

О.О. Клекот

Вінницький національний
медичний університет
ім. М.І. Пирогова

МЕТАБОЛІЗМ НІТРОГЕНУ ОКСИДУ ПРИ СЧВ-АСОЦІЙОВАНІЙ ЛЕГЕНЕВІЙ АРТЕРІАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Ключові слова: СЧВ-асоційована легенева артеріальна гіпертензія, нітрогену оксид, нітрозотіоли.

Резюме. Робота присвячена вивченню особливостей метаболізму нітрогену оксиду при легеневій артеріальній гіпертензії у хворих на системний червоний вовчак (СЧВ). Незважаючи на підвищені рівні нітратів та нітритів у крові пацієнтів (на 20% вищі порівняно з контролем), активний пул нітрогену оксиду, представлений S-нітрозотіолами, є досить низьким, порівняно зі здоровими особами ($1,7 \pm 0,4$ та $2,08 \pm 0,4$ мкмоль/л відповідно). Дефіцит S-нітрозотіолів достовірно поглиблюється (-24%) при розвитку СЧВ-асоційованої легеневої гіпертензії ($p < 0,001$).

ВСТУП

За короткий період, який пройшов з моменту відкриття ангіотропної функції нітрогену оксиду (NO), вченим вдалося накопичити величезний клінічний та експериментальний матеріал щодо фізіологічного і патофізіологічного значення цієї маленької високореактивної ліпофільної молекули в людському організмі, проте сьогодні інтерес до метаболізму NO все ж не зменшується, особливо в ревматології (Ремізова М.І., 2000; Степанов Ю.М. і соавт., 2004).

Легенева артеріальна гіпертензія (ЛАГ) — хвороба малих легеневих артерій, що характеризується судинною проліферацією та ремоделюванням (Runo J.R., Loyd J.E., 2003; Farber H.W., Loscalzo J., 2004). Нелікована ЛАГ неминуче призводить до прогресуючої правошлункової недостатності та асоціюється з високим ризиком раптової смерті (Highland K.B., Gilkeson G., 2008). Підвищення тиску в легеневій артерії при системному червоному вовчаку (СЧВ) можливе у 0,5–43% пацієнтів (Shen J.Y. et al., 1999; Pan T.L. et al., 2000), однак розповсюдженість коморбідності СЧВ та ЛАГ має тенденцію до зростання (Winslow T.M. et al., 1995).

Однією з головних причин розвитку ЛАГ при СЧВ є дисбаланс вазоконстрикторних (ендотелін 1, тромбоксан A_2 , серотонін), вазодилатуючих (NO, простагландин I_2) та антитромботичних субстанцій, що підтримуються високими рівнями концентрацій судинозвужувальних реагентів у сироватці крові при СЧВ-асоційованій ЛАГ, порівняно із хворими на СЧВ без ЛАГ та здоровими людьми (Fagan K.A., Badesch D.B., 2002).

NO — потужний ендогенний вазодилататор, тому відіграє ключову роль у регуляції системного та легеневого судинного опору, а також у процесах коагуляції крові (Маляя Л.Т. і соавт., 2000). В організмі людини синтез NO відбувається з амінокислоти L-аргініну при участі ферментів NO-синтаз (ендотеліальна, нейрональна, індукційна). Домінуючим ферментом у синтезі NO в легеневому кровоносному руслі є ендотеліальна NO-синтаза (NOS_3), яка експресується на ендотелії судин (Dudzinsski D.M. et al., 2006). У нормі нейрональна та індукційна NO-синтази в малих кількостях виявляються на епітелії повітроносних шляхів та у гладком'язових судинних клітинах. При розвит-

ку системної ревматичної патології під впливом різних імуногенних стимулів відбувається експресія гена, відповідального за синтез індукційної NO-синтази (NOS_2) у макрофагах, фібробластах та інших клітинах, внаслідок чого можливе суттєве зростання концентрації NO у крові, що сприяє імунному захисту (Ванін А.Ф., 2000; Марков Х.М., 2000). Регуляція надмірної експресії NOS_2 у відповідь на цитокіни та інші фактори запалення при патогенетичній терапії системних захворювань сполучної тканини може здійснюватися застосуванням глюкокортикоїдів, деяких цитостатиків та нестероїдних протизапальних засобів, що може створювати дисбаланс у нітросидергічній системі організму (Honda S. et al., 2000; Nakamura H. et al., 2000).

Молекула NO — нестабільна (середня тривалість життя молекули NO в організмі людини становить < 5 с), тому основна маса NO, залученого в коловорот, приходить не на NO, а на продукти його окиснення, які утворюють депо вільного NO в організмі людини. Найкраще вивчені реакції нітрозилування SH-груп залишків амінокислоти цистеїну, в результаті чого утворюються нітрозотіоли (SNO). Середня тривалість життя молекул SNO, залежно від радикалу R, становить десятки хвилин і навіть години. За останніми даними літератури, SNO також володіють вазодилатуючою активністю, подібно до ендотеліального вазодилатуючого фактора. NO у таких стабільних транспортних субстанціях за допомогою гемоглобіну може мігрувати на великі відстані в організмі й проявляти свою активну дію в необхідних ділянках судинного русла (Singel D.J., Stamler J.S., 2005).

Мета роботи — дослідити стан нітросидергічної системи при розвитку ЛАГ у хворих на СЧВ шляхом визначення рівнів стабільних метаболітів NO — нітратів, нітритів та показників депонованого NO — SNO у крові у хворих на СЧВ-асоційовану ЛАГ.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 70 пацієнтів із СЧВ, серед яких 59 осіб жіночої статі, а також 20 практично здорових, репрезентативних за віком і статтю щодо досліджуваної групи. Діагноз СЧВ встановлювали на основі критеріїв ACR (1997) і формулювали згідно з класифікацією Української асоціації ревматологів (2004). Середній

вік пацієнтів становив $44,0 \pm 1,4$ року. ЛАГ діагностовано за допомогою загальноклінічних методів та доплер-ехокардіографії у 30 пацієнтів із СЧВ. Середня тривалість захворювання на СЧВ — $13,7 \pm 0,9$ року. Ступінь активності СЧВ оцінювали за шкалою SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index). Інтегративний індекс активності становив $8,13 \pm 3,3$ бала, що відповідає помірному ступеню активності СЧВ. Тривалість терапії глюкокортикоїдами (ГК) в середньому становила $8,39 \pm 0,7$ року. Добова доза ГК за преднізолоном на час обстеження коливалася від 2,5 до 25 мг (в середньому — $11,38 \pm 0,74$ мг).

Забір крові для біохімічного дослідження проводили зранку натще з ліктьової вени на наступний день після госпіталізації хворого. Всі обстежувані перебували в умовах однакової рухової активності. Виключалися прийом нітровомих лікарських засобів та вживання продуктів із можливим вмістом нітратів і нітритів.

Для вивчення стану нітросидергічної системи визначали рівні нітриту (NO_2^-) та нітрату (NO_3^-) у сироватці крові, за реакцією з реактивом Гріса після осадження білків ацетонітрилом. Вміст SNO визначали у безбілкових аліквотах плазми крові за приростом нітрит іонів після гідролізу S-N зв'язків ацетатом ртуті (мкмоль/л).

Результати досліджень обробляли за допомогою програми Statistica. Для визначення достовірності різниці при порівнянні середніх значень використовували критерій Стьюдента (p). Різниця вважалася достовірною при $p < 0,05$. Для оцінки направленості та сили зв'язку між показниками використовували методи кореляційного аналізу з розрахунком коефіцієнту кореляції (r).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для аналізу впливу активності СЧВ та ЛАГ при СЧВ на метаболічні показники NO учасників розподілено на відповідні групи (таблиця) У ході дослідження встановлено достовірне підвищення рівнів стабільних метаболітів NO (нітритів та нітратів) у сироватці крові пацієнтів із СЧВ порівняно зі здоровими особами (рис. 1), що відповідає даним літератури. Підвищення рівня стабільних метаболітів NO (нітратів, нітритів) у межах від 20 до 40 мкм/л при запальних процесах має адаптивне та регуляторне значення, оскільки пригнічує апоптичні та покращує метаболічні процеси у клітинах (Бувальцев В.И. і соавт., 2002; Каминская Л.Ю. і соавт., 2005). Причому зростання активності запального процесу при СЧВ асоціюється з приростом метаболітів NO у крові, що підтверджує стимулювальний вплив прозапальних факторів на експресію індукцибельної ізоформи NO-синтази. Так, у пацієнтів із СЧВ I ступеня активності загальна кількість нітратів та нітритів у крові збільшилася майже на 21%, тоді як при II ступеню активності — на 37%, порівняно зі здоровими особами ($p < 0,001$). Максимальне підвищення концентрації нітратів та нітритів крові спостерігалося при СЧВ II ступеня активності ($20,89 \pm 0,77$ мкм/л). З розвитком ЛАГ у пацієнтів із СЧВ відзначається деяке зниження на 10% вмісту загальних метаболітів NO, що має тенденцію до достовірності, порівняно із хворими на СЧВ з нормальним тиском у легеневій артерії. Можливо, таке падіння концентрації загаль-

них метаболітів NO у пацієнтів із СЧВ-ЛАГ зумовлене зниженням активності саме ендотеліальної ізоформи NO-синтази, внаслідок формування вираженої дисфункції ендотелію в умовах гіпертензії.

Таблиця

Рівні метаболітів NO (NO_2^- , NO_3^-) та SNO у хворих на СЧВ				
Група		$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$, мкмоль/л	NO_2^- , мкмоль/л	SNO, мкмоль/л
1-ша	Контроль (n=20)	$15,26 \pm 0,39$	$3,7 \pm 0,12$	$2,08 \pm 0,07$
2-га	СЧВ I ступінь активності (n=24)	$18,48 \pm 0,66^{**}$	$4,81 \pm 0,16^*$	$1,85 \pm 0,04^*$
3-тя	СЧВ II ступінь активності (n=16)	$20,89 \pm 0,77^{**}$	$5,87 \pm 0,18^*$	$1,6 \pm 0,04^{**}$
4-та	СЧВ I ступінь активності + ЛАГ (n=12)	$17,3 \pm 0,54^*$	$4,3 \pm 0,26^*$	$1,7 \pm 0,05^{**}$
5-та	СЧВ II ступінь активності + ЛАГ (n=18)	$19,12 \pm 0,51^{**}$	$5,15 \pm 0,37^*$	$1,5 \pm 0,05^{**}$

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$ порівняно з групою контролю; * $p < 0,05$ порівняно з 2-ю групою; ** $p = 0,05$ порівняно з 3-ю групою.

Показники загальних метаболітів NO

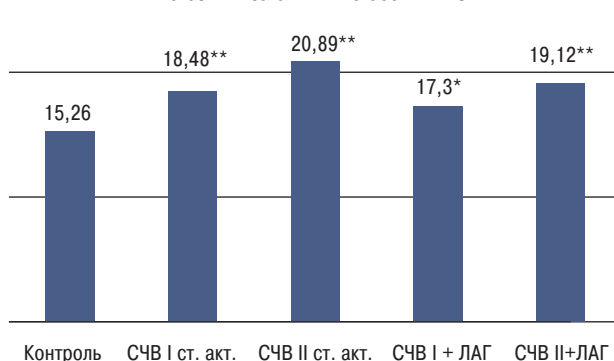


Рис. 1. Порівняння показників NO_2^- та NO_3^- у крові хворих на СЧВ та у здорових осіб (мкмоль/л). * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$ порівняно з групою контролю

Зовсім протилежні дані отримані нами при визначенні депонованих форм NO — SNO (рис. 2). Так, у хворих на СЧВ I ступеня активності рівень активного пулу NO, представленого SNO, був на 11% нижчий порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). Дефіцит SNO достовірно збільшувався до (-27%) зі зростанням активності запального процесу при СЧВ, та до (-30%) із розвитком легеневої гіпертензії ($p < 0,001$). Відомо, що СЧВ із високою активністю супроводжується розвитком оксидативного стресу, продукти якого можуть ініціювати окиснення сульфгідрильних груп у тиольних сполуках з утворенням дисульфідних зв'язків, які в подальшому неспроможні депонувати молекулу NO. Може мати значення і пригнічення активності ендотеліальної NO-синтази при СЧВ, що також сприяє зниженій продукції SNO, оскільки відомі дані, що саме продукт цього ферменту має здатність інкорпоруватися у SNO.

Отже, розвиток ендотеліальної дисфункції при СЧВ-асоційованій гіпертензії не викликає сумнівів і супроводжується підвищенням концентрації в плазмі крові стабільних метаболітів NO (нітритів та нітратів) і зниженням активних депо-сполук NO — SNO. Фармакологічний вплив на цю патофізіологічну ланку з корекцією оксидативного стресу може бути доцільним при фармакотерапії легеневої гіпертензії у хворих на СЧВ.

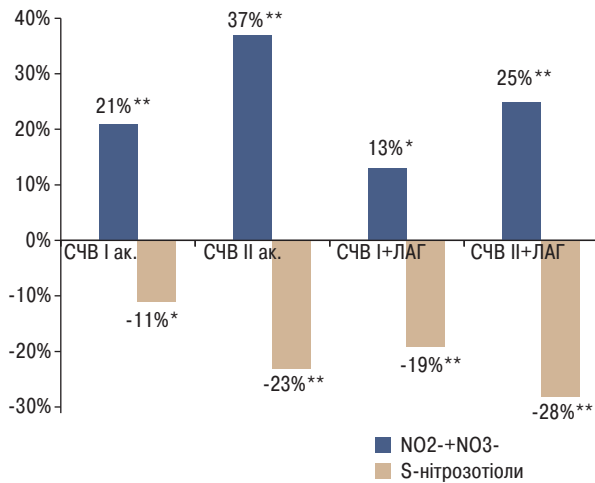


Рис. 2. Динаміка загальних метаболітів NO та SNO при СЧВ залежно від наявності ЛАГ (Δ%). * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$ порівняно з групою контролю

ВИСНОВКИ

Результати дослідження віддзеркалюють порушення метаболізму NO при розвитку ЛАГ у хворих на СЧВ. Підвищення пулу стабільних метаболітів NO на 20% при СЧВ порівняно зі здоровими особами ($p < 0,01$) підтверджує активність індукцибельної NO-синтази, однак не запобігає розвитку ЛАГ, оскільки знижується концентрація у крові активних форм депонованого NO (SNO). Висока активність запального процесу та розвиток ЛАГ поглиблюють дефіцит активних сполук NO. Лікування, спрямоване на відновлення активного пулу NO, може бути ефективним при СЧВ-ЛАГ.

ЛІТЕРАТУРА

- Бувальцев В.И., Машина С.Ю., Покидышев Д.А. и др.** (2002) Роль коррекции метаболитов оксида азота в организме при профилактике гипертонического ремоделирования сердечно-сосудистой системы. Рос. кардиол. журн., 5: 74–81.
- Ванин А.Ф.** (2000) Оксид азота в биомедицинских исследованиях. Вести РАМН, 4: 3–5.
- Каминская Л.Ю., Жлоба А.А., Александрова Л.А.** (2005) Влияние донатора NO нитрозотиола глутатиона на уровень окислов азота и малонового диальдегида у крыс. Артериальная гипертензия, 11(1): 5–9.
- Малая Л.Т., Корж А.Н., Балковская Л.Б.** (2000) Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы. Харьков, 426 с.
- Марков Х.М.** (2000) L-аргинин – оксид азота в терапии болезней сердца и сосудов. Кардиология, 6: 87–93.
- Ремизова М.И.** (2000) Роль оксида азота в норме и при патологии. Вест. службы крови России, 2: 53–57.
- Степанов Ю.М., Кононов И.Н., Журбина А.И. и др.** (2004) Аргинин в медицинской практике (обзор литературы). Журн. АМН України, 10(2): 339–351.
- Dudzinski D.M., Igarashi J., Greif D. et al.** (2006) The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 46: 232–276.
- Fagan K.A., Badesch D.B.** (2002) Pulmonary hypertension associated with connective tissue disease. Prog. Cardiovasc. Dis., 45: 225–234.
- Farber H.W., Loscalzo J.** (2004) Pulmonary arterial hypertension. N. Engl. J. Med., 351: 1655–1665.
- Highland K.B., Gilkeson G.** (2008) Pulmonary arterial hypertension in SLE. Advances in pulmonary hypertension, 7(2): 280–284.
- Honda S., Migita K., Hirai Y. et al.** (2000) Induction of COX-2 expression by nitric oxide in rheumatoid synovial cells. Biochem. Biophys. Res. Commun., 268(3): 928–931.
- Nakamura H., Ueki Y., Sakito S. et al.** (2000) Clinical effects of actarit in rheumatoid arthritis: improvement of early disease activity mediated

by reduction of serum concentration of nitric oxide. Clin. Exp. Rheumatol., 18(4): 445–450.

Pan T.L., Thumboo J., Boye M.L. (2000) Primary and secondary pulmonary hypertension in systemic lupus erythematosus. Lupus, 9: 338–342.

Runo J.R., Loyd J.E. (2003) Primary pulmonary hypertension. Lancet, 361: 1533–1544.

Shen J.Y., Chen S.L., Wu Y.X. et al. (1999) Pulmonary hypertension in systemic lupus erythematosus. Rheumatol. Int., 18: 147–151.

Singel D.J., Stamler J.S. (2005) Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells. Ann. Rev. Physiol., 67: 99–145.

Winslow T.M., Ossipov M.A., Fazio G.P. et al. (1995) Five-year follow-up study of the prevalence and progression of pulmonary hypertension in systemic lupus erythematosus. Am. Heart J., 129: 510–515.

МЕТАБОЛИЗМ НИТРОГЕНА ОКСИДА ПРИ СКВ-АССОЦИИРОВАННОЙ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

О.О. Клекот

Резюме. Работа посвящена изучению особенностей метаболизма азота оксида при легочной артериальной гипертензии у больных с системной красной волчанкой (СКВ). Несмотря на повышенные уровни нитратов и нитритов в крови пациентов с СКВ (на 20% выше по сравнению с контролем), активный пул азота оксида, представленный S-нитрозотиолами, достаточно низкий, по сравнению со здоровыми лицами ($1,7 \pm 0,4$ и $2,08 \pm 0,4$ мкмоль/л соответственно). Дефицит S-нитрозотиолов при СКВ (-24%) достоверно повышается при развитии легочной гипертензии ($p < 0,001$).

Ключевые слова: СКВ-ассоциированная легочная артериальная гипертензия, азот оксид, S-нитрозотиолы.

METABOLISM OF NITROGEN OXIDE IN SLE-ASSOCIATED PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION

O.O. Klekot

Summary. This study describes the features of Nitrogen oxide metabolism in pulmonary arterial hypertension in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). Despite the elevated levels of nitrates and nitrites in the blood of patients with SLE (on 20% higher than in the control group), an active pool of Nitrogen Oxide, S-nitrosothiols presented, is fairly low, compared with healthy people (1.7 ± 0.4 and 2.08 ± 0.4 mc-mol / l, respectively). Deficiency of S-nitrosothiols in SLE (-24%) significantly increased during the development of pulmonary hypertension ($p < 0.001$).

Key words: SLE-associated pulmonary arterial hypertension, Nitrogen oxide, S-nitrosothiols.

Адреса для листування:

Клекот Олександра Олексіївна
21019, Вінниця, вул. Маяковського, 200
Вінницький національний медичний
університет, кафедра клінічної фармації
та клінічної фармакології