

УДК: 543.272.3+616.24-002+616.12+579.882

Медикаментозна корекція метаболізму оксиду азоту у хворих із негоспітальною пневмонією на тлі ішемічної хвороби серця в залежності від верифікації *Chlamydomphila pneumoniae*.

О.І. Варунків, Л.В. Глушко, М.М. Островський

*Івано-Франківський національний медичний університет***Ключові слова:** негоспітальна пневмонія, ІХС, *Chlamydomphila pneumoniae*.

Одними з найбільш поширених захворювань людства залишаються хвороби органів дихання, котрі займають чільне місце за кількістю днів непрацездатності, інвалідизації населення та смертності, що завдає значних економічних збитків на державному рівні [5]. Від НП у світі щорічно помирає близько двох мільйонів людей, що становить 4-7% від захворілих [6]. У США щорічно діагностується 3-4 млн. хворих на НП, із котрих більше ніж 900 тисяч лікуються у лікарнях [6]. У країнах Євросоюзу кількість хворих на НП протягом року перевищує 4,2 млн. осіб [6].

Окремо слід наголосити, що клінічний перебіг НП за останні роки помітно змінився, і в першу чергу це пов'язано зі збільшенням кількості верифікації атипової мікрофлори, насамперед вірусної та хламідійної інфекції як можливого етіологічного чинника патології [4]. Згідно даних ВООЗ хламідіоз є однією з найрозповсюдженіших інфекцій: щорічно в світі реєструється близько 100-120 мільйонів хворих. Вважається, що від 5% до 15% НП викликаються *Chlamydomphila pneumoniae*, а в період епідемії цей показник може становити 25%. [7]. Летальність при хламідійних пневмоніях становить 9,8% [7]. Здатність хламідій до персистенції в лейкоцитах та лімфоцитах дозволяє їм потрапляти практично у всі органи і тканини, викликаючи несприятливі патологічні зсуви [2].

Хламідіоз – типовий приклад так званих „повільних бактеріальних інфекцій”, головні відмінні якості яких, можливість існувати в організмі хазяїна десятиріччями чи навіть на протязі всього життя зберігаючи патогенні властивості. Проте, хламідія не просто перебуває в організмі, вона включає складні каскади запальних та імунних реакцій, які призводять до поступового розвитку патологічних проявів.

Водночас, у сучасній медичній літературі (Bhakdi S., 2000; Kaski J.C. et al., 1999) є дані, що свідчать про роль *Chlamydomphila pneumoniae* як в атерогенезі в цілому, так і прогресуванні ішемічної хвороби серця (ІХС) зокрема. В зв'язку з значною поширеністю ІХС і високою ймовірністю тяжких ускладнень, які як наслідок викликають інвалідизацію пацієнтів, а також й летальність, ця проблема, крім медичного, має ще й соціальний характер. ІХС займає одне з провідних місць у структурі захворюваності та смертності населення України. У країні приблизно 6-8 млн. пацієнтів з ІХС. За статистикою, причиною 62,5 із 100 смертей є серцево-судинні події, а за останні 10 років смертність від ІХС збільшилася на 9,3%, захворюваність і розповсюдженість відповідно у 2,2 і 1,6 разів [1].

У зв'язку з цим зрозумілою є цікавість до проблеми ранньої випереджувальної діагностики дестабілізації перебігу ішемічної хвороби серця при НП в осіб, інфікованих *Chlamydomphila pneumoniae*, та медикаментозної корекції процесів пускової активації несприятливих патофізіологічних зсувів, а значить й вираженості явищ як загальної гіпоксії організму хворого в цілому, так і локальної гіпоксії міокарду.

Активну участь в антимікробній діяльності при НП бере сполука оксиду азоту (NO), яка, крім того, є медіатором запалення, інгібує адгезію тромбоцитів і лейкоцитів, запобігає агрегації тромбоцитів і зменшує ріст гладких м'язів судин, що безперечно вплине на перебіг ІХС при розвитку НП в умовах хламідійної при-

сутності.

NO продукується різними клітинами: епітеліальними, ендотеліальними, нейронами і присутній практично у всіх органах й системах. Час життя NO не перевищує 6-10 секунд, після чого він перетворюється за участю кисню і води в нітрати (NO₃) та нітрити (NO₂). NO утворюється з L-аргініну в результаті окислення киснем за участю ферменту нітрооксидсинтетази (NOS), яких виділяють 3 ізоформи: нейрональна – NOS1 (nNOS), індукцйбельна (макрофагальна) – NOS2 (iNOS) та ендотеліальна – NOS3 (eNOS) [1,3]. NOS1 та NOS3 підтримують низький стаціонарний рівень NO, який не перевищує декількох мікро моль, а за участю NOS2 утворюється велика кількість NO, яка складає сотні мікромоль і підтримується від декількох годин до декількох днів.

Оксид азоту викликає загибель багатьох типів патогенних мікроорганізмів, в тому числі й *Chlamydomphila pneumoniae*. Для реалізації цієї функції використовуються два механізми: 1) апоптотична загибель клітин-носіїв, котра знищує сприятливе середовище для розмноження мікроорганізмів та дисемінації інфекційного процесу, 2) виділення токсичних для патогену субстанцій. В основі антимікробної дії лежить здатність реактивних проміжних продуктів оксиду азоту викликати нітрозилування та дезамінування білків, окислювальне пошкодження і порушення системи репарації ДНК. Цитотоксична дія NO підсилюється завдяки його здатності ати в реакцію з супероксидним радикалом, у результаті чого утворюється пероксинітрит (ONOO-), який володіє набагато більшою реакційною здатністю, ніж NO або супероксидний радикал окремо, і синтезується згідно формули: $H_2O_2 + NO = ONOO- + H$. За фізіологічних умов ONOO- утворюється в мінімальних кількостях. При низьких концентраціях ONOO- здатний викликати дилатацію судин, знижувати агрегацію тромбоцитів, експресію адгезивних молекул, він володіє також цитопротекторними властивостями і фактично є донором NO.

Саме тому на нашу думку глибокого вивчення потребує медикаментозна корекція метаболізму оксиду азоту при прогресуванні ішемічної хвороби серця в умовах виникнення і розвитку НП, на тлі хламідійної інфекції, адже збільшення концентрації оксиду азоту прямопропорційне утворенню пероксинітриту.

На наш погляд позитивний ефект дало би включення в комплекс лікування НП на тлі ІХС в осіб, інфікованих *Chlamydomphila pneumoniae*, препарату тівортину аспартату. Препарат представляє собою сполуку аргініну та аспарагінової кислоти. L-аргініну аспартат є субстратом для NO-синтази - ферменту, що каталізує синтез оксиду азоту в ендотеліоцитах. Аспарагінова кислота як донатор азоту для реакцій переамінування відіграє важливу роль в білковому обміні і має виражену антигіпоксичну дію.

Метою даного дослідження є оцінка стану продуктів метаболізму оксиду азоту периферійної крові та бронхоальвеолярної рідини після медикаментозної корекції у хворих з НП на тлі ІХС при детекції *Chlamydomphila pneumoniae*.

Матеріал і методи

Нами було обстежено 102 пацієнти з НП віком від 50-ти до 65 років. Верифікацію діагнозу та його формулювання проводили згідно матеріалів наказу МОЗ України №128 від 19.03.2007р. - «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Пульмонологія» [5]. При обстеженні пацієнтів було виявлено, що 58 із них мали супутню патологію у вигляді ІХС. Діагноз виставляли згідно з рекомендаціями VI Національного конгресу кардіологів України, 2000 р.), причому в 18-ти з них було верифіковано *Chlamydomphila pneumoniae*. Для цієї когорти пацієнтів комплекс лікування НП доповнюється додатковим використанням лікарського препарату тівортину аспартат, який приймають внутрішньо, під час їди, по 5 мл (1 г) 3 рази на добу протягом 15 днів. Детекція *Chlamydomphila pneumoniae* проводилася методом виявлення в сироватці крові антихламідійних антитіл класу G за допомогою імуоферментного аналізу апаратом «StatFax 303 Plus» (SeroCP IgG, Savyon, Ізраїль). При позитивному результаті (титр 1:64) розпочинався наступний етап діагностики — визначення в сироватці крові IgA-антитіл до *Chlamydomphila pneumoniae* (обладнання та реагенти фірми SeroCP IgA, Savyon, Ізраїль) та полімеразної ланцюгової реакції з використанням обладнання та реагентів фірми «БиоКом» (РФ). Контрольну групу порівняння склали 17 практично здорових осіб (ПЗО) без наявних ознак захворювань респіраторного тракту та іншої патології внутрішніх органів.

Про вміст NO в плазмі крові судили за концентрацією його кінцевого стабільного метаболіту - нітриту (NO₂) і вмісту суми кінцевих метаболітів NO (нітрати + нітрит). Метод визначення вмісту NO₂ в плазмі венозної крові оснований на фотокалориметричному визначенні оптичної щільності забарвленого комплексу NO₂ з реактивом Грісса при довжині хвилі 546 нм на спектрофотометрі. Визначення NO₃ проводили після їх попереднього відновлення за допомогою реакторів Nitralyzer™ (World Precision Instruments, Inc. США).

Вміст NO в бронхоальвеолярній рідині (БАР) також визначали за концентрацією суми кінцевих метаболітів NO (нітрати + нітрит). Концентрації NO₂ та NO₃ була визначена в супернатанті БАР модифікованим методом реакції Грісса [3]. Суміш вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 546 нм. Відновлення NO₃ до NO₂ як і в сироватці крові проводили з використанням редуктази нітратів за допомогою реактивів Nitralyzer™.

Усі дослідження проводилися нами за єдиною схемою: на час поступлення хворого у клініку та на 21 добу з моменту початку лікування. Статистичну обробку матеріалу здійснювали методами парної статистики, а також використовуючи метод відмінності, з використанням t-критерію Ст'юдента, кореляційного та дисперсного аналізу за допомогою пакету "statistica for Windows®".

Результати і обговорення

Проведене дослідження показало, що у хворих на НП на тлі ІХС при детекції *Chlamydomphila pneumoniae* було зафіксовано виражене зростання показника вмісту продуктів метаболізму оксиду азоту (NO₃+NO₂) в периферійній крові до (21,38±1,86) (p<0,01) мкмоль/л у порівнянні з групою ПЗО (5,19±0,14) (p<0,01) (табл. 1).

В БАР також збереглась тенденція наростання показників NO₃+NO₂ у групі пацієнтів з НП, інфікованих *Chlamydomphila pneumoniae*, на тлі дестабілізації перебігу ІХС і склав (27,89±1,98) (p<0,01) нмоль/мл при показниках в контрольній групі (5,87±0,23) (p<0,05) нмоль/мл.

Застосування комплексної терапії, до складу якої входило використання препарату тівортину аспарат протягом 15 діб, дозволило досягнути на час повторного обстеження наступних результатів: показник вмісту продуктів метаболізму оксиду азоту (NO₃+NO₂) в периферійній крові знизився до (10,19±0,73) (p<0,01) мкмоль/л, а в БАР – до (12,03±0,92) (p<0,01) нмоль/мл (табл. 1).

Підвищення рівня NO і вільних радикалів, констатоване нашими дослідженнями, створює умови для гіперпродукції ONOO- і веде до значного збільшення його локальної концентрації в судинній стінці [2]. При високих концентраціях ONOO- дуже токсичний, індукує апоптоз [2], блокує синтез простагліцину і підсилює синтез тромбоксану, викликає фрагментацію білків за рахунок нітрації амінокислот і ліпопротеїнів і цим самим ініціює автоімунні реакції до гаптенів [2], індукує окислення ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), тобто призводить до утворення найважливішого чинника, що пошкоджує систему NOS-3. Враховуючи час напівжиття ONOO-, що становить приблизно 1 секунду, можна припустити, що він встигає дифундувати від місця його утворення на відстань, рівну декільком клітинним діаметрам, що цілком достатньо для того, щоб проявити свій специфічний руйнівний характер. Розпад ONOO- відбувається 3 різними способами, проте в кінцевому результаті утворюються або нітрати (NO₃), або нітрити (NO₂).

Серед численних імовірних варіантів модифікації ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), здатних призвести до порушення синтезу NO, що має безперечне відношення як до патогенезу атеросклеротичного процесу взагалі, так і до дестабілізації перебігу ішемічної хвороби зокрема, найбільше значення несе їх окислювальна модифікація. Окислені ЛПНЩ вважаються одним з найважливіших чинників ризику атеросклерозу і активуються під впливом ONOO- [2]. Можливо, саме зниження рівня активного NO обумовлює вплив окислених ЛПНЩ на атеросклероз.

Лізофосфатидилхолін (ЛФХ) - основний чинник пошкодження окислених ЛПНЩ. ЛФХ здатен до ушкодження системи ендотеліальної синтетази NOS-3. Так, навіть низькі і помірні рівні ЛФХ сприяють зниженню активності та кількості синтетази. При цьому зворотне захоплення ендотеліоцитами L-аргініну, який є єдиним субстратом для синтезу NO, значно понижене. Це призводить до збільшення кількості супероксид-радикалів, а отже, й до синтезу ONOO-, котрий в свою чергу здатний активувати окислення ЛПНЩ, що призводить до виникнення «замкнутого патологічного кола».

Велика кількість вільних радикалів при запаленні призводить до розвитку ендотеліальної дисфункції, при якій посилення продукції NO в ендотелії створює чудові умови для утворення токсичних рівнів ONOO-. Основними прояви ендотеліальної дисфункції є: зниження синтезу і порушення біодоступності NO внаслідок пригнічення експресії чи інактивації ендотеліальної NO-синтази; підвищення деградації NO ще до досягнення місця його дії; зменшення на поверхні ендотеліальних клітин щільності мускаринових рецепторів, подразнення яких у нормі призводить до утворення NO; підвищення продукції ендотелієм ендотеліну-1 та інших вазоконстрикторних факторів; порушення цілісності ендотелію.

Під впливом високих рівнів інтерлейкіну-1 та TNF-α, що значно зростають при НП загалом та хламідійній інфекції зокрема, відсутність інгібуючої дії NO на ендотеліоцити призводить до значного збільшення експресії адгезивних молекул, це приводить до так званого «хомінгу» (скупчення) запальних клітин в ендотелії та субендотеліальному просторі. Надалі відбуваються захоплення макрофагами холестерину, різних ліпопротеїнів і формування «ядра» бляшки [1].

Можливим механізмом порушення синтезу NO та розвитку в судині проатерогенних змін є ушкоджувальна дія різних цитокінів (Інтерлейкіни-1,-6, TNF-α, IFN-γ), що набувають критично-високих рівнів як при запаленні, так і при інфікуванні *Chlamydomphila pneumoniae* [1]. Вони активують другу систему синтезу NO (NOS-2), здатну синтезувати токсичні кількості NO, котрий при наявності вільних радикалів моментально перетворюється в ONOO- [2].

Рівень продукції цитокінів ендотелієм судин легенів впливає на перебіг НП. Активовані цитокінами і бактерійними ендотоксинами альвеолярні макрофаги підсилюють синтез NO [2], також збільшується рівень продукції NO й епітеліоцитами бронхів та альвеол, нейтрофілами, опасистими клітинами, ендотеліоцитами і гладком'язовими клітинами легеневої судин. Продукований в результаті активації NOS-2 оксид

азоту, призначений, в першу чергу, для неспецифічного захисту організму [1]. Виділяючись із макрофагів, NO швидко проникає в бактерії, гриби, зокрема *Chlamydomphila pneumoniae*, де інгібує три життєво важливі групи ферментів: транспортні для Н-електрона, циклу Кребса і синтезу ДНК [2]. NO залучається до захисту організму на останніх етапах імунної відповіді і образно розглядається «могутньою силою» імунної системи. Проте, накопичуючись в клітинах в неадекватно великих кількостях, NO надає і пошкоджувальний ефект через синтез ONOO-.

Отже, основними причинами порушення синтезу та біодоступності NO є: дефіцит субстрату NO – L-аргініну, порушення експресії eNOS, прискорений метаболізм NO з утворенням пероксинітриду, окисленням ЛПНЩ з утворенням лізофосфатидилхоліну.

Застосування L-аргініну у пацієнтів із НП на тлі ІХС при інфікуванні *Chlamydomphila pneumoniae* обґрунтовано наступними механізмами: включенням в синтез NO шляхом аргінін-оксидазотного шляху перетворення, зменшенням адгезії лейкоцитів до ендотелію, що в свою чергу покращує ендотеліальну дисфункцію, зменшенням агрегації тромбоцитів та, як наслідок, зниженням активного формування атеросклеротичної бляшки, відновленням ендотеліязалежної вазодилатації при атеросклерозі, зниженням формування окислених ЛПНЩ.

Висновки

Збільшення вмісту продуктів метаболізму оксиду азоту (нітратів (NO₃)/нітритів (NO₂)) в 4,1 рази в крові та в 4,8 рази в БАР порівняно із показниками групи контролю, що є чіткою ознакою дестабілізації перебігу ішемічної хвороби серця в пацієнтів, інфікованих *Chlamydomphila pneumoniae* при НП, ліквідуватися шляхом включення в комплексну терапію препарату тівортину аспартат курсом 15 днів по 5 мл (1 г) 3 рази на добу per os.

Перспективність подальших досліджень: полягає у оцінці віддалених результатів медикаментозної корекції загрозливих для життя ускладнень з боку серцево-судинної системи, що значно скоротить фармакоекономічні витрати та термін госпіталізації, покращить ефективність та дієвість лікування пацієнтів, а значить і якість їх життя.

Табл. 1

Сума кінцевих метаболітів оксиду азоту (нітратів (NO₃)/нітритів (NO₂)) у периферійній крові (мкмоль/л) хворих та бронхоальвеолярній рідині (нмоль/мл) (M±m)

| Показник | NO ₂ +NO ₃ в крові (мкмоль/л) | NO ₂ +NO ₃ в БАР (нмоль/мл) |
|---|---|---|
| ПЗО, n=17 | 5,19±0,14 | 5,87±0,23 |
| Хворі з НП на тлі ІХС інфіковані <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> до лікування, n=18 | 21,38±1,86 | 27,89±1,98 |
| Хворі з НП на тлі ІХС інфіковані <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> після лікування, n=18 | 10,19±0,73 | 12,03±0,92 |

Література

- Nathan C. T. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity [text] / C. T. Nathan, J. B. Hibbs // *Curr. Opin. Immunol.* – 1991. – Vol.3. – P. 65-70.
- Barnes P. J. Nitric oxide and airway disease [text] / P. J. Barnes // *Ann. Med.* – 1995. – Vol.27, N3. – P. 389-393.
- Verdon, C. P. Sample pretreatment with nitrate reductase and glucose-6-phosphate dehydrogenase quantitatively reduces nitrate while avoiding interference by NADP1 when the Griess reaction is used to assay for nitrite [text] / C. P. Verdon, B. A. Burton, R. L. Prior. // *Anal. Biochem.* – 1995. – № 224. – P. 502–508.
- Мостовий Ю. М. Розповсюдженість інфікування *Chlamydomphila pneumoniae* у хворих бронхіальною астмою, вплив на клінічний перебіг [текст] / Ю. М. Мостовий, В. О. Галінська // *Укр. пульмон. журн.* – 2003. – №1. – 139 с.
- Наказ МОЗ України №128 від 19.03.2007 "Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Пульмонологія".
- Негоспітальна пневмонія у дорослих: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антибактеріальна терапія / Ю. І. Феценко [та ін.] // *Укр. хіміотерапев. журн.* – 001. – №3 – С. 58-64.
- Новиков Ю. К. Атипичные пневмонии [текст] / Ю. К. Новиков // *Русский медицинский журнал.* – 2002. – Т.10, №20. – С. 915-918.

Особенности метаболизма оксида азота у больных с негоспитальной пневмонией на фоне ишемической болезни сердца в зависимости от верификации *Chlamydomphila pneumoniae*.

О.И. Варункив, Л.В. Глушко, Н.Н. Островский

Цель работы является оценка состояния продуктов метаболизма оксида азота периферической крови и бронхоальвеолярной жидкости после медикаментозной коррекции у больных с ИБС на фоне ИБС при детекции *Chlamydomphila pneumoniae*. Состояние метаболизма оксида азота изучали в 18-ти пациентов с негоспитальной пневмонией на фоне ИБС у лиц, инфицированных *Chlamydomphila pneumoniae* в возрасте от 50 до 65 лет, комплексная терапия которых дополняется использованием лекарственного препарата тивортин аспарат, который принимают внутрь во время еды, по 5 мл (1 г) 3 раза в сутки в течение 15 дней. Контрольная группа составила 17 практически здоровых лиц. Увеличение содержания продуктов метаболизма оксида азота (нитратов / нитритов) в 4,1 раза в крови и в 4,8 раза по БАР сравнению с показателями группы контроля, что является четким признаком дестабилизации течения ишемической болезни сердца у пациентов, инфицированных *Chlamydomphila pneumoniae* при негоспитальной пневмонии, может ликвидироваться путем включения в комплексную терапию препарата тивортин аспартата курсом 15 дней по 5 мл (1 г) 3 раза в сутки per os.

Features of nitric oxide metabolism in patients with community acquired pneumonia against a background of coronary heart disease depending on the verification of *Chlamydomphila pneumoniae*.

O.I. Varunkiv, L.V. Glushko, M.M. Ostrovskyy

The purpose of this study is to assess the level of metabolic products of nitric oxide from peripheral blood and bronchoalveolar fluid after drug correction in patients with community acquired pneumonia and coronary heart disease in *Chlamydomphila pneumoniae* detection. Nitric oxide metabolism was studied in 18 patients with CAP and CHD in persons infected with *Chlamydomphila pneumoniae* aged 50 to 65 years, a comprehensive therapy which is supplemented by the use of the tivortin aspartate, which are dosed for 5 ml (1 g) 3 times a day for 15 days per os. The control group comprised 17 healthy individuals. The increase of metabolic products of nitric oxide (nitrate / nitrite) in 4.1-fold in blood and 4.8 times the BAR compared with the control group, which is a clear sign of the destabilization of CHD in patients infected with *Chlamydomphila pneumoniae* in community acquired pneumonia, may be eliminated by the inclusion of combined therapy tivortin aspartate course of 15 days to 5 ml (1 g) 3 times a day per os.