

# РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В РЕАКЦИИ АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ОБСТРУКТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ

*В.И. Блажко, В.В. Ефимов, Т.Н. Бонгарь, И.В. Талалай*

*Институт терапии им. А.Т. Малой АМН Украины, Харьков*

**Ключевые слова:** хронические обструктивные заболевания легких, оксид азота, дисфункция эндотелия, гипоксический стресс.

Установлено, что в реакции адаптации к гипоксии ведущую роль играет оксид азота (NO). Показано, что при адаптации к периодической гипоксии в органах и тканях происходит изменение экспрессии генов, кодирующих разные формы NO-синтазы и сосудистых NO-зависимых реакций [2].

Адаптация к гипоксии может быть связана с активизацией эндогенных NO-зависимых антиапоптотических механизмов. Принципиальная возможность NO подавлять апоптоз белка продемонстрирована на нескольких клеточных мишенях, включая эндотелиальные клетки, лимфоциты и эозинофилы [3, 7, 9].

Важнейшим механизмом адаптации к гипоксии является реакция сосудистой системы малого круга кровообращения [4, 8]. Сейчас уже хорошо известно, что уровень сосудистого тонуса в норме и при патологии в значительной степени определяется балансом дилататорных и констрикторных факторов эндотелиальной природы. К первым относится простациклин, эндотелиальный релаксирующий фактор, идентифицированный как NO; ко вторым — эндотелин, тромбоксан A<sub>2</sub> [9].

Вместе с тем вопрос о том, какие конкретные механизмы лежат в основе защитного действия адаптации к гипоксии, до сих пор остается открытым.

Цель работы — изучить роль оксида азота при адаптации к гипоксии у больных бронхиальной астмой (БА) и хроническими обструктивными заболеваниями легких (ХОЗЛ).

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В условиях пульмонологической клиники нами представлены две модели развития гипоксии: острой (у больных с обострением БА) и хронической (у пациентов с ХОЗЛ).

Больных БА включали в исследование в случае резкого ухудшения течения заболевания, усиления

одышки, уменьшения показателей функции внешнего дыхания (ФВД), характеризующих бронхиальную проходимость (ОФВ<sub>1</sub>, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ, ПОС<sub>вмд</sub>).

У пациентов с ХОЗЛ, включенных в исследование, длительность заболевания превышала два года, большинство были курильщики со стажем курения более 10 пачко-лет, ОФВ<sub>1</sub> был меньше 80% от должной, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ меньше 70%, обратимость ОФВ<sub>1</sub> после ингаляции 200 мкг сальбутамола не превышала 15%.

Для решения поставленной задачи было обследовано 54 больных в возрасте от 20 до 74 лет. У 25 диагностировано обострение бронхиальной астмы различной тяжести, у 29 — ХОЗЛ II—IV стадии. Контрольную группу составили 12 практически здоровых лиц.

Кроме того, в исследование были включены 9 курильщиков со стажем курения не менее 10 пачко-лет с нормальной вентиляционной функцией легких.

Обследование проводили в условиях стационара. Диагноз устанавливали на основании клинической картины заболевания, лабораторно-функциональных методов исследования. Функцию внешнего дыхания исследовали с помощью спирометра Спиросифт-3000 (Япония). Сатурацию кислорода определяли при помощи пульсоксиметра «Ютас-окси» (Украина).

В плазме крови определяли сумму стабильных метаболитов оксида азота — NO<sub>2</sub> и NO<sub>3</sub> с помощью набора реактивов для установления общего оксида азота (Total NO) производства «RD-system» (сумма нитрата и нитрита рассматривается как маркер эндогенного синтеза NO).

Количественные данные обрабатывали методом вариационной статистики с определением средней арифметической, критерия достоверности различий, уровня значимости отличий и коэффициента корреляции рангов Спирмена на компьютере IBM в операционных стандартах Windows с

помощью приложения Microsoft Excell. Различия между средним арифметическим считали достоверным при  $P < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В зависимости от выраженности вентиляционных нарушений в период обострения бронхиальной астмы больных разделили на три группы: 1-я — пациенты с умеренными нарушениями вентиляции по обструктивному типу (ОФВ<sub>1</sub> в пределах 50—80% от должной величины;  $n = 9$ ), 2-я — больные с тяжелыми обструктивными нарушениями вентиляции (ОФВ<sub>1</sub> в пределах 30—50% от должной величины;  $n = 8$ ), 3-я — больные с очень тяжелыми обструктивными нарушениями (ОФВ<sub>1</sub> < 30% от должной величины или спирографию провести не удалось из-за выраженности одышки,  $n = 8$ ).

Как видно из табл. 1, в период обострения БА у всех обследуемых отмечено достоверное повышение суммарного содержания нитратов и нитритов (NO<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub>) в плазме крови по сравнению с показателями контрольной группы. Наблюдалась зависимость между уровнем оксида азота и выраженностью вентиляционных нарушений. Так, при умеренных обструктивных нарушениях содержание NO<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub> составило (82,2 ± 6,8) мкмоль/л ( $P < 0,05$ ), при тяжелой бронхиальной обструкции — (124,6 ± 7,7) мкмоль/л ( $P < 0,01$ ), а при очень тяжелых обструктивных нарушениях — (138,5 ± 8,2) мкмоль/л ( $P < 0,01$ ).

Для выявления возможной связи между активностью оксида азота и процессами обструкции дыхательных путей проведен корреляционный анализ

показателей функции внешнего дыхания и концентрации оксида азота. Наиболее тесная корреляция выявлена между ОФВ<sub>1</sub> и уровнем NO<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub> ( $r = -0,48$ ,  $P < 0,05$  при умеренной обструкции;  $r = -0,56$ ,  $P < 0,01$  при значительной обструкции,  $r = -0,61$ ,  $P < 0,01$  при очень тяжелой обструкции).

Таким образом, ухудшение вентиляционной функции легких и высокая воспалительная активность при обострении БА является мощным стимулом для синтеза оксида азота. Динамика активности синтеза оксида азота может быть связана с особенностью формирования воспалительного процесса при БА и гипоксическом стрессе, развивающемся в результате обструкции и гипоксии.

После проведенного лечения и стабилизации течения заболевания отмечено значительное снижение концентрации NO<sub>2</sub> + NO<sub>3</sub> по сравнению с периодом обострения. Нами не отмечена зависимость между концентрацией оксида азота в период обострения и ремиссией БА (см. табл. 1).

В зависимости от особенностей течения заболевания, а также выраженности вентиляционных нарушений больные ХОЗЛ были разделены на три группы: ХОЗЛ II стадии (ОФВ<sub>1</sub> находился в пределах от 50 до 80% от должных величин, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ < 70%,  $n = 11$ ), ХОЗЛ III стадии (ОФВ<sub>1</sub> — 30—50% от должной величины, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ < 70%,  $n = 10$ ), ХОЗЛ IV стадии (ОФВ<sub>1</sub> < 30%, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ < 70%,  $n = 8$ ).

Как видно из табл. 2, содержание оксида азота в плазме крови у больных ХОЗЛ оказалось значительно ниже по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с БА.

Таблица 1. Содержание NO<sub>2</sub>+NO<sub>3</sub> в плазме крови у больных БА, мкмоль/л

Период заболевания	I группа (n = 9)	II группа (n = 8)	III группа (n = 8)	Контрольная группа (n = 12)
Период обострения	82,2 ± 6,8*	124,6 ± 7,7**	138,5 ± 8,2*	38,9 ± 4,4
Период ремиссии	46,7 ± 4,6	42,7 ± 4,6	59,1 ± 6,7*	

Примечание. \* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ .

Таблица 2. Содержание NO<sub>2</sub>+NO<sub>3</sub> в плазме крови у больных ХОЗЛ и у курильщиков, мкмоль/л

Период заболевания	ХОЗЛ II стадии (n = 11)	ХОЗЛ III стадии (n = 10)	ХОЗЛ IV стадии (n = 8)	Курильщики (n = 9)	Контрольная группа (n = 12)
Период обострения	58,4 ± 3,7*	30,2 ± 4,6**	17,4 ± 3,1*	27,6 ± 3,8*	38,9 ± 4,4
Период ремиссии	30,2 ± 4,1*	26,4 ± 3,1*	15,2 ± 2,6*		

Примечание. \* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ .

Если обострение БА сопровождалось повышением концентрации  $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$  в 2—3 раза по сравнению с контрольной группой с последующим снижением в период ремиссии, то при обострении ХОБ умеренное повышение уровня оксида азота отмечено только в случае умеренной легочной обструкции (ОФВ<sub>1</sub> 50—80% от должной). У больных ХОЗЛ III и IV стадии период обострения не сопровождался достоверным повышением  $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$  в плазме крови. С позиций адаптации к гипоксии отсутствие увеличения синтеза оксида азота в период ухудшения вентиляционной функции легких, а также воспалительной активности у больных ХОЗЛ необходимо рассматривать как эндотелиальную дисфункцию, приводящую к снижению способности сосудистой стенки адекватно реагировать на изменение вентиляционной функции легких.

В период вне инфекционного обострения ХОЗЛ концентрация  $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$  в плазме крови оказалась существенно ниже по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе и у пациентов БА. По мере ухудшения вентиляционной функции легких при ХОЗЛ наблюдалось снижение эндогенного синтеза оксида азота. Таким образом, выявлена зависимость между основными показателями, характеризующими вентиляционную функцию легких, и уровнем синтеза оксида азота. Наиболее тесная прямая корреляционная связь прослеживалась между ОФВ<sub>1</sub> и концентрацией  $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ . Коэффициенты корреляции, отражающие силу функциональной связи, составили соответственно: при ХОЗЛ II стадии  $r = 0,32$ ; ХОБ III стадии —  $r = 0,45$ ; ХОБ IV стадии —  $r = 0,61$ .

Одним из объяснений полученных результатов может быть увеличение связывания оксида азота в физиологически активное депо при хронической гипоксии (гемовое и негемовое железо, тиолы).

Однако более важным является отсутствие увеличения синтеза оксида азота при обострении ХОЗЛ и усилении гипоксии, особенно у больных с гипоксемией (сатурация кислорода ( $\text{Sa O}_2$ ) менее 92% по данным пульсоксиметрии), тогда как адаптация к гипоксии в нормальных условиях должна сопровождаться повышением продукции оксида азота как важного фактора адаптации к различным видам гипоксии. Потеря способности сосудистого эндотелия адекватно реагировать на нарушения вентиляционной функции легких неблагоприятно влияет на течение ХОЗЛ и ведет к необратимым изменениям в малом круге кровообращения.

Учитывая важнейшую роль фактора курения в патогенезе ХОЗЛ, нами изучена концентрация оксида азота у курильщиков со стажем курения не менее 10 пачко-лет без нарушения вентиляционной функции легких. Содержание  $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$  у курильщиков в среднем по группе составило  $27,6 \pm 3,8$  мкмоль/л,  $P < 0,05$  и оказалось ниже уровня контрольной группы.

Таким образом, табачный дым оказывает не только повреждающее действие на слизистую дыхательных путей, но и вызывает нарушение функции эндотелия в период, когда вентиляционная функция легких еще не нарушена. Полученные результаты являются предпосылкой необходимости более ранней коррекции функции эндотелия у больных ХОЗЛ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кароли Н.А., Ребров А.П. Влияние курения на развитие эндотелиальной дисфункции у больных хронической обструктивной болезнью легких // Пульмонология.— 2004.— № 2.— С. 70—78.
2. Лев Н.С. Патогенетическая роль оксида азота при бронхиальной астме // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.— 2000.— № 4.— С. 48—51.
3. Малышев И.Ю., Монастырская Е.А., Смирин Б.В., Манухина Е.Б. Гипоксия и оксид азота // Вестн. РАМН.— 2000.— № 9.— С. 44—48.
4. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю., Архипенко Ю.В. Оксид азота в сердечно-сосудистой системе: роль в адаптационной защите // Вестн. РАМН.— 2000.— № 4.— С. 16—20.
5. Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И. Роль окиси азота в регуляции легочных функций // Тер. архив.— 1997.— № 3.— С. 68—73.

6. Сепиашвили Р.С., Шубич М.Г., Карлюк В.Б. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии // Астма.— 2001.— № 2.— С. 5—14.

7. Тюрина С.Н. Влияние аргинина нитрата на проходимость бронхов и функцию эндотелия у больных со стенокардией напряжения и сопутствующим хроническим обструктивным бронхитом // Укр. кардиол. журн.— 2002.— № 6.— С. 45—48.

8. Clini E., Cremona G., Campana M. Production of endogenous nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease and patient with cor pulmonale // Am. J. Respir. Crit. Care Med.— 2000.— Vol. 162.— P. 446—450.

9. Curzen N., Archer S. Chronic lung disease and pulmonary hypertension: yes or no to NO? // Thorax.— 1997.— Vol. 52.— P. 105—106.

10. Ichinose M., Sugiura H., Yamagata S. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways // Am. J. Respir. Crit. Care Med.— 2000.— Vol. 162.— P. 701—706.

## РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В РЕАКЦІЇ АДАПТАЦІЇ ДО ГІПОКСІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ОБСТРУКТИВНІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

**В.І. Блажко, В.В. Єфимов, Т.Н. Бондар, І.В. Талалай**

Досліджено сумарний зміст стабільних метаболітів оксиду азоту ( $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ ) у плазмі крові 25 хворих на бронхіальну астму (БА) різного ступеня тяжкості в стадії загострення та 29 хворих із загостренням хронічного обструктивного бронхіту (ХОБ) II—IV стадії. У період загострення БА спостерігалось достовірне збільшення рівня ( $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ ) у плазмі крові порівняно з контрольною групою. Виявлено залежність між рівнем оксиду азоту та ступенем вентиляційних порушень. Зміст оксиду азоту в пацієнтів з ХОБ був значно нижчим, ніж при БА. Динаміка активності синтезу оксиду азоту може бути пов'язана з особливостями запальної реакції при БА та ХОБ, а також з гіпоксичним стресом, що розвивається внаслідок обструкції та гіпоксії.

## THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN THE REACTION OF ADAPTATION TO HYPOXIA IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES

**V.I. Blazhko, V.V. Efimov, T.N. Bondar, I.V. Talalay**

The total level of nitric oxide stable metabolites in blood plasma of 25 patients with bronchial asthma (BA) of various degrees of severity under exacerbation and 29 patients with exacerbation of COPD of II—IV stage has been examined. In the BA exacerbation period the significant increase of blood plasma  $\text{NO}_2 + \text{NO}_3$  levels vs. control group was observed. The dependence between nitrogen oxide level and degree of ventilation disturbances has been revealed. Nitric oxide content in blood plasma of patients with COPD was considerably lower than at BA. The dynamics of nitric oxide synthesis activity may be connected with peculiar features of inflammatory reaction at BA and COPD as well as with hypoxic stress developing as a result of bronchial obstruction and hypoxia.