БФН демонстрировали достоверно большие уровни cysLT в конденсате выдыхаемого воздуха по сравнению с астмой без БФН, причем, показатели увеличивались после нагрузки и коррелировали с тяжестью бронхообструкции [156]. Лейкотриен В₄ обладает способностью активировать процессы хемотаксиса лейкоцитов, адгезии нейтрофилов к эндотелию, высвобождения протеаз и образования супероксида нейтрофилами, что выражается в усилении проницаемости капилляров. Лейкотриен С₄, D₄ и E₄ вызывают спазм гладкой мускулатуры, миграцию эозинофилов в очаг воспаления, гиперсекрецию слизи, пролиферацию гладкомышечных элементов стенки бронхов [156].

Помимо модулирующего воздействия на респираторный метаболизм NO, важным аспектом влияния интенсивных продолжительных нагрузок на слизистую бронхов у лыжников и биатлонистов является повторяющееся повреждение эпителия респираторного тракта, инициирующего воспаление [41, 109]. Увеличение количества нейтрофилов и слущенного цилиндрического эпителия в мокроте представителей многих видов спорта подтверждают данное предположение [109, 242]. Повышение количества нейтрофилов в мокроте, вероятно, носит вторичный характер по отношению к десквамации бронхиального эпителия при интенсивной физической нагрузке. При этом, нейтрофилы, привлеченные в слизистую дыхательных путей, наряду с альвеолярными макрофагами, индуцируют выработку cysLT [108, 242].

Эпителий респираторного тракта имеет достаточно ограниченные возможности синтеза cysLT , обладая способностью продуцировать эйкозаноиды через 15-липоксигеназу-1, о чем свидетельствует повышенный уровень 15S-гидроксиэйкозатетраеновой кислоты после провокационных тестов при БФН [114]. Респираторный эпителий также является важным источником PGE_2 , препятствующего развитию бронхообструкции при преднагрузочном ингаляционном введении [109]. Продукция PGE_2 снижается после нагрузочного тестирования у пациентов с астмой в сочетании с БФН, при этом повышается соотношение $\text{cysLT}/\text{PGE}_2$ (рис.43) [111]. У здоровых индивидов данное соотношение, напротив, повышается после нагрузки (рис. 44) [111].

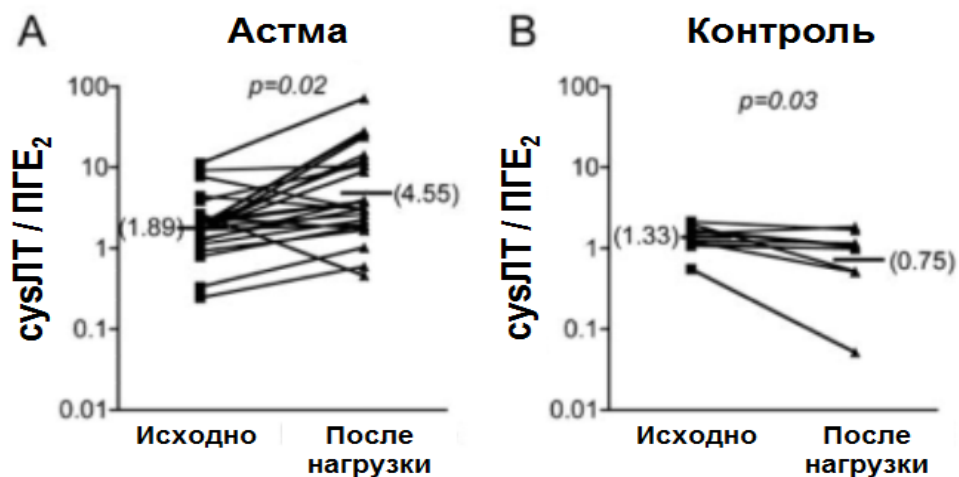


Рис. 44. Противоположенные эффекты нагрузочного тестирования на соотношение $\text{cysLT}/\text{PGE}_2$ в индуцированной мокроте [111].

Результаты приведенных исследований свидетельствуют о ключевой роли респираторного эпителия в регуляции бронхиального тонуса при БФН посредством активации высвобождения клетками воспаления эйкозаноидов с бронхоконстрикторными свойствами и снижения продукции PGE_2 при повторяющемся эпителиальном повреждении.

Темпы продукции cysLT взаимосвязаны с активностью фермента фосфолипаза A_2 , способствующего высвобождению арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов, причем в данный процесс вовлечены как цитозольная форма, так и

несколько секреторных форм фермента. Увеличенная активность секреторных форм фосфолипазы A2 была обнаружена в назальной лаважной жидкости человека после экспозиции аллергенов. Hallstrand и соавт. охарактеризовали экспрессию гена фосфолипазы A2 в клетках индуцированной мокроты пациентов с астмой в сочетании с БФН, обнаружив значимое повышение экспрессии ферментов секреторной фосфолипазы (сФЛ) типа II, X, IIА [114]. В последующих работах автора было изучено содержание секреторных фосфолипаз в бронхоальвеолярном лаваже пациентов с астмой и здоровых представителей группы контроля. Доминировало содержание фосфолипаз A2 типа IIА и X, но только уровень изофермента фосфолипазы A2 типа X оказался повышен и взаимосвязан с функциональными показателями легких и содержанием эйкозаноидов (рис. 45) [115].

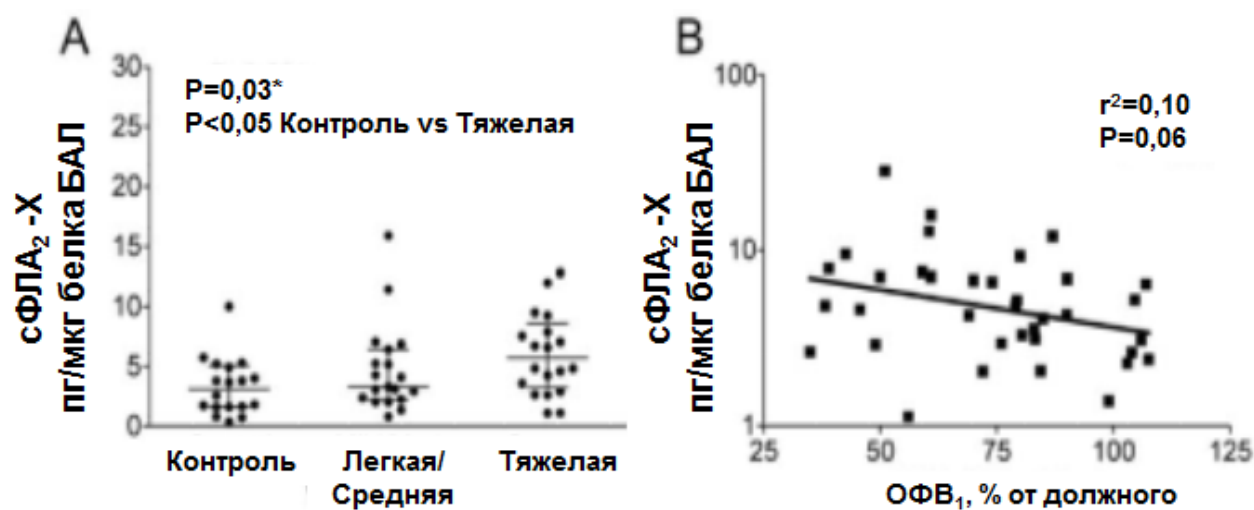


Рис. 45. Взаимосвязь уровня секреторной фосфолипазы A2-X в бронхоальвеолярном лаваже со степенью тяжести астмы и ОФВ₁ [115].

Следует отметить, что фосфолипаза A2-X секретируется преимущественно респираторным эпителием, поскольку содержание трансклутаминазы 2 повышено в дыхательных путях пациентов с БФН и служит регулятором активности фермента [148].

Исследование действия экзогенной фосфолипазы A2-X на клетки-мишени продемонстрировало быструю инициацию образования cys-ЛТ в эозинофилах человека посредством активации p38, c-Jun MAPK (JNK) и cPLA2 α *in vitro* [123]. *In vivo*, генетически детерминированный дефицит секреторной фосфолипазы A2-V или A2-X на мышинной модели астмы приводил к замедленному развитию аллергического воспаления и БГР [179, 229]. Полученные данные свидетельствуют о ключевой роли секреторной фосфолипазы A2-X в регуляции синтеза эйкозаноидов и развитии гиперреактивности бронхов в рамках синдрома БФН.

Также установлена способность LTD₄ воздействовать на изолированные капсаицин-чувствительные нейроны дыхательных путей через cysЛТ1 рецепторы, что сопровождается увеличением восприимчивости данных нейронов к прочим электрическим и химическим стимулам [149]. Два других исследования на экспериментальных моделях БФН у морских свинок и собак продемонстрировали, что механизм бронхоконстрикции опосредуется активацией чувствительных нервных волокон и ретроградной аксональной передачей с участием нейрокининов [73, 99]. Полученные данные согласуются с результатами исследования продукции муцина 5AC бокаловидными клетками человека [113]. Высвобождение муцина в просвет дыхательных путей при БФН сопровождается увеличением содержания cysЛТ и нейрокинина A, предполагая cysЛТ-опосредованную активацию чувствительных нервных волокон, приводящую к высвобождению муцина бокаловидными клетками при БФН [113].

Таким образом, исследования последних лет внесли ясность в понимание механизмов БФН как отдельного синдрома, сопровождающего течение астмы и характеризующегося увеличением продукции cysЛТ.

Поскольку в настоящем исследовании у спортсменов имело место снижение показателя ОФВ₁ после теста с нагрузкой при отсутствии характерной симптоматики астмы (приступы удушья и их эквиваленты) вне нагрузки, причиной более высокого уровня LTE₄ у лыжников и биатлонистов в сравнении с группой контроля, вероятно,

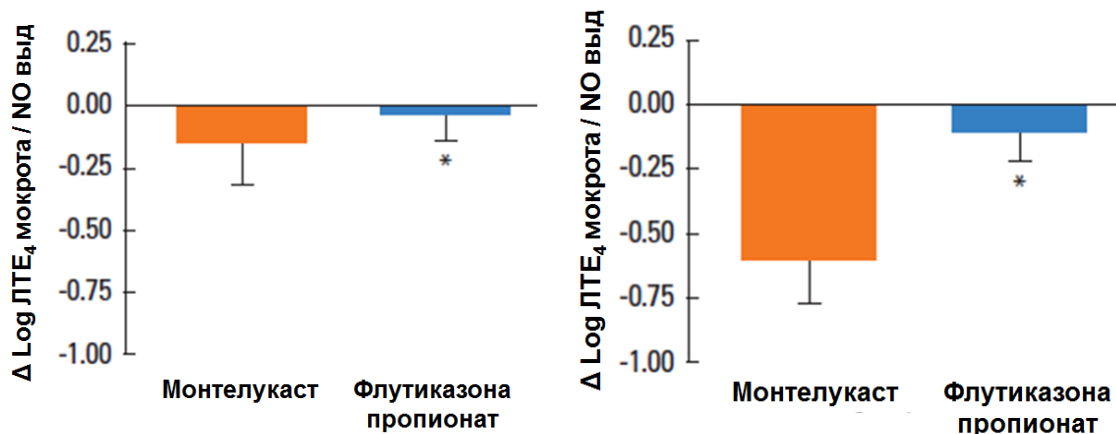
является увеличение продукции сусЛТ лейкоцитами, инфильтрирующими слизистую бронхов, в условиях чередующихся процессов повреждения и репарации респираторного эпителия. При этом, соревновательный период, являющийся заключительным этапом наиболее интенсивной части годового тренировочного цикла лыжников и биатлонистов, закономерно характеризовался значимо более высокими показателями ЛТЕ₄ в моче. Несмотря на отсутствие достоверных различий по данному показателю между спортсменами с наличием и отсутствием БФН, что может быть обусловлено малым объемом выборки атлетов с диагностированной бронхообструкцией, определены отрицательные взаимосвязи между ЛТЕ₄ и ОФВ₁ вследствие вышеуказанных механизмов действия сусЛТ в респираторном тракте.

В дополнение к вышеназванным предполагаемым механизмам повышения мочевой экскреции сусЛТ можно привести результаты исследования Caillaud и соавт., посвященного изучению динамики концентрации ЛТЕ₄ в плазме крови и моче на фоне интенсивной нагрузки у велосипедистов [73]. Было продемонстрировано значимое повышение мочевой экскреции и плазменной концентрации ЛТЕ₄ у профессиональных велосипедистов в ответ на нагрузку при среднем уровне 78% от пикового VO₂ с индукцией легкой гипоксемии (среднее снижение PO₂ составило 15 мм рт.ст.). При сходной интенсивности нагрузки и уровне снижения PO₂ в группе нетренированных индивидов показатель оставался неизменным. В группе спортсменов не было отмечено взаимосвязи между уровнем ЛТЕ₄ и параметрами спирометрии, диффузионной способности легких и PO₂. Исследователи заключили, что интенсивная нагрузка, сопровождающаяся легкой гипоксемией может способствовать росту темпа продукции ЛТЕ₄, и увеличение данного показателя не связано с изменениями функции легких [73]. Следует отметить, что приведенные данные согласуются с результатами исследования уровня ЛТЕ₄ в моче у лыжников и биатлонистов в сравнении с группой лиц, не занимающихся профессиональным спортом, выполненного в рамках настоящей работы.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют предположить увеличение продукции cysLT под действием интенсивной физической нагрузки в условиях низкой температуры окружающей среды у лыжников и биатлонистов.

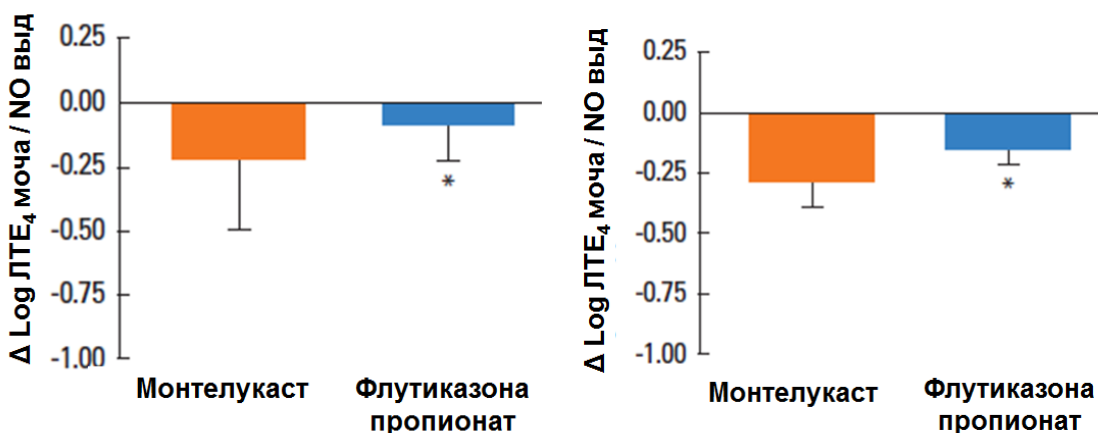
4.6. Соотношение LTE_4/NO выд и эффективность медикаментозной коррекции бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой

Уровень LTE_4 и NO выд в последние десятилетия получили значительное распространение в научной среде и клинической практике в качестве неинвазивных маркеров воспаления дыхательных путей при астме [36, 102, 103, 168]. Новым направлением в изучении данных маркеров стала оценка предиктивных свойств соотношения LTE_4/NO выд при астме [55, 196, 197]. В 2013 году была опубликована работа Ваек Н. и соавт., посвящена изучению соотношения LTE_4/NO выд в качестве предиктора терапевтической эффективности монтелукаста и флутиказона пропионата (ФП) у детей с астмой и БФН [55]. Обнаружено значительное увеличение LTE_4 в индуцированной мокроте после тредмил-теста, однако его уровень в моче не претерпел достоверных изменений после теста. Авторы также не отметили значимых различий по содержанию эозинофилов в индуцированной мокроте до и после проведения нагрузочного теста в обеих лечебных группах. Были определены более высокие параметры $\Delta\text{LTE}_4/\text{NO}$ выд в мокроте (рис. 46 А, Б) и моче (рис. 46 В, Г) пациентов группы монтелукаста. Антилейкотриеновая профилактика БФН сопровождалась лучшими постнагрузочными показателями ОФВ_1 в сравнении с применением флутиказона пропионата.



А) Исходно

Б) После тредмид-теста



В) Исходно

Г) После тредмил-теста

Рис. 46. Динамика соотношения ЛТЕ₄/NO выд на фоне теста с физической нагрузкой у пациентов, получавших терапию монтелукастом и ФП [55].

* - $p < 0,05$ по сравнению с группой монтелукаста.

Полученные результаты свидетельствовали о взаимосвязи соотношения ЛТЕ₄/NO выд с лучшим ответом на терапию монтелукастом при БФН у пациентов с астмой.

В настоящей работе показатель ЛТЕ₄/NO выд был максимальным у спортсменов с БФН и достоверно отличался в сравнении с группой контроля.

Несмотря на отсутствие альтернативного терапевтического режима, полученные результаты соотносятся с представленными выше, поскольку все спортсмены с установленным синдромом БФН продемонстрировали положительную динамику по окончании 10-дневного курса приема монтелукаста.

К преимуществам антилейкотриеновой профилактики БФН с использованием монтелукаста относятся хороший профиль безопасности препарата, однократный прием суточной дозы, повышающий приверженность пациентов к лечению, высокая эффективность и отсутствие толерантности [14-17, 72, 102, 242].

Протективные свойства монтелукаста в отношении БФН активно изучались в течение последних десятилетий с применением различных выборок пациентов, конечных точек для оценки эффективности терапии, продолжительности лечебного периода и дозы препарата [72, 89, 163, 196, 224, 235]. Установлена способность препарата подавлять немедленную и позднюю фазы патогенеза бронхоконстрикции [66, 141, 142]. В проспективном плацебо-контролируемом исследовании Bronsky и соавт. приняли участие 27 пациентов с БФН, прошедших провокационный тест с нагрузкой через 20-24 и 32-36 часов после приема монтелукаста в дозе от 0,4 до 50 мг. Значимый профилактический эффект однократной дозы препарата в сравнении с плацебо был отмечен только в первой контрольной точке (20-24 часа) [89]. В 12-недельном плацебо-контролируемом исследовании Leff и соавт. с участием 110 пациентов с астмой и БФН в возрасте от 15 до 45 лет был определен профилактический эффект монтелукаста по данным нагрузочного тредмил-теста [156].

Интерес представляют результаты сравнительной эффективности монтелукаста и длительно действующих β_2 -агонистов (ДДБА). Проспективное сравнительное исследование сальметерола и монтелукаста с участием 177 пациентов продемонстрировало уменьшение выраженности БФН уже на третий день лечебного периода в обеих группах [224]. Однако, утрата бронхопротективного эффекта

сальметерола была зарегистрирована на 4й и 8й неделях лечения, при сохранении стойкого терапевтического эффекта в группе монтелукаста [224]. Storms и соавт. обнаружили увеличение постбронходилатационного $ОФВ_1$ по окончании 4й недели терапии монтелукастом и плацебо при отсутствии динамики показателя и максимально низком уровне $ОФВ_1$ в группе сальметерола [224]. Причем пациенты, получавшие терапию монтелукастом, характеризовались значимым уменьшением выраженности БФН при отсутствии подобных изменений в группе сальметерола. Особое беспокойство авторов вызвало уменьшение количества β_2 -адренорецепторов на поверхности гладких миоцитов бронхов, что привело к снижению эффекта от применения короткодействующих β_2 -агонистов (КДБА) и тахифилаксии [224]. В рамках исследования Vidal и соавт., проведенного с целью сравнения эффективности монтелукаста и будесонида у 20 пациентов с астмой и БФН, определена более эффективная профилактика БФН при использовании будесонида у 16 пациентов (80%) по результатам тредмил-теста, тем не менее, оставшиеся 20% демонстрировали лучшие показатели $ОФВ_1$ на фоне терапии монтелукастом [163]. Авторы заключили, что необходим индивидуальный подход и тестирование эффективности данных препаратов у каждого пациента [163].

Приведенная выше доказательная база послужила основой для выбора монтелукаста с целью медикаментозной коррекции БФН у спортсменов в рамках настоящей работы. Препарат подтвердил свою эффективность в отношении профилактики БФН у лыжников и биатлонистов при использовании в качестве конечной точки значения $\Delta ОФВ_1, \%$ в тесте с нагрузкой на открытом воздухе при температурах ниже нулевой отметки. Так, средний показатель $\Delta ОФВ_1$ после 10-дневного курса приема препарата не был диагностически значимым и составил - 4,2% на 1й минуте после провокации и 1% через 5 минут. При этом, динамика функциональных показателей не сопровождалась изменением уровня $ЛТЕ_4$ в моче. Возможно, инертность показателя связана с достаточно коротким курсом профилактической терапии. Данные результаты согласуются с итогами двойного

слепого перекрестного плацебо-контролируемого исследования Mastaler L. И соавт., изучавшего эффективность монтелукаста при БФН у пациентов с аспириновой астмой и у пациентов с астмой при отсутствии непереносимости препарата [163]. Однократное применение монтелукаста в дозе 10 мг равноэффективно предотвращало развитие БФН в тесте с нагрузкой у пациентов обеих групп при отсутствии динамики уровня ЛТЕ₄ в моче [163].

Полученные результаты динамики показателей метаболизма NO у спортсменов на фоне терапии БФН монтелукастом носят приоритетный характер, поскольку объектом опубликованных работ по изучению данных параметров при антилейкотриеновой терапии являются пациенты с астмой [103, 177, 193]. Так, в исследовании del Giudice M. и соавт. показано наиболее выраженное снижение NO выд и повышение объемно-скоростных показателей ФВД у детей в возрасте 7-11 лет с атопической астмой, получавших терапию монтелукастом 5 мг в сутки в комбинации с будесонидом 400 мкг в сутки в сравнении с режимами монотерапии будесонидом 800 мкг и сочетания будесонид 400 мкг + формотерол 9 мкг в сутки [85]. В другом исследовании эффективности монотерапии монтелукастом в дозе 4 мг у детей от 2,5 до 5 лет зарегистрировано снижение бронхиальной гиперреактивности по результатам теста с ингаляцией аденозин-5-монофосфата, снижение резистентности дыхательных путей по данным динамической импульсной осциллометрии, а также уменьшение NO выд [193].

В настоящем исследовании исходный уровень NO выд оставался неизменным у спортсменов с БФН после лечения монтелукастом, однако впервые продемонстрировано изменение динамики показателя в ответ на нагрузку после лечения. Если до терапии монтелукастом у спортсменов с БФН регистрировалось повышение NO выд после нагрузки, то после 10-дневного курса приема препарата отмечено снижение постнагрузочного показателя. Отсутствие динамики донагрузочных значений NO выд может быть связано со спецификой воспаления дыхательных путей при изолированной БФН в отличие от атопической астмы, а

именно, с отсутствием эозинофильной инфильтрации слизистой при характерном нейтрофильном/смешанном варианте воспаления согласно опубликованным данным [120, 124, 128, 197, 212]. Это предположение подтверждается обнаруженными у спортсменов с БФН более низкими исходными параметрами NO выд. При анализе показателей NO выд, концентрации NO₂-, NO₃-, 3-нитротирозина в конденсате выдыхаемого воздуха достоверных различий выявлено не было, что обусловлено низкой распространенностью феномена БФН среди обследованных спортсменов и, как следствие, малым объемом выборки лыжников и биатлонистов, получавших лечение. Однако СКНН, наряду с ΔNO выд, имел тенденцию к снижению, преимущественно за счет фракции NO₂-. Полученная динамика NO выд свидетельствует о модулирующих свойствах противовоспалительной активности антилейкотриеновой терапии монтелукастом в отношении параметров респираторного метаболизма NO и компонентов нитрозивного стресса при БФН у спортсменов.

Результаты данного исследования и работ, опубликованных ранее, свидетельствуют, что препараты группы ЛТРА могут использоваться в качестве альтернативы профилактическому применению β₂-агонистов у лыжников и биатлонистов с БФН. Отсутствие значимых противопоказаний для применения антилейкотриеновых препаратов, хорошая переносимость, а также разрешение Международного Олимпийского комитета на их неограниченное использование являются дополнительными аргументами в пользу рекомендации применения этих средств у представителей зимних атлетических видов спорта.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, среди лыжников и биатлонистов составляет 21% при проведении непрямого провокационного теста с физической нагрузкой в условиях лаборатории при комнатной температуре и 6,5% - на открытом воздухе при температуре ниже нулевой отметки, что сравнимо с таковой у здоровых индивидов, не занимающихся спортом профессионально (7,8%). Показатели распространенности бронхоспазма физической нагрузки у спортсменов сопоставимы как в подготовительном, так и в соревновательном периоде годового тренировочного цикла.
2. У лыжников и биатлонистов особенностью клинического течения бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, является отсутствие субъективной симптоматики или ее минимальная выраженность (54% респондентов), в большинстве случаев проявляющаяся непродуктивным кашлем во время или в течение 5-10 минут после тренировки. Бронхообструкция носит легкий характер со снижением $ОФВ_1$ в пределах 15% от исходного значения на фоне достоверно большего исходного объема ФЖЕЛ у спортсменов и в группе контроля с бронхоспазмом, вызванным физической нагрузкой.
3. Определяется положительная взаимосвязь между постнагрузочным уровнем NO в выдыхаемом воздухе и базовыми показателями форсированной спирометрии (ФЖЕЛ $r_s=0,3$, $p<0,01$; $ОФВ_1$ $r_s=0,3$, $p<0,01$) у спортсменов.
4. У лыжников и биатлонистов со стажем профессиональных занятий спортом ≥ 3 лет достоверно повышается NO в выдыхаемом воздухе после нагрузки, а также суммарная концентрация нитратов/нитритов ($10,2\pm 0,7$ vs $7,1\pm 0,7$; $p<0,01$) и 3-нитротирозина ($9,3\pm 0,9$ vs $3,7\pm 0,2$; $p<0,01$) в конденсате выдыхаемого воздуха,

что свидетельствует об активизации синтеза NO в респираторном тракте спортсменов.

5. У спортсменов с диагностированным бронхоспазмом, вызванным физической нагрузкой, регистрируется значимо более низкий исходный NO в выдыхаемом воздухе (≤ 14 ppb) по сравнению со спортсменами без бронхообструкции. Этот параметр может быть использован в качестве порогового уровня для быстрого, воспроизводимого и неинвазивного скрининга, с чувствительностью 77,8%, предшествующего выполнению «золотого стандарта» диагностики бронхоспазма физической нагрузки – непрямым провокационным тестам.
6. Спортсмены с бронхоспазмом, вызванным физической нагрузкой, демонстрируют достоверно большие показатели минутной вентиляции легких на уровне анаэробного порога в сравнении с обследованными без бронхообструкции ($104,9 \pm 5,8$ vs $98,4 \pm 5,5$; $p < 0,05$). Повышение показателя >110 л/мин можно рассматривать в качестве фактора риска бронхообструкции. Регистрируется положительная корреляция уровня NO в выдыхаемом воздухе с максимальным потреблением кислорода, характеризующим аэробную мощность спортсменов, что свидетельствует об ассоциации повышения NO с возрастанием аэробных резервов у спортсменов.
7. У лыжников и биатлонистов имеет место достоверно более высокий уровень экскреции лейкотриена E_4 с мочой по сравнению с группой контроля. Определяется отрицательная взаимосвязь содержания лейкотриена E_4 с основными объемно-скоростными спирометрическими параметрами (ФЖЕЛ $r_s = -0,3$, $p < 0,01$; ОФВ₁ $r_s = -0,3$, $p < 0,01$). Уровень экскреции лейкотриена E_4 у спортсменов не отличается в зависимости от наличия / отсутствия бронхообструкции.
8. Максимальный показатель соотношения уровня экскреции с мочой лейкотриена E_4 к содержанию NO в выдыхаемом воздухе (ЛТЕ₄/NO выд) регистрируется у лыжников и биатлонистов с диагностированным бронхоспазмом ($9,4 \pm 1,1$ vs

4,9±0,4 группы контроля; $p=0,006$), которые в дальнейшем отвечают на терапию монтелукастом.

9. Профилактическая антилейкотриеновая терапия монтелукастом является эффективным подходом к коррекции бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, у спортсменов и способствует восстановлению функциональных показателей внешнего дыхания и параметров метаболизма NO.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- Профессиональные занятия биатлоном и лыжными гонками необходимо рассматривать как фактор риска развития БФН. Рекомендованы следующие подходы к оптимизации алгоритма диагностики бронхообструкции у лыжников и биатлонистов:

1 этап диагностического поиска (анамнестические данные, клиника)

- Из субъективных симптомов принимать во внимание только ощущения затрудненного выдоха.

2 этап диагностического поиска (лабораторно-инструментальные данные)

- В ходе рутинного эргоспирометрического обследования спортсменов с целью определения динамики спортивной производительности следует уделять особое внимание спортсменам с высокими легочными объемами (ФЖЕЛ <5,5 л) в сочетании с объемом минутной вентиляции на уровне анаэробного порога более 110 л/мин. Таким спортсменам следует рекомендовать дополнительное функциональное обследование в соответствии с международными рекомендациями (эукапническая гипервентиляция, ингаляционные провокационные тесты).
- Инструментальный скрининг БФН может быть оптимизирован определением NO в выдыхаемом воздухе, что позволит ограничить выборку спортсменов с исходным показателем ≤ 14 ppb для более детального обследования (динамическая спирометрия, прямые провокационные тесты).

- При выявлении БФН у спортсмена оптимальная терапевтическая тактика заключается в назначении профилактической терапии блокаторами рецепторов лейкотриенов продолжительностью не менее 10 дней с последующим динамическим наблюдением и переводом спортсмена на немедикаментозный режим профилактики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабарсков Е.В. Монооксид углерода в выдыхаемом воздухе как маркер ацидоза у спортсменов / Е.В. Бабарсков, Л.В. Шогенова, З.Р. Айсанов, А.В. Черняк, А.Г. Чучалин // Пульмонология. - 2014.-№ 5.- С. 73-77.
2. Баранова И.А. Антилейкотриеновые препараты в лечении бронхиальной астмы / И.А. Баранова // Consilium medicum. – 2014. - № 11. - С. 18-22.
3. Белевский А. С. Бронхообструктивный синдром: причины и лечение /А. С. Белевский // Справочник поликлинического врача. – 2012. - № 3. - С. 24-27.
4. Зайков С. В. Спорт и бронхиальная астма / С. В. Зайков // Новости медицины и фармации в мире. Новости медицины и фармации в Украине. - 2012. - № 9. - С. 16-19.
5. Клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой// Пульмонология. - 2013. - № 4. - С. 13-28.
6. Княжеская Н.П. Возможности применения антагонистов лейкотриеновых рецепторов при разных фенотипах бронхиальной астмы / Н.П. Княжеская // Пульмонология. – 2014. - № 2. – С. 110-115.
7. Куликов Е.С. Молекулярные и фармакогенетические механизмы тяжелой бронхиальной астмы. / Е.С. Куликов, Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин, И.А. Деев, П.А. Селиванова, С.В. Федосенко, Н.А. Кириллова // Вестник Российской Академии Медицинских наук. – 2013. - № 3. С. 15-23.
8. Куликов Е.С. Молекулярные механизмы тяжелой бронхиальной астмы / Е.С. Куликов, Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин, И.А. Деев, П.А. Селиванова, С.В. Федосенко, Н.А. Кириллова // Молекулярная медицина. – 2013. - № 1. – С. 24-32.
9. Лелявина Т.А. Новый подход к выделению физиологических этапов механизма энергообеспечения во время возрастающей физической нагрузки у здоровых лиц и спортсменов / Т.А. Лелявина, Е.С. Семенова, И.В. Гижа, М.Ю. Ситникова, А.В.

- Березина, И.В. Бубнова, Е.В. Шляхто // Ученые записки университета имени П.Ф. Лесгафта. – 2012. - № 4(86). - С. 77-86.
- 10.Лисица А.В. Оксидативный стресс в патогенезе бронхиальной астмы: метод коррекции с помощью ингаляции фосфолипидных наночастиц / А.В. Лисица, С.К. Соодаева, И.А. Климанов, А.В. Аверьянов // Клиническая медицина. 2014. - № 10. - С. 45-52.
- 11.Межебовский В.Р. Эффективность лечения больных бронхиальной астмой с использованием антилейкотриенового препарата монтелукаст / В.Р. // Межебовский Клиническая фармакология и терапия. - 2015. - № 1. - С. 44-46.
- 12.Мещерякова Н.Н. Возможности применения экстрамелкодисперсной фиксированной комбинации беклометазона и формотерола в едином ингаляторе в качестве поддерживающей и симптоматической терапии / Н.Н. Мещерякова, А.С. Белевский // Практическая пульмонология - 2015 - № 1. – С. 88-92.
- 13.Ненашева, Н. М. Обострение бронхиальной астмы: лечение и профилактика// Русский медицинский журнал. Болезни дыхательных путей. - 2013. - № 29. - С. 1490-1495.
- 14.Новик Г.А. Бронхиальная астма физического напряжения и методы ее лечения / Г.А. Новик // Лечащий врач. – 2012. - № 6. – С. 27-34.
- 15.Новик Г.А. Бронхиальная астма физического напряжения и методы ее лечения / Г.А. Новик // Методические рекомендации под ред. проф. И.М. Воронцова. - СПб.: ГПМА, 2005. - 20с.
- 16.Новик Г.А. Роль и место антилейкотриеновых препаратов в лечении аллергических заболеваний / Г.А. Новик // Лечащий врач. - 2014. - № 3. - С. 75-82.
- 17.Новик Г.А. Роль и место антилейкотриеновых препаратов в лечении аллергических заболеваний / Г.А. Новик // Лечащий врач. - 2014. - № 3. - С. 75-82.
- 18.Овчаренко С.И. Бронхообструктивный синдром в практике врача-терапевта / С.И. Овчаренко // Справочник поликлинического врача. - 2011. - № 2. - С. 38-41.

19. Овчаренко С.И. Влияние длительной антиоксидантной терапии N-Ацетилцистеином на показатели оксидативного стресса у больных хронической обструктивной болезнью легких / С.И. Овчаренко, П.Ф. Литвицкий, В.А. Капустина // Фарматека, 2010. - № 20. - С. 84-89.
20. Овчаренко С.И. Что может улучшить контроль течения бронхиальной астмы / С.И. Овчаренко, А.Б. Смулевич, М.Н. Акулова // Consilium medicum. - 2010. - № 3. - С. 62-67.
21. Огородова Л. М. Клиническая фармакология бронхиальной астмы: учеб. пособие: [для послевуз. проф. образования врачей] / Л. М. Огородова, Ф. И. Петровский, Ю. А. Петровская; под ред. А. Г. Чучалина; Федер. агентство по здравоохранению и соц. развитию, Сиб. гос. мед. ун-т. - 2-е изд., доп. - Томск: СибГМУ. - 2006. - 157 с.
22. Огородова Л.М. Фармакотерапия тяжелой бронхиальной астмы у детей: внимание на ингаляционные кортикостероиды / Л.М. Огородова, Ф.И. Петровский // Педиатрическая фармакология. – 2011. - № 8(6). С. 40–48.
23. Озерская И.В. Мукоцилиарная система респираторного тракта при бронхиальной астме и аллергическом рините / И. В. Озерская, Н. А. Геппе, У. С. Малявина // Лечащий врач. - 2011. - № 9. - С. 17-20.
24. Петровский Ф.И. Цитокины и оксид азота при бронхиальной астме / Ф.И. Петровский, Ю.А. Петровская, Л.М. Огородова, В.Ю. Серебров // Бюллетень сибирской медицины. - 2002. - № 1. – С. 70-74.
25. Соодаева С.К. Механизмы формирования конденсата выдыхаемого воздуха и маркеры оксидативного стресса при патологиях респираторного тракта / С.К. Соодаева, И.А. Климанов // Пульмонология. - 2009. - № 2. - С. 113-119.
26. Соодаева С.К. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии / С.К. Соодаева, И.А. Климанов // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2009.- № 1. – С. 34-38.

27. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы окисления при болезнях органов дыхания / С.К. Соодаева // Пульмонология. - 2012. - № 1. - С. 5-10.
28. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма: новые перспективы в терапии / А.Г. Чучалин // Казанский медицинский журнал. – 2011. - № 5(92). – С. 676-684.
29. Чучалин А.Г. Динамика показателей окислительного стресса у больных, переносящих обострение бронхиальной астмы, на фоне ингаляционной терапии липосомальными препаратами / А.Г. Чучалин, С.К. Соодаева, А.В. Лисица, И.А. Климанов // Пульмонология. - 2010. - № 1. - С. 74-79.
30. Чучалин А.Г. Изменения метаболизма оксида азота при поллинозе и бронхиальной астме / А.Г. Чучалин, С.К. Соодаева, А.В. Лисица, И.А. Климанов // Пульмонология. - 2006. - № 4. - С. 30-32.
31. Чучалин А.Г. Новые перспективы в терапии бронхиальной астмы / А. Г. Чучалин // Пульмонология. – 2011. - № 4. – С. 5-12.
32. Чучалин А.Г. Российское респираторное общество. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы / А.Г. Чучалин, З.Р. Айсанов, А.С. Белевский, А.Ю. Бушманов, О.С. Васильева, И.К. Волков, Н.А. Геппе, Н.П. Княжеская, Н.Н. Мазитова, Н.Н. Мещерякова, Н.М. Ненашева, В.А. Ревякина, И.В. Шубин // Пульмонология. – 2014. - № 2. – С. 11–32.
33. Чучалин А.Г. Спорт и бронхиальная астма / А.Г. Чучалин // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2005. - № 2. - 3-5.
34. Чучалин А.Г. Федеральные клинические рекомендации Российского респираторного общества по использованию метода спирометрии / А.Г.Чучалин, З.Р. Айсанов, С.Ю. Чикина, А.В. Черняк, Е.Н. Калманова // Пульмонология. - 2014.-№ 6.-С.11-23.
35. Чучалин А.Г. Эффективность стратегий достижения и поддержания контроля над бронхиальной астмой в условиях реальной клинической практики: данные многоцентрового исследования / А.Г. Чучалин, А.С. Белевский, Л.М. Огородова, Е.С. Куликов // СТРЕЛА-АСТ Пульмонология. – 2010. - №1. – С. 80-86.

- 36.Юлиш Е.И. Роль лейкотриенов в развитии бронхообструктивного синдрома / Е.И. Юлиш, О.Е. Чырнышева, А.С. Тюрина // Здоровье ребенка. - 2013. - № 5(48). - С. 102-105.
- 37.Adler K.B. Hypersecretion of mucin in response to inflammatory mediators by guinea pig tracheal epithelial cells in vitro is blocked by inhibition of nitric oxide synthase / K.B. Adler, B.M. Fischer, H. Li, et al. // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. – 1995. – Vol.13. – P. 526–30.
- 38.Ali. S. Adenosine receptor-mediated relaxation of rabbit airway smooth muscle: a role for nitric oxide / S. Ali, W.J. Metzger, H.A. Olanrewaju, et al. // Am. J. Physiol. – 1997. – Vol. 273. – P. 581–587.
- 39.An Official ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for Clinical Applications. Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2011. – Vol. 184. – P. 602–615.
- 40.Anderson S.D. Airway injury as a mechanism for exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes / S.D. Anderson, P. Kippelen // J. Allergy Clin. Immunol. – 2008. – Vol. 122. – P. 225-235.
- 41.Anderson S.D. Assessment and prevention of exercise-induced bronchoconstriction / S.D. Anderson, P. Kippelen // Br. J. Sports Med. – 2012. – Vol. 46, № 6. P. 391-396.
- 42.Anderson S.D. Asthma provoked by exercise, hyperventilation, and the inhalation of non-isotonic aerosols / S.D. Anderson // In: Barnes P.J., Rodger I.W., Thomson N.C. editors. Asthma: Basic Mechanisms and Clinical Management. 2nd ed. London: Academic Press. – 1992. - P. 473-490.
- 43.Anderson S.D. Bronchial challenge tests: usefulness, availability and limitations / S.D. Anderson // Breathe. – 2011. – Vol. 8., № 1. – P. 53-60.
- 44.Anderson S.D. Dry air and hyperosmolar challenge in asthma and rhinitis / S.D. Anderson, A. Togias // Asthma and Rhinitis. Boston: Blackwell Scientific Publications Inc. - 1994. - P. 1178-1195.

45. Anderson S.D. Exercise-induced bronchoconstriction: Pathogenesis / S.D. Anderson, P. Kippelen // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2005. – Vol. 5. – P. 116-122.
46. Anderson S.D. Indirect challenge tests / S.D. Anderson // *Chest.* – 2010. – Vol. 138. – P. 25–30.
47. Anderson S.D. Laboratory protocol for exercise asthma to evaluate salbutamol given by two devices / S.D. Anderson, S. Lambert, J.D. Brannan, et al. // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2001. – Vol. 33. – P. 893–900.
48. Anderson S.D. Methods for 'indirect' challenge tests including exercise, eucapnic voluntary hyperpnea and hypertonic aerosols / S.D. Anderson, J.D. Brannan // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2003. – Vol. 24. – P. 63–90.
49. Anderson S.D. Reproducibility of the airway response to an exercise protocol standardized for intensity, duration, and inspired air conditions, in subjects with symptoms suggestive of asthma / S.D. Anderson, D.S. Pearlman, K.W. Rundell, et al. // *Respir. Res.* – 2010. Vol. 11. – P. 120.
50. Anderson S.D. β 2-agonists and exercise-induced asthma / S.D. Anderson, C. Caillaud, J.D. Brannan // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2006. – Vol. 31. – P. 163-180.
51. Araneda O.F. Exhaled breath condensate analysis after long distance races / O.F. Araneda, A.J. Guevara, C. Contreras et al. // *Int. J. Sports Med.* – 2012. – Vol. 33, №12. – P. 955-961.
52. Ashutosh K. Nitric oxide and asthma: a review / Ashutosh K. // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2000. – Vol. 6, №1. – P. 21-25.
53. ATS/ACCP Statement on Cardiopulmonary Exercise Testing. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 2003. – Vol. 167. – P. 211–277.
54. ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 171. – P. 912–930.
55. Baek H-S. Ratio of leukotriene E4 to exhaled nitric oxide and the therapeutic response in children with exercise-induced bronchoconstriction / H-S. Baek, C. Juhwan, J-H.

- Kim, J-W. Oh, H-B. Lee // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2013. – Vol. 5, №1. P. 26-33.
56. Baki A. The effect of loratadine in exercise-induced asthma / A. Baki, F. Orhan // *Arch. Dis. Child.* – 2002. – Vol. 86. – P. 38-39.
57. Baluk P. The beta 2-adrenergic receptor agonist formoterol reduces microvascular leakage by inhibiting endothelial gap formation / P. Baluk, D.M. McDonald // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 1994. – Vol. 266. – P. 461-468.
58. Banner A.S. Relation of respiratory water loss to coughing after exercise / A.S. Banner, J. Green, M. O'Connor // *N. Engl. J. Med.* 1984. – Vol. 311. – P. 883-886.
59. Baraldi, E. Effect of natural grass pollen exposure on exhaled nitric oxide in asthmatic children / E. Baraldi, S. Carrà, C. Dario, N. Azzolin, R. Ongaro, G. Marcer, F. Zacchello // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 1999. – Vol. 159. – P. 262–266.
60. Barnes P.J. Exhaled nitric oxide in pulmonary diseases a comprehensive review // *Chest.* – 2010. – Vol. 138, №3. – P. 682–692.
61. Barreto M. 8-Isoprostane in exhaled breath condensate and exercise-induced bronchoconstriction in asthmatic children and adolescents / M. Barreto, M. Pia Villa, C. Olita et al. // *Chest.* – 2009. – Vol. 135. – P. 66-73.
62. Baumann J.M. Effects of cysteine donor supplementation on exercise-induced bronchoconstriction / J.M. Baumann, K.W. Rundell, T.M. Evans, A.M. Levine // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2005. – Vol. 37, №9. – P. 1468-1473.
63. Belda J. Airway inflammation in the elite athlete and type of sport / J. Belda, S. Ricart, P. Casan, et al. // *Br. J. Sports Med.* – 2008. – Vol. 42. – P. 244-248.
64. Berger P. Immunoglobulin E-induced passive sensitization of human airways: an immunohistochemical study / P. Berger, A.F. Walls, R. Marthan, J.M. Tunon-de-Lara // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998. – Vol. 157. – P. 610-616.
65. Bonsignore M.R. Airway cells after swimming outdoors or in the sea in nonasthmatic athletes / M.R. Bonsignore, G. Morici, L. Riccobono, M. Profita, A. Bonanno, A. Paterno, et al. // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2003. – Vol. 35. – P. 1146-1152.

66. Bonsignore M.R. Airway inflammation in nonasthmatic amateur runners / M.R. Bonsignore, G. Morici, L. Riccobono, G. Insalaco, A. Bonanno, M. Profita, A. Paternò, C. Vassalle, A. Mirabella, A.M. Vignola // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2001. – Vol. 281. – P. 668-676.
67. Bradding P. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma / P. Bradding, A.F. Walls, S.T. Holgate // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – Vol. 117. – P. 1277-1284.
68. Brannan J.D. Inhibition of mast cell PGD₂ release protects against mannitol-induced airway narrowing / J.D. Brannan, M. Gulliksson, S.D. Anderson, N. Chew, J.P. Seale, M. Kumlin // *Eur. Respir. J.* – 2006. – Vol. 27. – P. 944-950.
69. Brannan J.D. Monitoring asthma therapy using indirect bronchial provocation tests / J.D. Brannan, H. Koskela, S.D. Anderson // *Clin. Respir. J.* – 2007. – Vol. 1. – P. 3–15.
70. Braten V. Master thesis in sport sciences, Department of Sports Medicine Norwegian School of Sport Sciences, 2010.
71. Broeckaert F. Serum Clara cell protein: a sensitive biomarker of increased lung epithelium permeability caused by ambient ozone / F. Broeckaert, K. Aarsalane, C. Hermans, E. Bergamaschi, A. Brustolin, A. Mutti, et al. // *Environ. Health Perspect.* – 2000. – Vol. 108. – P. 533-537.
72. Bronsky E.A. Dose-related protection of exercise bronchoconstriction by montelukast, a cysteinyl leukotriene-receptor antagonist, at the end of a once-daily dosing interval / E.A. Bronsky, J.P. Kemp, J. Zhang, D. Guerreiro, T.F. Reiss // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 1997. – Vol. 62, №5. – P. 556–561.
73. Caillaud C. Strenuous exercise increases plasmatic and urinary leukotriene E₄ in cyclists / C. Caillaud, C. Le Creff, P. Legros, A. Denjean // *Can. J. Appl. Physiol.* – 2003. – Vol. 28, №6. – P. 793-806.
74. Carlsen K.H. Exercise induced bronchoconstriction depends on exercise load / K.H. Carlsen, G. Engh, M. Mørk // *Respir. Med.* – 2000. – Vol. 94. – P. 750–755.

75. Carroll N.G. Distribution and degranulation of airway mast cells in normal and asthmatic subjects / N.G. Carroll, S. Mutavdzic, A.L. James // *Eur. Respir. J.* – 2002. – Vol.19, 15. – P. 879-885.
76. Carroll N.G. Increased mast cells and neutrophils in submucosal mucous glands and mucus plugging in patients with asthma / N.G. Carroll, S. Mutavdzic, A.L. James // *Thorax.* – 2002. – Vol. 57. – P.677-682.
77. Chetta A. Therapeutic approach to vascular remodelling in asthma / A. Chetta, A. Zanini, D. Olivieri // *Pulm. Pharmacol. Ther.* – 2007. – Vol. 20. – P. 1-8.
78. Chimenti L. Bronchial epithelial damage after a half-marathon in nonasthmatic amateur runners / L. Chimenti, G. Morici, A. Paternò // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2010. – Vol. 298. – P. 857-862.
79. Cowan D.C. Exercise-induced wheeze: Fraction of exhaled nitric oxide-directed management / D.C. Cowan, R.S. Hewitt, J.O. Cowan, R. Palmay, A. Williamson, S.J. Lucas, C.J. Murrell, K.N. Thomas, D.R. Taylor // *Respirology.* – 2010. – Vol. 15, №4. - P. 683-90.
80. Crapo J.D. Oxidative stress as an initiator of cytokine release and cell damage / J.D. Crapo // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 22, №44. – P. 4–6.
81. Dahle'n S-E. Monitoring mast cell activation by prostaglandin D2 in vivo / S-E. Dahle'n, M. Kumlin // *Thorax.* – 2004. Vol.59. – P. 453-455.
82. Davis M.S. Cold weather exercise and airway cytokine expression / M.S. Davis, J.R. Malayer, L. Vandeventer, et al. // *J. Appl. Physiol.* – 2005. – Vol. 98, №6. – P. 2132-2136.
83. Daviskas E. Mathematical modelling of the heat and water transport in the human respiratory tract / E. Daviskas, I. Gonda, S.D. Anderson // *J, Appl, Physiol,* - 1990, - Vol.69. – P. 362-372.
84. de Boer J. Deficiency of nitric oxide in allergen-induced airway hyperreactivity to contractile agonists after the early asthmatic reaction: an ex vivo study / J. de Boer, H. Meurs, W. Coers, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 119. – P. 1109–1116.

85. Del Giudice M. Formoterol, montelukast, and budesonide in asthmatic children: effect on lung function and exhaled nitric oxide / M. del Giudice, G.L. Piacentini, M. Capasso, C. Capristo, N. Maiello, A.L. Boner, A.F. Capristo // *Respir. Med.* – 2007. – Vol. 101, №8. – P. 1809-1813.
86. Dessanges J.F. The effect of zafirlukast on repetitive exercise induced bronchoconstriction: the possible role of leukotrienes in exercise-induced refractoriness / J.F. Dessanges, C. Prefaut, A. Taytard, et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1999. – Vol. 104. – P. 1155–1161.
87. Dopsaj V. Gender-specific oxidative stress parameters / V. Dopsaj, J. Martinovic, M. Dopsaj et al. // *Int. J. Sports. Med.* – 2011. – Vol. 32, №1. – P. 14-19.
88. Duszyk M. The role of nitric oxide in the regulation of ion channels in airway epithelium: implications for diseases of the lung / M. Duszyk, M.W. Radomski // *Free Radic. Res.* – 2000. – Vol. 33. – P. 449–459.
89. Edleman J.M. Oral montelukast compared with inhaled salmeterol to prevent exercise-induced bronchoconstriction. A randomized, double-blind trial / J.M. Edleman, J.A. Turpin, E.A. Bronsky, et al. // *Ann. Intern. Med.* – 2000. – Vol. 132, №2. – P. 97–104.
90. Edmunds A. The refractory period after exercise-induced asthma: its duration and relation to the severity of exercise / A. Edmunds, M. Tooley, S. Godfrey // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1978. – Vol. 117. – P. 247-254.
91. ElHalawani S.M. Exhaled nitric oxide as a predictor of exercise-induced bronchoconstriction / S.M. ElHalawani, N.T. Ly, R.T. Mahon et al. // *Chest.* – 2003. – Vol. 124. - 639-643.
92. Emanuelli C. Characterization of the endothelin receptor subtypes mediating relaxant NO release from guinea pig trachea / C. Emanuelli, F.L.M. Ricciardolo, L. Vergnani, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 125. – P. 963–968.
93. Ercan H. Oxidative stress and genetic and epidemiologic determinants of oxidant injury in childhood asthma / H. Ercan, E. Birben, E.A. Dizdar, O. Keskin, C. Karaaslan, O.U. Soyer, et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006.- Vol. 118, №5. – P. 1097-1104.

94. Ferrari M. Evidence of the rapid protective effect of formoterol dry-powder inhalation against exercise-induced bronchospasm in athletes with asthma / M. Ferrari, F. Balestreri, S. Baratieri et al. // *Respiration*. – 2000. – Vol. 67, № 5. – P. 510–513.
95. Figini M. Evidence that epithelium-derived relaxing factor released by bradykinin in guinea-pig trachea is nitric oxide / M. Figini, F.L.M. Ricciardolo, P. Javdan, et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1996. – Vol. 153. – P. 918–923.
96. Figini M. Evidence that tachykinins relax the guinea-pig trachea via nitric oxide release and by stimulation of a septide-insensitive NK1 receptor / M. Figini, C. Emanuelli, C. Bertrand, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 1996. – Vol. – 117. – P. 1270–1276.
97. Filep J.G. Induction by endothelin-1 of epithelium-dependent relaxation of guinea-pig trachea in vitro: role for nitric oxide / J.G. Filep, B. Battistini, P. Sirois // *Br. J. Pharmacol.* – 1993. – Vol. 109. – P. 637–644.
98. Folkerts G. Virus-induced airway hyperresponsiveness in guinea pigs is related to a deficiency in nitric oxide / G. Folkerts, van der Linde, F.P. Nijkamp // *J. Clin. Invest.* – 1995. – Vol. 94. – P. 26–30.
99. Freed A.N. Neurokinins modulate hyperventilation-induced bronchoconstriction in canine peripheral airways / A.N. Freed, S. McCulloch, T. Meyers, R. Suzuki // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 167. – P. 1102–1108.
100. Gaston B. The biology of nitrogen oxides in the airways / B. Gaston, J.M. Drazen, J. Loscalzo, J.S. Stamler // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 1994. – Vol. 149. – P. 538–551.
101. Gilbert I.A. Heat and water flux in the intrathoracic airways and exercise-induced asthma / I.A. Gilbert, J.M. Fouke, E.R. McFadden // *J. Appl. Physiol.* – 1987. – Vol. 63. – P. 1681-1691.
102. Global Initiative for asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention [Электронный ресурс]. – 2014. - Режим доступа: <http://www.ginasthma.com>.

103. Gogate S. Pediatric biomarkers in asthma: exhaled nitric oxide, sputum eosinophils and leukotriene E4 / S. Gogate, R. Katial // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 154-157.
104. Gotshall R.W. Exercise-induced bronchoconstriction / R.W. Gotshall // *Drugs.* – 2002. – Vol. 62, №12. – P. 1725– 1739.
105. Greiff L. Effects of formoterol on histamine induced plasma exudation in induced sputum from normal subjects / L. Greiff, P. Wollmer, M. Andersson, C. Svensson, C.G. Persson // *Thorax.* – 1998. – Vol. 53. – P. 1010-1013.
106. Gulliksson M. Expression of 15-lipoxygenase type-1 in human mast cells / M. Gulliksson, A. Brunnstrom, M. Johannesson, L. Backman, G. Nilsson, I. Harvima, et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* - 2007 – Vol. 1771. – P. 1156-1165.
107. Hallstrand T.S. Airway immunopathology of asthma with exercise-induced bronchoconstriction / T.S. Hallstrand, M.W. Moody, M.L. Aitken, W.R. Jr. Henderson // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 116. – P. 586-593.
108. Hallstrand T.S. Epithelial regulation of eicosanoid production in asthma / T.S. Hallstrand, Y. Lai, W.R. Jr. Henderson, W.A. Altemeier, M.H. Gelb // *Pulm. Pharmacol. Ther.* – 2012. – Vol. 25, №6. – P. 432-437.
109. Hallstrand T.S. Inflammatory basis of exercise-induced bronchoconstriction / T.S. Hallstrand, M.W. Moody, M.M. Wurfel, L.B. Schwartz, W.R. Henderson Jr., M.L. Aitken // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172. – P. 679–686.
110. Hallstrand T.S. New insights into pathogenesis of exercise-induced bronchoconstriction / T.S. Hallstrand, T.M. Laidlaw, J.A. Boyce // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2012. – Vol. 12, №1. – P. 42-48.
111. Hallstrand T.S. Relationship between levels of secreted phospholipase A groups IIA and X in the airways and asthma severity / T.S. Hallstrand, Y. Lai, Z. Ni, R.C. Oslund, W.R. Henderson Jr., M.H. Gelb, S.E. Wenzel // *Clin. Exp. Allergy.* – 2011. – Vol. 41. – P. 801–810.

112. Hallstrand T.S. Role of leukotrienes in exercise-induced bronchoconstriction / T.S. Hallstrand, W.R. Jr. Henderson // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2009. – Vol. 9. – P. 18–25.
113. Hallstrand T.S. Role of MUC5AC in the pathogenesis of exercise-induced bronchoconstriction / T.S. Hallstrand, J.S. Debley, F.M. Farin, W.R. Jr. Henderson // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 119. – P. 1092-1098.
114. Hallstrand T.S. Secreted phospholipase A2 group X overexpression in asthma and bronchial hyperresponsiveness / T.S. Hallstrand, E.Y. Chi, A.G. Singer, M.H. Gelb, W.R. Jr. Henderson // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2007. – Vol. 176. – P. 1072-1078.
115. Hallstrand T.S. Transglutaminase 2, a novel regulator of eicosanoid production in asthma revealed by genome-wide expression profiling of distinct asthma phenotypes / T.S. Hallstrand, M.M. Wurfel, Y. Lai, Z. Ni, M.H. Gelb, W.A. Altemeier, R.P. Beyer, M.L. Aitken, W.R. Henderson // *PLoS One.* – 2010. – Vol. 5, №1. - e8583.
116. Hancox R.J. Beta2-agonist tolerance and exercise-induced bronchospasm / R.J. Hancox, P. Subbarao, D. Kamada, R.M. Watson, F.E. Hargreave, M.D. Inman // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 165. – P. 1068-1070.
117. Haney S. Rapid onset of tolerance to beta-agonist bronchodilation / S. Haney, R.J. Hancox // *Respir. Med.* – 2005. – Vol. 99. – P. 566-571.
118. Hashimoto S. Inhalant corticosteroids inhibit hyperosmolarity-induced, and cooling and rewarming-induced interleukin-8 and RANTES production by human bronchial epithelial cells / S. Hashimoto, Y. Gon, K. Matsumoto, I. Takeshita, S. Maruoka, T. Horie // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 162, - P. 1075-1080.
119. Hawksworth R.J. Albuterol HFA is as effective as albuterol CFC in preventing exercise-induced bronchoconstriction / R.J. Hawksworth, A.P. Sykes, M. Faris et al. // *Ann. Allergy Asthma. Immunol.* – 2002. – Vol. 88, №5. - P. 473–477.
120. Helenius I. Asthma, airway inflammation and treatment in elite athletes / I. Helenius, A. Lumme, T. Haahtela // *Sports. Med.* – 2005. – Vol. 35. – P. 565-574.

121. Helenius I.J. Asthma and increased bronchial responsiveness in elite athletes: atopy and sport event as risk factors / I.J. Helenius, H.O. Tikkanen, S. Sarna, T. Haahtela // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1998. – Vol. 101. – P. 646-652.
122. Hemingson H.B. Seasonal fluctuations in airway responsiveness in elite endurance athletes / H.B. Hemingson, B.E. Davis, D.W. Cockcroft // *Can. Respir. J.* – 2004. – Vol. 11. – P.399-401.
123. Henderson W.R. Jr. Importance of group X-secreted phospholipase A2 in allergeninduced airway inflammation and remodeling in a mouse asthma model / W.R. Henderson Jr., E.Y. Chi, J.G. Bollinger, Y.T. Tien, X. Ye, L. Castelli, Y.P. Rubtsov, A.G. Singer, G.K. Chiang, T. Nevalainen, et al. // *J. Exp. Med.* – 2007. – Vol. 204. – P. 865–877.
124. Hermansen C.L. Identifying exercise-induced bronchospasm. Treatment hinges on distinguishing it from chronic asthma / C.L. Hermansen, J.T. Kirchner // *Postgrad. Med.* – 2004. – Vol. 115. – P. 15-16, 21-25.
125. Hilberg T. Etiology of exercise-induced asthma: physical stress-induced transcription / T. Hilberg // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2007. – Vol. 7. – P. 27-32.
126. Hiltermann T.J. Asthma severity and susceptibility to air pollution / T.J. Hiltermann, J. Stolk, S.C. van der Zee // *Eur. Respir. J.* – 1998. – Vol. 11, №3. – P. 686-693.
127. Hofstra W.B. Dose-responses over time to inhaled fluticasone propionate treatment of exercise- and methacholine-induced bronchoconstriction in children with asthma / W.B. Hofstra, H.J. Neijens, E.J. Duiverman, J.M. Kouwenberg, P.G. Mulder, M.C. Kuethé, P.J. Sterk // *Pediatr. Pulmonol.* – 2000. – Vol. 29, №6. – P. 415-423.
128. Holzer K. Exercise in elite summer athletes: challenges for diagnosis / K. Holzer, S.D. Anderson, J. Douglass // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2002. – Vol. 110. - P. 374-80.
129. Holzer K. Mannitol as a challenge test to identify exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes / K. Holzer, S.D. Anderson, H-K. Chan, J. Douglass // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 167. – P. 534-547.

130. Hull J.H. Approach to the diagnosis and management of suspected exercise-induced bronchoconstriction by primary care physicians / J.H. Hull, P.J. Hull, J.P. Parsons, J.W. Dickinson, L..Ansley // *BMC Pulm. Med.* – 2009. – Vol. 9. – P. 29.
131. Hwang S.W. Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances / S.W. Hwang, H. Cho, J. Kwak, S.Y. Lee, C.J. Kang, J. Jung, et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol. 97. – P. 6155-6160.
132. Jain B. Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide / B. Jain, I. Rubinstein, R.A. Robbins, et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1993. – Vol. 191. – P. 83–88.
133. Jain B. TNF-alpha and IL-1 beta upregulate nitric oxide-dependent ciliary motility in bovine airway epithelium / B. Jain, I. Rubistein, R.A. Robbins, et al. // *Am. J. Physiol.* – 1995. – Vol. 268.- P. 911–917.
134. Jin Y.S. Effects of exercise-induced oxidative stress and antioxidant supplementation on NF- κ B activation in peripheral mononuclear cells / Y.S. Jin, K.K. Park, J.Y. Park, et al. // *Korean J. of Sports Medicine.* – 2000. – Vol. 18, №2. – P. 261-270.
135. Johnson M. Molecular mechanisms of b2 adrenergic receptor function, response and regulation / Johnson M. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – Vol. 117. – P. 18-24.
136. Jónasson G. Low-dose budesonide improves exercise-induced bronchospasm in schoolchildren / G. Jónasson, K.H. Carlsen, C. Hultquist // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2000. – Vol. 11, №2. – P. 120-125.
137. Kanazawa H. Vascular involvement in exercise-induced airway narrowing in patients with bronchial asthma / H. Kanazawa, K. Asai, K. Hirata, J. Yoshikawa // *Chest.* - 2002. – Vol. 122. – P. 166-170.
138. Karjalainen E.M. Evidence of airway inflammation and remodelling in ski athletes with and without bronchial responsiveness to metacholine / E.M. Karjalainen, A. Laitinen, M. Sue-Chu et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 161. – P: 2086–2091.

139. Kasimay Ö. The involvement of nitric oxide and endothelin-1 in exercise-induced bronchospasm in young soccer players / Ö. Kasimay, A. Yildirim, M. Ünal et al. // *Clin. J. Sport Med.* – 2011. – Vol. 21, №3. – P. 237-242.
140. Kay L.J. Influence of beta2-adrenoceptor gene polymorphisms on beta2-adrenoceptor-mediated responses in human lung mast cells / L.J. Kay, A. Rostami-Hodjegan, S.K. Suvarna, P.T. Peachell // *Br. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 152. – P. 323-331.
141. Kemp J.P. Montelukast once daily inhibits exercise-induced bronchoconstriction in 6- to 14-year-old children with asthma / J.P. Kemp, R.J. Dockhorn, G.G. Shapiro, H.H. Nguyen, T.F. Reiss, B.C. Seidenberg, et al. // *J. Pediatr.* – 1998. – Vol. 133. – P. 424-428.
142. Kim J.H. Prolonged effect of montelukast in asthmatic children with exercise-induced bronchoconstriction / J.H. Kim, S.Y. Lee, H.B. Kim, B.S. Kim, J.Y. Shim, T.J. Hong, S.J. Hong // *Pediatr. Pulmonol.* – 2005. – Vol. 39. – P. 162-166.
143. Kim M-S. Relationship between fractional exhaled nitric oxide (Feno) and forced expiratory volume in one second (Fev1) and forced vital capacity (Fvc)i children with asthma // *World Allergy Organ. J.* – 2012. – Vol. 5, №2. – P. 184.
144. Kippelen P. Effect of sodium cromoglycate on mast cell mediators during hyperpnea in athletes / P. Kippelen, J. Larsson, S.D. Anderson, J.D. Brannan, B. Dahlén, S.E. Dahlén // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2010. – Vol. 42, №10. – P.1853-1860.
145. Kippelen P. Respiratory health of elite athletes – preventing airway injury: a critical review / P. Kippelen, K.D. Fitch, S.D. Anderson, V. Bougault, L-Ph. Boulet, K.W. Rundell, M. Sue-Chu, D.C. McKenzie // *Br. J. Sports Med.* – 2012. – Vol. 46. – P. 471–476.
146. Koskela H.O. Cold air-provoked respiratory symptoms: the mechanisms and management / H.O. Koskela // *Int. J. Circumpolar Health.* 2007. – Vol. 66, №2. P. - 91–100.

147. Kujala U.M. Use of medications and dietary supplements in later years among male former top-level athletes / U.M. Kujala, S. Sarna, J. Kaprio // *Arch. Intern. Med.* – 2003. – Vol. 163. – P. 1064-1068.
148. Lai Y. Eosinophil cysteinyl leukotriene synthesis mediated by exogenous secreted phospholipase A2 group X / Y. Lai, R.C. Oslund, J.G. Bollinger, W.R. Henderson Jr., L.F. Santana, W.A. Altemeier, M.H. Gelb, T.S. Hallstrand // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285. – P. 41491–41500.
149. Lai Y.L. Mediators in hyperpnea-induced bronchoconstriction of guinea pigs / Y.L. Lai, S.P. Lee // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* – 1999. – Vol. 360. – P. 597–602.
150. Laidlaw T.M. Cysteinyl leukotriene receptors, old and new; implications for asthma / T.M. Laidlaw, J.A. Boyce // *Clin. Exp. Allergy.* – 2012. – Vol. 42, №9. – P.1313-1320.
151. Lakind J.S. A critical review of the use of Clara cell secretory protein (CC16) as a biomarker of acute or chronic pulmonary effects / J.S. Lakind, S.T. Holgate, D.R. Ownby, A.H. Mansur, P.J. Helms, D. Pyatt, et al. // *Biomarkers.* – 2007. – Vol. 12. – P. 445-467.
152. Lane C. Epithelial inducible nitric oxide synthase activity is the major determinant of nitric oxide concentration in exhaled breath / C. Lane, D. Knight, S. Burgess, P. Franklin, F. Horak, J. Legg, A. Moeller, S. Stick // *Thorax.* – 2004. – Vol. 59, №9. – P. 757–760.
153. Lanz M.J. Comparison of exhaled nitric oxide, serum eosinophilic cation protein, and soluble interleukin-2 receptor in exacerbations of pediatric asthma / M.J. Lanz, D.Y. Leung, D.R. McCormick, R. Harbeck, S.J. Szefler, C. White. *Pediatr. Pulmonol.* - 1997. – Vol. 24: 305–311.
154. Larsson K. High prevalence of asthma in cross country skiers / K. Larsson, P. Ohlson, L. Larsson, et al. // *B.M.J.* – 1993. – Vol. 307, №6915. P. 1326-1329.

155. Lazarowski E.R. Nucleotide release provides a mechanism for airway surface liquid homeostasis / E.R. Lazarowski, R. Tarran, B.R. Grubb, C.A. van Heusden, S. Okada, R.C. Boucher // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 55-64.
156. Leff J.A. Montelukast, a leukotriene-receptor antagonist, for the treatment of mild asthma and exercise-induced bronchoconstriction / J.A. Leff, W.W. Busse, D.S. Pearlman, E.A. Bronsky, J.P. Kemp // *N. Engl. J. Med.* – 1998. – Vol. 339. – P. 147–152.
157. Li W. Activation of Nrf2-antioxidant signaling attenuates NF- κ B-inflammatory response and elicits apoptosis / W. Li, T.O. Khor, C. Xu et al. // *Biochem. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 76, №11. – P. 1485–1489.
158. Liu S. Lipopolysaccharide treatment in vivo induces widespread tissue expression of inducible nitric oxide synthase mRNA / S. Liu, I.M. Adcock, R.W. Old, et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1993. – Vol. 196. – P. 1208–1213.
159. Mak J.C.W. Up-regulation of airway smooth muscle histamine H1 receptor mRNA, protein, and function by beta 2-adrenoceptor activation / J.C.W. Mak, F. Roffel, T. Katsunuma, C.R.S. Elzinga, J. Zaagsma, P.J. Barnes // *Mol. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 57. – P. 857-864.
160. Mannix E.T. Airways hyperresponsiveness in high school athletes / E.T. Mannix, M.A. Roberts, H.J. Dukes, C.J. Magnes, M.O. Farber // *J. Asthma.* – 2004. – Vol. 41, №5. – P. 567-574.
161. Mannix E.T. Exercise-induced asthma in figure skaters / E.T. Mannix, M.O. Farber, P. Palange, P. Galassetti, F. Manfredi // *Chest.* – 1996. – Vol. 109. – P. 312-315.
162. Mannix E.T. The prevalence of airways hyperresponsiveness in members of an exercise training facility / E.T. Mannix, M. Roberts, D.P. Fagin et al. // *J. Asthma.* – 2003. – Vol. 40, №4. – P. 349-355.
163. Mastalerz L. Protection against exercise-induced bronchoconstriction by montelukast in aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients with asthma / L. Mastalerz,

- A. Gawlewicz-Mrocza, E. Nizankowska, A. Cmiel, A. Szczeklik // *Clin. Exp. Allergy*. – 2002. – Vol. 32, №9. – P. 1360-1365.
164. McConell G.K. Skeletal muscle nNOS mu protein content is increased by exercise training in humans / G.K. McConell, S.J. Bradley, T.J. Stephens, B.J. Canny, B.A. Kingwell, R.S. Lee-Young // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007. – Vol. 293, №2. – P. 821-828.
165. McCreanor J. Respiratory effects of exposure to diesel traffic in persons with asthma / J. McCreanor, P. M.J. Cullinan, Nieuwenhuijsen et al. // *Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 357, №23. – P. 2348-2358.
166. McFadden E.R. Hypothesis: exercise-induced asthma as a vascular phenomenon / E.R. McFadden // *The Lancet*. – 1990. Vol. 1. – P. 880-883.
167. Mehta S. Endogenous nitric oxide and allergic bronchial hyperresponsiveness in guinea pigs / S. Mehta, J.M. Drazen, C.M. Lilly // *Am. J. Physiol.* – 1997. – Vol. 273. – P. 656–662.
168. Melo R.E. Exercise-induced bronchoconstriction in children: montelukast attenuates the immediate-phase and late-phase responses / R.E. Melo, D. Solé, C.K. Naspitz // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 111. – P. 301-307.
169. Meltzer S.S. Inhibition of exercise-induced bronchospasm by zileuton: a 5-lipoxygenase inhibitor / S.S. Meltzer, J.D. Hasday, J. Cohn, et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1996. – Vol. 153. – P. 931–935.
170. Meurs H. Deficiency of nitric oxide in polycation-induced airway hyperreactivity / H. Meurs, Schuurman, M. Duyvendak, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 126. – P. 559–562.
171. Mezzania A. Standards for the use of cardiopulmonary exercise testing for the functional evaluation of cardiac patients: a report from the Exercise Physiology Section of the European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation / A. Mezzania, P. Agostonib, A. Cohen-Solad, et al. // *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*. - 2009. – Vol. 16. - P. 249-267.

172. Mickleborough T.D. A nutritional approach to managing exercise-induced asthma / T.D. Mickleborough // *Exerc. Sport Sci. Rev.* – 2008. – Vol. 36, №3. - 135-144.
173. Mickleborough T.D. Comparative effects of a high-intensity interval warm-up and salbutamol on the bronchoconstrictor response to exercise in asthmatic athletes / T.D. Mickleborough, M.R. Lindley, L.A. Turner // *Int. J. Sports Med.* – 2007. – Vol. 28, №6. - P. 456-462.
174. Mickleborough T.D. Protective effect of fish oil supplementation on exercise-induced bronchoconstriction in asthma / T.D. Mickleborough, M.R. Lindley, A.A. Ionescu, A.D. Fly // *Chest.* – 2006. – Vol. 129, №1. – P. 39-49.
175. Mickleborough T.D. Salt intake, asthma, and exercise-induced bronchoconstriction: a review / T.D. Mickleborough // *Phys. Sportsmed.* – 2010. – Vol. 38, №1. – P.118-131.
176. Millqvist E. The protective effect of a cold weather mask on exercised-induced asthma / E. Millqvist, U. Bengtsson // *Allergy.* – 1981. – Vol. 46, №1. – P.12-16.
177. Moeller A. Effects of montelukast on subjective and objective outcome measures in preschool asthmatic children / A. Moeller, A. Lehmann, N. Knauer, M. Albisetti, M. Rochat, W. Johannes // *Pediatr. Pulmonol.* – 2008. – Vol. 43, №2. – P. 179-186.
178. Motohashi H. Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism / H. Motohashi, M. Yamamoto // *Trends Mol. Med.* – 2004. – Vol. 10. – P. 549–557.
179. Munoz N.M. Deletion of secretory group V phospholipase A2 attenuates cell migration and airway hyperresponsiveness in immunosensitized mice / N.M. Munoz, A.Y. Meliton, J.P. Arm, J.V. Bonventre, W. Cho, A.R. Leff // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179. – P. 4800–4807.
180. Nagaki M. Nitric oxide regulation of glycoconjugate secretion from feline and human airways in vitro / M. Nagaki, M.N. Shimura, T. Irokawa // *Respir. Physiol.* – 1995. – Vol. 102. – P. 89–95.

181. Nelson J.A. Effect of long-term salmeterol treatment on exercise-induced asthma / J.A. Nelson, L. Strauss, M. Skowronski, et al. // *N. Engl. J. Med.* – 1998. – Vol. 339. – P. 141–146.
182. Niinimaa V. The switching point from nasal to oronasal breathing / V. Niinimaa, P. Cole, S. Mintz, R.J. Shephard // *Respir. Physiol.* – 1980. – 42, №1. – P. 61-71.
183. Nijkamp F.P. Nitric oxide synthesis inhibitors induce airway hyperresponsiveness in the guinea pig in vivo and in vitro / F.P. Nijkamp, H.J. van der Linde, G. Folkerts // *Am. Rev. Respir. Dis* – 1993. – Vol. 148 – P. 727–734.
184. Ninomiya H. The effects of calcitonin gene-related peptide on tracheal smooth muscle of guinea-pigs in vitro / H. Ninomiya, Y. Uchida, T. Endo, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 119. – P. 1341–1346.
185. O'Byrne P.M. The effect of indomethacin on exercise-induced bronchoconstriction and refractoriness after exercise / P.M. O'Byrne, G.L. Jones // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1986. – Vol. 134. – P. 69-72.
186. Omori C. A β_2 -adrenergic agonist inhibits dry air-induced injury in canine peripheral airways / C. Omori, B.H. Schofield, W. Mitzner, A.N. Freed // *J. Appl. Physiol.* – 1995. – Vol. 78. – P. 2169-2179.
187. Parsons J.P. Exercise-induced bronchoconstriction / J.P. Parsons // *Otolaryngol. Clin. North. Am.* – 2014. – Vol. 47, № 1. – P. 119-126.
188. Parsons J.P. Exercise-induced bronchoconstriction in athletes / J.P. Parsons, J.G. Mastronarde // *Chest.* – 2005. – Vol. 128. – P. 3966-3974.
189. Parsons J.P. Prevalence of exercise-induced bronchospasm in a cohort of varsity college athletes / J.P. Parsons, C. Kaeding, G.D. Phillips, D. Jarjoura, G. Wadley, J.G. Mastronade // *Med. Sci. Sports & Exerc.* – 2007. – Vol. 39, №9. – P. 1487-1492.
190. Pearlman D.S. The leukotriene D₄-receptor antagonist zafirlukast attenuates exercise-induced bronchoconstriction in children / D.S. Pearlman, N.K. Ostrom, E.A. Bronsky, et al. // *J. Pediatr.* – 1999. – Vol. 134. – P. 273–279.

191. Pedersen S. Budesonide treatment of moderate and severe asthma in children: a dose-response study / S. Pedersen, O.R. Hansen // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1995. – Vol. 95, №1. – P. 29-33.
192. Persson C.G. Extravasation, lamina propria flooding and luminal entry of bulk plasma exudate in mucosal defence, inflammation and repair / C.G. Persson, J.S. Erjefalt, M. Andersson, L. Greiff, C. Svensson // *Pulm. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 9, №3. - P. 129-39.
193. Piacentini G.L. Effect of montelukast on exhaled NO in asthmatic children exposed to relevant allergens / G.L. Piacentini, D.G. Peroni, M.M. Del Giudice // *Pediatric Allergy and Immunology.* – 2002. – Vol. 13, № 2. – P. 137-139.
194. Porsbjerg, C. Alternatives to exercise challenge for the objective assessment of exercise-induced bronchospasm: eucapnic voluntary hyperpnoea and the osmotic challenge tests / C. Porsbjerg, J.D. Brannan // *Breathe.* – 2010. – Vol.7, №1. - P. 53-63.
195. Powers S.K. Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production / S.K. Powers, M.J. Jackson // *Physiol. Rev.* – 2008. – Vol. 88. – P. 1243–1276.
196. Rabinovitch N. Exposure to tobacco smoke increases leukotriene E4-related albuterol usage and response to montelukast / N. Rabinovitch, M. Strand, K. Stuhlman, E.W. Gelfand // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 121. – P. 1365-1371.
197. Rabinovitch N. Urinary leukotriene E4/exhaled nitric oxide ratio and montelukast response in childhood asthma. Childhood Asthma Research and Education Network of the National Heart, Lung, and Blood Institute / N. Rabinovitch, N.J. Graber, V.M. Chinchilli, C.A. Sorkness, R.S. Zeiger, R.C. Strunk, L.B. Bacharier, F.D. Martinez, S.J. Szefler // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 126. – P. 545-551.
198. Reiss T.F. Increased urinary excretion of LTE4 after exercise and attenuation of exercise-induced bronchospasm by montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor antagonist / T.F. Reiss, J.B. Hill, E. Harman, J. Zhang, W.K. Tanaka, E. Bronsky, et al. // *Thorax.* – 1997. – Vol. 52, №12. – P. 1030-1035.

199. Ricciardolo F.L.M. Multiple roles of nitric oxide in the airways / F. L. M. Ricciardolo // *Thorax*. – 2003. – Vol. 58. – P. 175–182.
200. Ricciardolo F.L.M. Bronchoconstriction induced by citric acid inhalation: role of tachykinins, bradykinin and nitric oxide / F.L.M. Ricciardolo, V. Rado, L.M. Fabbri, et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 159. – P. 557–562.
201. Ricciardolo F.L.M. Detection of bradykinin-induced nitric oxide release in the airways of guinea pigs by porphyrinic microsensor / F.L.M. Ricciardolo, L. Vergnani, S. Wiegand, et al. // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 22. – P. 97–104.
202. Ricciardolo F.L.M. Evidence for reduction of bradykinin-induced bronchoconstriction in guinea pigs by release of nitric oxide / F.L.M. Ricciardolo, J.A. Nadel, S. Yoshihara, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 1994. – Vol. 113. – P.1147–1152.
203. Ricciardolo F.L.M. NKA-induced bronchoconstriction in vivo is reduced by nitric oxide release via septide-insensitive NK1 receptor activation / F.L.M. Ricciardolo, M. Trevisani, P. Geppetti, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 129. – P. 915–920.
204. Ricciardolo F.L.M. Presence and bronchomotor activity of protease activated receptor-2 (PAR-2) in guinea pig airways / F.L.M. Ricciardolo, A. Steinhoff, S. Amadesi, et al. // *Am. J. Respir. Crit Care Med.* – 2000. - Vol. 161. – P. 1672–1680.
205. Richter K. Acute protection against exercise-induced bronchoconstriction by formoterol, salmeterol and terbutaline / K. Richter, S. Janicki, R.A. Jorres, et al. // *Eur. Respir. J.* – 2002. – Vol. 19, №5. P. 865–871.
206. Rohalu1 M.S. Assessment of 3-nitrotyrosine formation in response to moderate intensity exercise in healthy young adults / M.S. Rohalu1, S. Aldred // *Life Sciences*. – 2007. – Proc. Life Sciences, PC84 Poster Communications.
207. Rundell K.W. Bronchoconstriction during cross-country skiing: is there really a refractory period? / K.W. Rundell, B.A. Spiering, D.A. Judelson, M.H. Wilson // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2003. – Vol. 35, №1. – P. 18-26.

208. Rundell K.W. Effects of montelukast on airway narrowing from eucapnic voluntary hyperventilation and cold air exercise / K.W. Rundell, B.A. Spiering, J.M. Baumann, T.M. Evans // *Br. J. Sports Med.* – 2005. – Vol. 39. – P. 232–236.
209. Rundell K.W. Field exercise vs laboratory eucapnic voluntary hyperventilation to identify airway hyperresponsiveness in elite cold weather athletes / K.W. Rundell, S.D. Anderson, B.A. Spiering, D.A. Judelson // *Chest.* – 2004. – Vol. 125. – P. 909-915.
210. Rundell K.W. Self-reported symptoms and exercise-induced asthma in the elite athlete / K.W. Rundell, J. Im, L.B. Mayers // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2001. – Vol. 33. – P. 208–213.
211. Sachs-Olsen C. Time spent in vigorous physical activity is associated with increased exhaled nitric oxide in non-asthmatic adolescents / C. Sachs-Olsen, S. Berntsen, K.C. Lødrup Carlsen, S.A. Anderssen, P. Mowinckel, K.H. Carlsen // *Clin.* – 2013. – Vol. 7, №1. – P. 64-73.
212. Sadeh J. Airway narrowing in athletes: a different kettle of fish? / J. Sadeh, E. Israel // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 168. – P. 1146-1147.
213. Sanchez A.A. Relationship of forced expiratory volume in one second and maximum mid-expiratory flow rate in the diagnosis of exercise induced asthma free to view The / A.A. Sanchez, A.G. Jiao, C.Q. Sua, R. Dygico // *Chest.* – 2005. – Vol. 128, № 4_MeetingAbstracts.
214. Schachter E.N. Combining a beta2-agonist with a face mask to prevent exercise-induced bronchoconstriction / E.N. Schachter, E. Lach, M. Lee // *Allergy.* – 2000. – Vol. 55, №7. – P. 672-675.
215. Schuiling M. Role of nitric oxide in the development and partial reversal of allergen-induced airway hyperreactivity in conscious, unrestrained guinea-pigs / M. Schiling, A.B. Zuidhof, M.A.A. Bonouvrie, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 123. – P. 1450–1456.

216. Schuiling M. Dual action of iNOS-derived nitric oxide in allergen-induced airway hyperreactivity in conscious, unrestrained guinea pigs / M. Schuiling, H. Meurs, A.B. Zuidhof, et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 158. – P. 1442–1449.
217. Scollo M. Exhaled nitric oxide and exercise-induced bronchoconstriction in asthmatic children / M. Scollo, S. Zanconato, R. Ongaro et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 161. – P. 1047–1050.
218. Siddiqui S. Airway hyperresponsiveness is dissociated from airway wall structural remodeling / S. Siddiqui, V. Mistry, C. Doe, K. Roach, A. Morgan, A. Wardlaw // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 122. – P. 335-341.
219. Spector S. Exercise-induced bronchoconstriction update: therapeutic management / S. Spector, R. Tan // *Allergy Asthma Proc.* – 2012. – Vol. 33, №1. P. 7-12.
220. Steinshamn S. Effects of montelukast and salmeterol on physical performance and exercise economy in adult asthmatics with exercise-induced bronchoconstriction / S.S. Meltzer, J.D. Hasday, J. Cohn, et al. // *Chest.* – 2004. – Vol. 126, №4. – P. 1154-1160.
221. Stensrud T. Bronchial hyperresponsiveness in skiers: field test versus methacholine provocation? / T. Stensrud, K.V. Mykland, K. Gabrielsen, K.H. Carlsen // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2007. – Vol. 39, №10. – P. 1681-1686.
222. Stensrud T. Can one single test protocol for provoking exercise-induced bronchoconstriction also be used for assessing aerobic capacity? / T. Stensrud, K.H. Carlsen // *Clin. Respir. J.* – 2008. – Vol. 2, №1. – P. 47-53.
223. Stickland M.K. Effect of warm-up exercise on exercise-induced bronchoconstriction / M.K. Stickland, B.H. Rowe, C.H. Spooner, B. Vandermeer, D.M. Dryden // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2012. – Vol. 44, №3. – P. 383-391.
224. Storms W. A comparison of the effects of oral montelukast and inhaled salmeterol on response to rescue bronchodilation after challenge / W. Storms, P. Chervinsky, A.F. Ghannam, S. Bird, C.M. Hustad, J.M. Edelman // *Respir. Med.* – 2004. – Vol. 98. – P. 1051–1062.

225. Sue-Chu M. Placebo-controlled study of inhaled budesonide on indices of airways inflammation in bronchoalveolar lavage fluid and bronchial biopsies in cross country skiers / M. Sue-Chu, E-M. Karjalainen, A. Laitinen, L. Larsson, L.A. Laitinen, L. Bjermer // *Respiration*. – 2000. – Vol. 67. – P. 417-425.
226. Sugiura H. Nitrate stress in inflammatory lung diseases / H. Sugiura, M. Ichinose // *Nitric Oxide*. – 2011. – Vol. 25. – P. 138–144.
227. Suguro H. Effect of a leukotriene antagonist, pranlukast hydrate, on exercise-induced asthma for 14 days / H. Suguro, T. Majima, T. Hattori, et al. // *Arerugi*. – 2000. – Vol. 49, №8. – P. 646–652.
228. Taylor D.R. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation / D.R. Taylor, M.W. Pijnenburg, A.D. Smith, et al. // *Thorax*. – 2006. – Vol. 61, №9. – P. 817-827.
229. Taylor-Clark T.E. Leukotriene D4 increases the excitability of capsaicin-sensitive nasal sensory nerves to electrical and chemical stimuli / T.E. Taylor-Clark, C. Nassenstein, B.J. Udem // *Br. J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 154. – P. 1359–1368.
230. Tecklenburg S.L. Ascorbic acid supplementation attenuates exercise-induced bronchoconstriction in patients with asthma / S.L. Tecklenburg, T.D. Mickleborough, A.D. Fly, Y. Bai, J.M. Stager // *Respir. Med.* – 2007. – Vol. 101, №8. – P. 1770-1778.
231. Tolbert P.E. Air quality and pediatric emergency room visits for asthma in Atlanta, Georgia, USA / P.E. Tolbert, J.A. Mulholland, D.L. MacIntosh et al. // *Am. J. Epidemiol.* – 2000. – Vol. 151, №8. – P. 798-810.
232. Toward T.J. Airway reactivity, inflammatory cell influx and nitric oxide in guinea-pig airways after lipopolysaccharide inhalation / T.J. Toward, K.J. Broadley // *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 131. – P. 271–281.
233. van der Woude H.J. Decreased bronchodilating effect of salbutamol in relieving methacholine induced moderate to severe bronchoconstriction during high dose treatment with long action b2 agonists / H.J. van der Woude, T.H. Winter, R. Aalbers // *Thorax*. – 2001. – Vol. 56. – P. 529-535.

234. Verges S. Exhaled nitric oxide during normoxic and hypoxic exercise in endurance athletes / S. Verges, P. Flore, A. Favre-Juvin, P. Lévy, B. Wuyam // *Acta Physiol. Scand.* – 2005. – Vol. 185, №2. – P. 123-131.
235. Vidal C. Comparison of montelukast versus budesonide in the treatment of exercise-induced bronchoconstriction / C. Vidal, E. Fernández-Ovide, J. Piñeiro, R. Nuñez, A. González-Quintela // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2001. – Vol. 86. – P. 655–658.
236. Voutilainen M. Exhaled nitric oxide indicates poorly athlete's asthma / M. Voutilainen, L.P. Malmberg, T. Vasankari, T. Haahtela // *Clin. Respir. J.* – 2013. – Vol. 7, №4. – P. 347-353.
237. WADA- World Anti-Doping Program Version 5.0. [Электронный ресурс]. – 2013. - Режим доступа: https://www.wada-ama.org/en/node/4090#U_2t8cV_sk1.
238. Walters D.M. Ambient urban Baltimore particulate-induced airway hyperresponsiveness and inflammation in mice / D.M. Walters, P.N. Breyse, M. Wills-Karp // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 164, №8. – P. 1438-1443.
239. Wasserman K. Principles of exercise testing and interpretation including pathophysiology and clinical applications / K. Wasserman, J. Hansen, D. Sue, W. Stringer, B. Whipp // 4th edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. – 2005. – 585p.
240. Weiler J.M. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Work Group report: exercise-induced asthma / J.M. Weiler, S. Bonini, R. Coifman, T. Craig, L. Delgado, M. Capao-Filipe, et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 119, №6. P. 1349-1358.
241. Weiler J.M. Improving screening and diagnosis of exercise-induced bronchoconstriction: a call to action / J.M. Weiler, T.S. Hallstrand, J.P. Parsons, C. Randolph, W.S. Silvers, W.W. Storms, A. Bronstone // *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* – 2014. – Vol. 2, № 3. – P. 275-280.
242. Weiler J.M. Pathogenesis, prevalence, diagnosis, and management of exercise-induced bronchoconstriction: a practice parameter. Joint Task Force of the American

- Academy of Allergy, Asthma and Immunology; the American College of Allergy, Asthma and Immunology and the Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology / J.M. Weiler, S.D. Anderson, C. Randolph // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* - 2010. – Vol. 105, № 6. – P. 1-47.
243. Williams M.A. Disruption of the transcription factor Nrf2 promotes pro-oxidative dendritic cells that stimulate Th2-like immunoresponsiveness upon activation by ambient particulate matter / M.A. Williams, T. Rangasamy, S.M. Bauer et al. // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181, №7. – P. 4545-4559.
244. Wilson B.A. The effects of indomethacin on refractoriness following exercise both with and without bronchoconstriction / B.A. Wilson, O. Bar-Or, P.M. O'Byrne // *Eur. Respir. J.* – 1994. – Vol. 12. – P. 2174-2178.
245. Zhang H. Pharmacokinetics and bioavailability of montelukast sodium (MK-0476) in healthy young and elderly volunteers / H. Zhang, L. Shu, X. Cai, Z. Wang, X. Jiao, F. Liu, P. Hou, L. Wang, L. Shan, N. Chen, Y. Shang J.J. Zhao, J.D. Rogers, S.D. Holland, et al. // *Biopharm. Drug. Dispos.* – 1997. – Vol. 18. – P. 769–777.

Стандартная операционная процедура
Бронхопровокационная проба с физической нагрузкой с использованием
тредмила

Показания:

- диагностика наличия и степени выраженности постнагрузочного бронхоспазма.

Противопоказания (относительные):

- ПСВ < 70% от должноствующего значения (возможно проведение пробы при значениях ПСВ < 70%, однако в этом случае врач должен иметь все необходимое для оказания неотложной помощи: кислород, ингаляционные и внутривенные бронходилататоры, стероиды)
- артериальная гипертензия;
- аневризма аорты;
- эпилепсия, требующая медикаментозного лечения;
- беременность.

Условия проведения:

- последнее обострение астмы - более 4 недель назад;
- отсутствие ОРВИ в течение не менее 3 недель;
- позитивное отношение спортсмена к пробе;
- информирование спортсмена о прекращении пробы при появлении беспокоящих его симптомов;
- отсутствие применения короткодействующих β_2 -агонистов в течение предшествующих 4 часов;
- рекомендуемое время проведения пробы – утро;
- не допускается проведение других бронхопровокационных тестов в течение

данных суток.

Необходимое оборудование:

- спироанализатор;
- тредмил;
- монитор ЧСС;
- высокообъемный спейсер VOLUMATIC;
- компрессорный небулайзер;
- набор лекарственных средств: вентолин, беродуал, преднизолон.

Техника проведения:

Исходные значения:

Перед началом пробы пациент должен находиться в покое в течение 10 минут, после чего производят трехкратное измерение исходных показателей ФВД (ОФВ₁, ПСВ) и ЧСС.

Физическая нагрузка:

Перед выполнением нагрузочного теста пациенту устанавливается монитор ЧСС.

Физическая нагрузка дозируется по уровню ЧСС.

Стандартное время нагрузки - 7 минут, при этом в течение первых 2 минут пациент разгоняется до достижения субмаксимальной ЧСС, в течение последующих 6 минут - продолжает выполнять нагрузку при сохранении ЧСС на достигнутом уровне.

Субмаксимальная ЧСС = 80% (220 – возраст, лет).

Регистрация показателей:

Показатели ФВД (ОФВ₁, ПСВ) записываются через 1, 5, 10, 15 минут, при необходимости - 30 минут после завершения физической нагрузки в относительных цифрах (%) по отношению к исходному значению, измеренному непосредственно перед началом пробы.

Предпочтение отдается использованию параметра $ОФВ_1$. При невозможности корректно оценить $ОФВ_1$, все последующие значения приводятся по показателю ПСВ.

Регистрация показателей прекращается:

- через 15 минут после завершения физической нагрузки, если не отмечалось снижения показателей $ОФВ_1$ (ПСВ) более чем на 5%;
- по достижении значения 95% от исходного $ОФВ_1$ (ПСВ);
- через 30 минут у всех больных, независимо от значения $ОФВ_1$ (ПСВ).

Интерпретация результатов пробы:

- проба считается положительной при снижении $ОФВ_1$ (ПСВ) на 10% и более от исходного значения параметра.

Использование короткодействующих β_2 -агонистов:

- в течение физической нагрузки и последующих 30-ти минут не рекомендуется;
- в случае тяжелого бронхоспазма ($ОФВ_1 < 60\%$ от исходного) врач может провести ингаляцию 2 доз вентолина через высокообъемный спейсер. Перед ингаляцией целесообразно провести запись показателей ФВД. Полученные значения вносятся в индивидуальную регистрационную карту (ИРК). Факт применения бронхолитиков для купирования бронхоспазма также регистрируется в ИРК.
- при неэффективности 2 доз вентолина (через спейсер) врач назначает бронхолитики через небулайзер и другую терапию, которую он считает необходимой. Решается вопрос о целесообразности дальнейшего участия пациента в данной программе;
- если через 30 минут после завершения пробы $ОФВ_1$ (ПСВ) не восстановились полностью (достигли 95% от исходного уровня), обследуемый должен получить бронхолитик (2 дозы вентолина через спейсер).

Завершение исследования:

- обследуемый может покинуть лечебное учреждение, если значение ПСВ ($ОФВ_1$)

достигло 95% от исходных значений;

- обследуемому должны быть даны инструкции на случай появления бронхоспазма в течение ближайших суток.

Стандартная операционная процедура

Бронхопровокационная проба с физической нагрузкой в условиях тренировки на открытом воздухе

Показания:

- выявления наличия и степени выраженности постнагрузочного бронхоспазма.

Противопоказания (относительные):

- ПСВ < 70% от должноствующего значения (возможно проведение пробы при значениях ПСВ < 70%, однако в этом случае врач должен иметь все необходимое для оказания неотложной помощи: кислород, ингаляционные и внутривенные бронходилататоры, стероиды)
- артериальная гипертензия;
- аневризма аорты;
- эпилепсия, требующая медикаментозного лечения;
- беременность.

Условия проведения:

- последнее обострение астмы - более 4 недель назад;
- ОРВИ отсутствуют в течение не менее 3 недель;
- спортсмен позитивно относится к пробе;
- спортсмен проинструктирован о прекращении пробы при появлении беспокоящих его симптомов;
- обследуемый не применял короткодействующих β_2 -агонистов в течение предшествующих 4 часов;
- рекомендуемое время проведения пробы – утро;
- не допускается проведение других бронхопровокационных тестов в течение данных суток.

Необходимое оборудование:

- спироанализатор;
- монитор ЧСС;
- высокообъемный спейсер VOLUMATIC;
- компрессорный небулайзер;
- набор лекарственных средств: вентолин, беродуал, преднизолон.

Техника проведения:*Исходные значения:*

Перед началом пробы пациент должен находиться в покое в течение 10 минут, после чего производят трехкратное измерение исходных показателей ФВД (ОФВ₁, ПСВ) и ЧСС.

Физическая нагрузка:

Перед выполнением нагрузочного теста пациенту устанавливается монитор ЧСС.

Физическая нагрузка дозируется по ЧСС, необходимое условие – поддержание субмаксимальной ЧСС = 80% (220 - возраст в годах).

В качестве провоцирующего фактора используется физическая нагрузка в условиях интенсивной тренировки с ускорением или соревнования. Общая продолжительность нагрузки – 30-40 минут.

Принципы регистрации показателей, прекращения теста, использования фармпрепаратов во время теста аналогичны приведенным в приложении 1.1.

Температурные условия проведения тестирования:

Температура воздуха ниже нулевой отметки в диапазоне от -5 до -18С без учета скорости ветра.

Стандартная операционная процедура

Эргоспирометрическое нагрузочное тестирование с использованием тредмила

Показания:

- оценка физической работоспособности и функциональных резервов организма;
- определение толерантности к физической нагрузке;
- выявления наличия и степени выраженности нарушенной толерантности к нагрузке, а также определение ее возможных причин;
- дифференциальная диагностика сердечно-сосудистой и респираторной патологии.

Абсолютные противопоказания:

- синкопальные состояния;
- артериальная гипертензия;
- выраженный аортальный стеноз;
- нестабильная стенокардия,
- острая стадия инфаркта миокарда, миокардит, перикардит, эндокардит
- неконтролируемая астма;
- ментальные расстройства;
- десатурация в покое ($\leq 85\%$).

Относительные противопоказания:

- артериальная гипертензия (САД ≥ 200 мм рт.ст., ДАД ≥ 120 мм рт.ст.);
- атриовентрикулярный блок высокой степени;
- тахи-, брадиаритмии;
- гипертрофическая кардиомиопатия;
- высокая легочная гипертензия;
- беременность;
- электролитные нарушения;

- ортопедические нарушения, препятствующие качественному выполнению теста.

Условия проведения:

- спортсмен позитивно относится к пробе, подписано информированное согласие;
- спортсмен проинструктирован о прекращении пробы при появлении беспокоящих его симптомов;
- рекомендуемое время проведения пробы – утро; легкий завтрак не менее, чем за 2 часа до исследования;
- не допускается проведение других провокационных тестов, в течение данных суток;
- отказ от физической нагрузки в день выполнения теста;
- отказ от курения не менее, чем за 8 часов до теста;
- Выполненное ЭКГ-исследование.

Необходимое оборудование:

- мобильный эргоспирометр Oxicon Mobile (Erich Jaeger)
- тредмил;
- монитор ЧСС;
- аппарат ЭКГ;
- пульсоксиметр.

Техника проведения:

Перед началом пробы пациент должен находиться в покое в течение 10 минут, после чего производят ЭКГ-исследование, пульсоксиметрию, трехкратное измерение исходных показателей ФВД (ОФВ₁, ПСВ).

Перед выполнением нагрузочного теста пациенту устанавливается монитор ЧСС. Физическая нагрузка дозируется по ЧСС. Стандартное время нагрузки - 8 минут, при этом в течение первых 2 минут пациент разгоняется до достижения

субмаксимальной ЧСС, в течение последующих 6 минут - продолжает выполнять нагрузку при сохранении ЧСС на достигнутом уровне [96, 140].

Субмаксимальная ЧСС = 80% (220 – возраст, лет).

Регистрация приведенных ниже показателей осуществляется в течение 1 минуты до начала теста, далее – на протяжении всего нагрузочного периода и в течение 3 минут после завершения физической нагрузки.

Анализируемые неинвазивные параметры кардиореспираторного тестирования

Метаболические показатели газообмена:

$\dot{V}O_2$ – потребление кислорода

$\dot{V}CO_2$ – выведение углекислого газа

RER – респираторный коэффициент ($\dot{V}CO_2/\dot{V}O_2$)

АП – порог анаэробного обмена

Показатели функции сердечно-сосудистой системы:

ЧСС – частота сердечных сокращений;

$\dot{V}O_2/\text{ЧСС}$ – кислородный пульс;

Показатели вентиляции:

$\dot{V}E$ – минутная вентиляция;

V_T – дыхательный объем;

BF – частота дыхательных движений;

Легочные показатели газообмена:

SpO_2 – насыщение артериальной крови кислородом (неинвазивный метод пульсоксиметрии);

$\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ – вентиляторный коэффициент по углекислому газу;

$\dot{V}E/\dot{V}O_2$ – вентиляторный коэффициент по кислороду;

P_{EtO_2} – напряжение кислорода в конце выдоха (на уровне дыхательного объема);

P_{EtCO_2} – напряжение углекислого газа в конце выдоха (на уровне дыхательного объема).

Критерии преждевременного прекращения теста:

- боли в сердце ишемического характера;
- ишемические изменения на ЭКГ, появление эктопированных комплексов;
- АВ-блокада 2-3 степени;
- снижение САД > 20 мм рт.ст. по сравнению с максимальным показателем за период тестирования;
- повышение САД ≥ 250 мм рт.ст., ДАД ≥ 120 мм тр.ст.;
- десатурация $\leq 80\%$, сопровождаемая симптомами гипоксемии;
- внезапное побледнение кожных покровов;
- потеря координации;
- слабость и/или головокружение;
- признаки дыхательной недостаточности.

Стандартная операционная процедура
Определение уровня NO в выдыхаемом воздухе онлайн-методом одиночного вдоха

Принцип метода

Метод определения NO в выдыхаемом воздухе основан на принципе хемилюминесценции. Прибор оснащен внутренним калибровочным модулем и генератором озона (O_3). Проба выдыхаемого воздуха соединяется со смесью озона и воздуха, далее попадая в реактор. Свет, генерируемый при взаимодействии NO пробы и O_3 , воспринимается фотодетектором и передается на микропроцессор, выполняющий расчет концентрационного сигнала. Его отличительными особенностями являются воспроизводимость, быстрота получения достоверного результата, неинвазивность, высокий уровень чувствительности и специфичности, широчайший диапазон определяемых концентраций NO (0,1-5000 ppb*). Точное определение скорости воздушного потока осуществляется посредством сенсора, оснащенного двумя ультразвуковыми преобразователями. Максимальная степень надежности результатов измерений также основана на применении модуля Denox 88, генерирующего свободный от NO воздух, вдыхаемый пациентом перед определением фракции NO, и контролирующего стабильную силу экспираторного потока на уровне 50 мл/сек. в соответствии с рекомендациями ATS/ERS, благодаря чему определяется именно бронхиальная фракция NO (параллельно определяется CO_2). Исключается примешивание фракции из верхних дыхательных путей.

Показания:

Определение уровня монооксида азота в выдыхаемом воздухе.

Необходимое оборудование:

- хемилюминесцентный газоанализатор CLD 88, Eco Medics, Швейцария
- устройство, освобождающее вдыхаемый воздух от оксида азота Denox 88;

- назальный зажим.
- съемный одноразовый фильтр;
- калибровочный шприц.

Условия проведения теста:

- выполнение исследования должно предшествовать спирометрии во избежание искажения результатов теста;
- отказ от продуктов питания, содержащих нитраты (салат), кофеин накануне исследования, не принимать пищу в течение часа перед исследованием;
- отказ от курения (избегать пассивного курения) в течение часа перед исследованием;
- отсутствие ОРВИ в течение ≥ 3 недель;
- больной позитивно относится к пробе;

Техника:

- пациент должен сидеть комфортно с носовым зажимом для исключения носового дыхания;
- выполнить 2-3 секундную ингаляцию ртом воздуха, очищенного прибором Denox от NO до верхней границы общей емкости легких (ОЕЛ);
- не задерживая дыхания выдыхать в мундштук газоанализатора в течение нескольких секунд;
- повторить попытку трехкратно, далее выполняется автоматическое вычисление показателя.

**Стандартная операционная процедура
определения уровня лейкотриена E₄ в моче**

Принцип метода количественного определения основных метаболитов цистеинилового лейкотриена (cysLT) LTA₄: LTC₄, LTD₄ и LTE₄ в биосредах заключается в конкурентном связывании моноклональными антителами (АТ) к LTC₄, LTD₄ и LTE₄ данных соединений, содержащихся в образце или молекулы алкаланфосфата, имеющей ковалентную связь с LTC₄. После инкубации при комнатной температуре проводится отмывание образца и добавление субстрата. После повторной инкубации в результате ферментативной реакции появляется желтое окрашивание образцов, считываемое при длине волны 405 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации LTC₄ в стандартных разведениях или лейкотриенов в образцах. Полученная оптическая плотность используется для определения концентрации лейкотриенов в образце.

Необходимые материалы и оборудование:

- Лабораторный набор Correlate-EIA™ Cysteinyl Leukotriene (каталожный номер 900-070):
 - козы антимышинные АТ класса IgG,
 - конъюгат (голубой раствор алкалан фосфатазы, конъюгированный с LTC₄),
 - антитела к cysLT (желтый раствор мышинных моноклональных антител к LTC₄, LTD₄ и LTE₄),
 - буфер,
 - концентрат отмывочного буфера (содержащий детергенты),
 - стандартный раствор cysLT (раствор LTC₄ 25,000 пг/мл),
 - раствор p-нитрофенилфосфатного буфера (pNpp),

- стоп-раствор (водный раствор Na_3PO_4);
- автоматический анализатор для 96-луночных планшетов с вертикальной фотометрией;
- программируемый вибротермостат для планшетов;
- дистиллированная вода;
- градуированные цилиндры, полуавтоматические пипетки фиксированного и переменного объема;
- абсорбционная бумага.

Приготовление реагентов:

1. Стандарт суsЛТ

Доводили стандарт 25,000 пг/мл ЛТС₄ до комнатной температуры. Маркировали 6 стеклянных пробирок 12x75мм #1-#6. Вносили 900 мкл стандартного растворителя в пробирку #1, вносили 500 мкл стандартного растворителя в пробирки #2-6#. Добавляли 100 мкл 25,000 пг/мл стандарта в пробирку #1, тщательно перемешивали. Добавляли 500 мкл из пробирки #1 в пробирку #2 и тщательно перемешивали. Добавляли 500 мкл из пробирки #2 в пробирку #3 и тщательно перемешивали. Продолжали то же действие для пробирки #4 и т.д. до пробирки #6. Концентрация ЛТС₄ в пробирках #1-#6 будет: 2,500, 1,250, 625, 312,5, 165,3 и 78,1 пг/мл, соответственно.

2. Конъюгат суsЛТ

Доводили конъюгат до комнатной температуры. Разводили конъюгат 1:10 для определения общей активности.

Готовили разведение конъюгата 1:10 растворением 50 мкл конъюгата в 450 мкл буфера. Это разведение использовали только для ячеек определения общей активности.

3. Отмывочный буфер

Готовили отмывочный буфер путем разведения 5 мл прилагаемого концентрата в 95 мл дистиллированной воды.

Последовательность проведения анализа:

1. Все используемые реагенты хранили при комнатной температуре в течение не менее 30 минут перед началом анализа. Все стандарты и образцы исследовали в дублях.
 2. Вносили 100 мкл разбавителя (буфера) в ячейки с NSB и Во (0 пг/мл стандарт).
 3. Добавляли 100 мкл стандартов #1-#6 в соответствующие ячейки.
 4. Вносили 100 мкг образца в соответствующие ячейки.
 5. Вносили 50 мкл буфера в ячейки с NSB.
 6. Вносили 50 мкл конъюгата (голубое окрашивание) в каждую ячейку, исключая ячейки оценки суммарной активности и ячейки для Бланка.
 7. Вносили 50 мкл реактива, содержащего Антитела (желтое окрашивание) в каждую ячейку, исключая ячейки оценки суммарной активности, ячейки для Бланка, NSB.
- !Каждая ячейка должна быть окрашена в зеленый цвет, за исключением NSB, которая должна быть голубой!
8. Инкубировали планшет при комнатной температуре с перемешиванием в течение 2 часов при ~500 об/мин.
 9. Извлекали содержимое ячеек и промывали, добавляя 400 мкл отмывочного раствора в каждую ячейку, повторяли процедуру еще 2 раза до общего количества 3х отмываний.
 10. После 3го отмывания аспирировали содержимое ячеек, помещали на бумажное полотенце для полного удаления остатков отмывочного буфера.
 11. Добавляли 5 мл конъюгата (голубое окрашивание) в разведении 1:10 в ячейки определения суммарной активности (ТА).
 12. Добавляли 200 мкл раствора рNpp в каждую ячейку. Инкубировали при температуре 37°C в течение 2х часов.

13. Добавляли 50 мкл Стоп-раствора в каждую ячейку, это позволяло остановить реакцию.
14. Безотлагательно проводили определение оптической плотности содержимого ячеек планшета при длине волны 405 нм (с коррекцией между 570 и 590 нм).

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Использовали пакет программ «Immunoassay software package» для построения логистической кривой и определения концентрации ЛТ в образцах.

Приложение 6

Протокол получения дыхательного конденсата

Дыхательный конденсат собирали, используя метод, при котором пациент последовательно выдыхал через рот в отсутствие носового дыхания (назальные клипсы) в γ -образную полипропиленовую трубку с внутренним диаметром 5 мм, помещенную в полиэтиленовую пробирку, опущенную в стакан со льдом (рис. 47). γ -образная петля была необходима, чтобы предотвратить контаминацию экспирата слюной, которая, как известно содержит большие количества нитритов. Данный способ позволяет получать необходимые для анализа 200 мкл дыхательного конденсата в течение 5 минут. Полученные образцы хранили при температуре -80°C . Концентрацию нитритов в дыхательном конденсате определяли в течение 30 минут после доведения образцов до комнатной температуры.

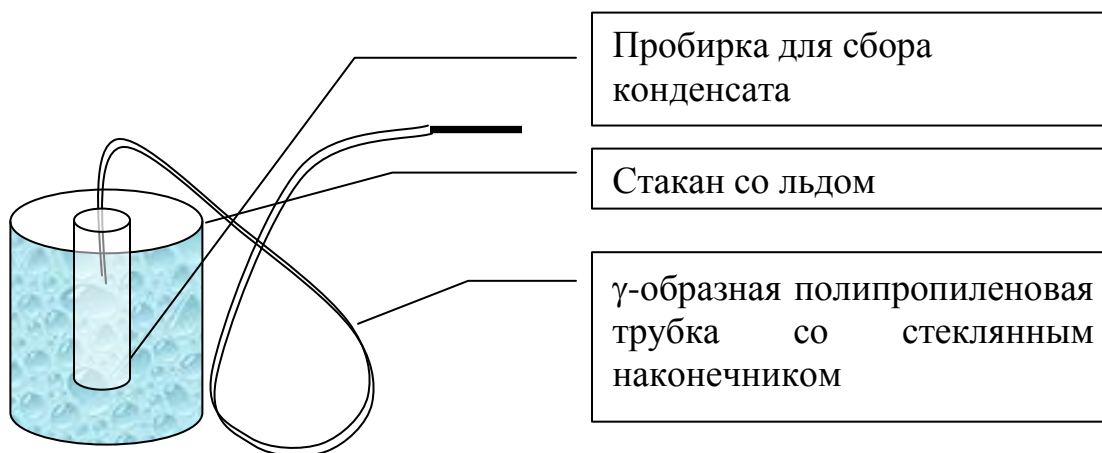


Рис. 47. Схематическое изображение устройства, использованного для сбора дыхательного конденсата.

Приложение 7

Протокол непрямого определения NO (суммарная концентрация стабильных метаболитов NO – нитратов и нитритов) в конденсате выдыхаемого воздуха

Total NO/Nitrite/Nitrate Assay R&D Systems

- ✓ Измерение эндогенного нитрита;
- ✓ Превращение нитрата в нитрит с использованием нитрат-редуктазы и измерение общего нитрита.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест определяет общее количество оксида азота (NO) и основан на ферментном превращении нитрата в нитрит с участием фермента нитрат-редуктазы. Метод основан на колориметрической регистрации концентрации нитрита по азокрасителю, образующемуся в реакции Грисса. Реакция Грисса основана на двухстадийной реакции диазотирования, в которой кислый NO_2

- производит нитрозатирующий агент, реагирующий с сульфаниловой кислотой с образованием иона диазония. Этот ион присоединяется к N-(1-нафтил)этилендиамину с формированием цветного азопроизводного, которое поглощает свет на длине волны 540-570 нм (51).

Необходимые материалы и оборудование

1. Набор для количественного определения окиси азота Total NO/Nitrite/Nitrate Assay (Кат. №KGE001 – 96 определений):

- нитрат редуктаза,
- нитрат-редуктазу сохраняющий буфер,
- лиофилизированный высушенный восстановленный β -никотинамид аденин динуклеотид,
- стандарт нитрата - Раствор нитрата натрия (2000 мкмоль/л) с консервантами,
- стандарт нитрита - Раствор нитрита натрия (2000 мкмоль/л) с консервантами,

- концентрат реакционного разбавителя (10X) – буферный раствор с детергентами и консервантами,
 - реактив Грисса I – Раствор сульфаниламида в 2 N растворе соляной кислоты,
 - реактив Грисса II – Раствор N-(1-нафтил) этилендиамина в 2 N растворе соляной кислоты,
2. Микропланшетный ридер с фильтром 540 нм с фильтром длины волны сравнения 690 нм
 3. Калиброванные пипетки переменного объема с одноразовыми наконечниками
 4. Дистиллированная вода
 5. Инкубатор на 37°C
 6. Вортекс
 7. Градуированный цилиндр на 500 мл
 8. Молекулярный фильтр с Cut off 10 000 для подготовки образцов (например, Millipore Microcon YM-10)
 9. Контроли (опционально, производства R&D Systems)

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА НИТРИТА

Все реагенты должны достичь комнатной температуры (18-25°) перед использованием. Все стандарты и образцы анализируются в дублях.

Анализ эндогенного нитрита, присутствующего в образце:

1. Добавить по 50 мкл Реакционного Разбавителя в ячейки для Бланка.
2. Добавить по 50 мкл Стандарта нитрита или образца* в оставшиеся ячейки.
3. Добавить по 50 мкл Реакционного Разбавителя во все ячейки.
4. Добавить 50 мкл Реактива Грисса I во все ячейки.
5. Добавить 50 мкл Реактива Грисса II во все ячейки, перемешать.
6. Инкубировать 10 минут при комнатной температуре.
7. Определить оптическую плотность ячеек при 540 нм (референс-фильтр 690 нм).

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА НИТРАТА

Все реагенты должны достичь комнатной температуры (18-25°) перед использованием. Все стандарты и образцы анализируются в дублях.

Анализ общего нитрита в образце, включая нитрит, полученный конвертацией нитрата в нитрит:

1. Добавить по 50 мкл Реакционного Разбавителя (1X) в ячейки для Бланка.
2. Добавить по 50 мкл Стандарта нитрата или образца* в оставшиеся ячейки.
3. Добавить по 25 мкл NADH во все ячейки.
4. Добавить по 25 мкл разбавленной Нитрат-редуктазы** во все ячейки, перемешать и закрыть стрипы приложенной к набору клейкой пленкой.
5. Инкубировать 30 минут при 37°С.
6. Добавить 50 мкл Реактива Грисса I во все ячейки.
7. Добавить 50 мкл Реактива Грисса II во все ячейки, перемешать.
8. Инкубировать 10 минут при комнатной температуре.
9. Определить оптическую плотность ячеек при 540 нм (референс-фильтр 690 нм).

*Образцы должны быть профильтрованы и разбавлены.

**Нитрат-редуктаза должна быть разбавлена.

Для определения концентрации нитрата необходимо вычесть значение концентрации эндогенного нитрита из общего нитрита.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Рассчитать среднее значение поглощения для каждого стандарта и образца, вычитая значение оптической плотности Бланка.
2. Построить стандартную параметрическую кривую, используя программное обеспечение.

В качестве альтернативы: построить калибровочную кривую “оптическая плотность/концентрация”. Определить концентрации в образцах из стандартной кривой.

**Протокол определения 3-нитротирозина в конденсате выдыхаемого воздуха
методом иммуноферментного анализа
(HK501, Hycult biotech)**

Принцип метода

Нитротирозин является показателем воспаления и продукции NO, образуется в присутствии его активных метаболитов. Продукция нитротирозина осуществляется различными путями, включая реакцию образования пероксинитрита. Так как нитротирозин является конечным продуктом окисления пероксинитрита, определение его концентрации в биологических жидкостях может рассматриваться в качестве маркера NO-опосредованных механизмов повреждения.

Подготовка образцов

Все реагенты доводили до комнатной температуры (20 - 25 ° C) перед использованием.

Подготовка промывочного буфера выполнялась путем смешивания 20 мл промывочного буфера с 780 мл дистиллированной или деионизированной воды.

Стандарт восстанавливали с помощью добавления 1 мл дистиллированной воды. Готовили стандарты нитротирозина в полипропиленовых пробирках путем серийного разведения восстановленного стандарта с буфером разведения. Раствор индикатора восстанавливали с помощью добавления 1 мл дистиллированной или деионизированной водой. Разводили 1 мл восстановленного трейсера в 11 мл буфера для разведения.

Стрептавидин-пероксидазу восстанавливали с помощью добавления 1 мл дистиллированной воды. Разводили восстановленный 1 мл раствора стрептавидин-пероксидазы в 23 мл буфера для разведения, достаточного для 2x96 тестов.

Протокол ELISA

Доводили все реагенты до комнатной температуры (20 - 25 ° C) перед использованием.

1. Определяли количество ячеек, ставили необходимые стрипы в прилагаемую рамку.
2. Добавляли 100 мкл в дубли стандартных образцов или контролей в соответствующие лунки.
3. Инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре.
4. Промывали планшет 4 раза промывочным буфером с использованием промывки планшета.
5. Добавляли 100 мкл разбавленного индикатора в каждую лунку с использованием той же последовательности добавления.
6. Лоток инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре.
7. Повторяли процедуру промывания.
8. Добавляли 100 мкл разбавленного субстрата стрептавидин-пероксидазы в каждую лунку.
9. Затем вновь инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре.
10. Повторяли процедуру промывания.
11. Добавляли 100 мкл ТМВ субстрата в каждую лунку.
12. Инкубировали лоток в течение 30 минут при комнатной температуре. Планшет покрывали алюминиевой фольгой во избежание проникновения прямых солнечных лучей.
13. Останавливали реакцию добавлением 100 мкл стоп-раствора. Смешайте раствор в ячейках аккуратно.
14. Исследовали пластину в течение 30 минут после добавления стоп-раствора при 450 нм с использованием планшет-ридера.

**Информированное согласие на участие в исследовании
«ОСОБЕННОСТИ И МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ БРОНХОСПАЗМА,
ВЫЗВАННОГО ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКОЙ, У ЛЫЖНИКОВ И
БИАТЛОНИСТОВ»**

Информация для обследуемого и форма информированного согласия

Номер обследуемого в исследовании |__|__|__|

Заполняется врачом исследователем

Вас попросили принять участие в научном медицинском исследовании «ОСОБЕННОСТИ И МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ БРОНХОСПАЗМА, ВЫЗВАННОГО ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКОЙ, У ЛЫЖНИКОВ И БИАТЛОНИСТОВ», цель которого - выявление, немедикаментозная и медикаментозная коррекция бронхоспазма физической нагрузки у спортсменов. Для получения необходимых данных и анализа изменений изучающихся показателей с возрастом в исследование будут включаться молодые активно тренирующиеся спортсмены.

Исследование проводится Ханты-Мансийской государственной медицинской академией, Научно-исследовательским институтом пульмонологии ФМБА России, не имеет коммерческой направленности, преследует только научные цели. Исследование выполняется в рамках программы «Здоровье детей Югры», грантов губернатора ХМАО-Югры и департамента образования и науки ХМАО-Югры.

Это исследование регламентирует назначение Вам каких-либо препаратов и является наблюдательным. В рамках исследования врач будет собирать данные о Вашем самочувствии и заносить их в специальные карты. Кроме того, Вам будут

проводиться: исследование функции внешнего дыхания, взятие проб мочи (будут исследоваться уровни лейкотриенов, креатинина), дыхательного конденсата (будут определяться нитриты и нитраты).

В результате проведения исследования будут выявлены возможные изменения и/или нарушения со стороны дыхательной системы: наличие спазма бронхов, воспаления респираторного тракта. При необходимости будет назначено своевременное лечение выявленных заболеваний. В конечном итоге, результаты работы будут направлены на устранение выявленных клинико-функциональных изменений, что будет способствовать достижению более высоких спортивных результатов молодыми спортсменами.

Поскольку это исследование имеет наблюдательный характер и не регламентирует назначение Вам препаратов:

- Вы не получите никакой дополнительной пользы/выгоды, связанной с участием в данном исследовании, за исключением тех выгод, которые ассоциированы с обычным наблюдением у врача.

Данные, полученные в ходе этого исследования, будут представлять конфиденциальную информацию, доступ к которой будет ограничен. Правом доступа к этой информации без нарушения конфиденциальности будут обладать представители этических комитетов, а также представители официальных инстанций, контролирующих проведение клинических исследований, в той степени, в которой это разрешено соответствующими законами. Подписывая форму информированного согласия, Вы, тем самым, даете разрешение на такой доступ.

Результаты будут обработаны при помощи компьютерных программ и опубликованы в специализированных журналах, при этом Ваши личные данные отдельно нигде демонстрироваться не будут.

Врач, выдавший Вам этот документ, должен ответить на все Ваши вопросы об этом исследовании. Вы можете обсудить это исследование и информацию о нем, если посчитаете нужным, с друзьями, родственниками, наблюдающим Вас врачом. Если Вы пожелаете получить дополнительную информацию, пожалуйста, обратитесь к врачу, выдавшему Вам этот документ.

- В отношении вопросов об исследовании Вы можете связаться с:

к.м.н. Никитиной Лидией Юрьевной - руководитель исследования
(ФИО врача)

Благодарим Вас за ознакомление с этим научным исследованием.

Форма информированного согласия

Название исследования: «ОСОБЕННОСТИ И МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ БРОНХОСПАЗМА, ВЫЗВАННОГО ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКОЙ, У ЛЫЖНИКОВ И БИАТЛОНИСТОВ».

Я подтверждаю, что информация об исследовании была получена мной в ходе процесса получения согласия от врача

Фамилия, имя, отчество врача (полностью, разборчиво, рукой обследуемого)

Я подтверждаю, что я имел (а) возможность задать вопросы, касающиеся исследования, и удовлетворен (а) предоставленными ответами и объяснениями;

Я имел (а) возможность обсудить полученную информацию с другими лицами и принять решение о моем участии в исследовании;

Я получил (а) один экземпляр информированного согласия, подписанный с указанием даты;

Я согласен (а) принять участие в данном исследовании

Фамилия, имя, отчество
обследуемого: _____
(полностью, разборчиво)

Подпись
обследуемого: _____

Дата: _____

ЗАПОЛНЯЕТСЯ ОБСЛЕДУЕМЫМ

Лицо, проводившее обсуждение этого информированного согласия:

Фамилия, имя, отчество: _____
(полностью, разборчиво, рукой врача)

Подпись: _____

Дата: _____

ЗАПОЛНЯЕТСЯ ВРАЧОМ, ПОЛУЧАВШИМ СОГЛАСИЕ