

УДК 616.12-008.3

М.Г. МухамедоваРеспубликанский Специализированный
Научно-Практический Медицинский
Центр Терапии и Медицинской
Реабилитации, Ташкент, Узбекистан**ВЛИЯНИЕ ДИУРЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
НА АКТИВНОСТЬ ОКСИДА АЗОТА У
ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ
СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ
ИШЕМИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА****Ключевые слова:** хроническая
сердечная недостаточность,
торасемид, фуросемид, оксид
азота.**Резюме. Цель:** оценить сравнительный эффект действия торасемида и фуросемида на степень активности eNOS, содержания NO₂/NO₃ у больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН) ФК II-III по NYHA. **Материал и методы:** 106 больных с ХСН были разделены на две группы. На фоне базисной терапии ХСН в первой группе назначался торасемид в дозе 5-10 мг/сут, во второй группе – фуросемид в дозе 20-40 мг/сут. В динамике на 1-й, 10-й день и на 3-й месяц определяли уровень активности eNOS, содержания NO₂/NO₃. **Результаты:** включение в терапию петлевых диуретиков способствует достоверному увеличению активности eNOS, более выраженное у больных со сниженной ФВ ЛЖ, при этом концентрация NO₂/NO₃ у них достоверно снижалась, а у больных с сохраненной систолической функцией – увеличивалась.**Введение**

В последнее время отмечается возрастающий интерес к изучению роли нарушений функции эндотелия артерий в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний [1,2]. Эндотелий артерий, представляющий собой полупроницаемую мембрану, выстилающую внутреннюю поверхность кровеносных сосудов, является не просто барьером между потоком крови и гладкой мускулатурой сосудов, но и субстратом для образования целого ряда соединений, которые определяют тонус и состояние стенок артерий, регуляцию свертывания крови, функции тромбоцитов, окисление липидов. Уровень сосудистого тонуса в норме и при патологии в значительной степени определяется балансом в крови соединений, обладающих способностью расслаблять и сокращать гладкие мышцы сосудистой стенки [3].

Основными стимулирующими факторами, которые вызывают реакцию эндотелия артерий, являются: 1) изменение скорости кровотока по отношению к эндотелиальным клеткам (увеличение напряжения сдвига); 2) тромбоцитарные медиаторы — эндогенные вещества, которые образуются при агрегации тромбоцитов в непосредственной близости от эндотелиальной клетки (тромбин, серотонин); 3) циркулирующие и/или «внутристеночные» нейрогормоны (катехолами-

ны, вазопрессин, брадикинин, ацетилхолин, ангиотензин II и др.).

В норме клетки эндотелия артерий реагируют на эти стимулы усилением синтеза веществ, вызывающих расслабление гладкомышечных клеток сосудистой стенки. Снижение синтеза и выделения эндотелием «расслабляющих» и/или повышение синтеза «сокращающих» веществ приводит к спазму сосудов [4,5]. Наиболее широко известным из продуцируемых эндотелием веществ является оксид азота (NO), который играет ведущую роль в реализации функции эндотелия. Образование NO в организме человека и животных осуществляется в результате окисления атома азота, входящего в состав аминокислоты L-аргинина под действием трех изоферментов — NO-синтаз (NOS). NOS экспрессируются либо генетически, конституитивно (nNOS — нейрональная и eNOS — эндотелиальная), либо после стимуляции цитокинами (iNOS — индуцибельная). nNOS и eNOS, регулируемые ионами Ca²⁺, вовлечены в физиологический контроль нейрональной и сосудистой функции соответственно. eNOS является Ca²⁺-зависимой и синтезирует NO в небольших количествах в течение нескольких секунд после поступления любого стимула, вызывающего повышение концентрации внутриклеточного Ca²⁺[6]. iNOS является Ca²⁺-незави-

симым изоферментом и индуцируется провоспалительными цитокинами. В норме iNOS не экспрессируется [7]. Однако под действием провоспалительных цитокинов, среди которых наиболее изучены фактор некроза опухоли-альфа, интерлейкин-6 и интерлейкин-1 β , запускается генная транскрипция iNOS и начинается синтез NO. Активность iNOS сохраняется на протяжении длительного периода и количество NO, синтезированного таким образом, значительно превышает количество NO, выработанного с участием конституитивного изофермента eNOS [8,9]. Избыток NO подавляет активность eNOS, повреждает эндотелиальные клетки и нарушает нормальную функцию эндотелия артерий.

При хронической сердечной недостаточности (ХСН), ишемической болезни сердца (ИБС) структурная целостность эндотелиального слоя нарушается и поэтому часть молекул NO попадает в поток крови, где инактивируется в результате реакций свободно-радикального окисления [10]. Нарушение метаболизма NO играет главную роль в дисфункции эндотелия, являющейся неотъемлемой составляющей патогенетического механизма ИБС, ХСН.

Проблемы диагностики, лечения и прогнозирования исходов ХСН ишемической этиологии, несмотря на расширение представлений о роли нейрогормональных факторов, по-прежнему являются одними из наиболее сложных и практически важных. В последние годы стойко прослеживается тенденция ежегодного повышения смертности среди пациентов с ХСН ишемической этиологии [11,12]. Однако клинические и патогенетические особенности при этом заболевании уточнены недостаточно. С одной стороны, это связано с мозаичностью патогенеза и клинических проявлений ХСН ишемической этиологии, а с другой — с недооценкой значимости и роли основных механизмов регуляции ХСН, прежде всего — нейрогормональных факторов, через которые реализуются основные механизмы сердечно-сосудистого ремоделирования, а также роли метаболизма NO [13,14].

Прежде всего, речь идет об эндотелиальной дисфункции и ее значении в популяции больных ХСН ишемической этиологии. Именно эндотелий сосудов обес-печивает динамическое равновесие между вазодилатирующими и вазоконстрикторными факторами [16]. Нарушение метаболизма NO играет ведущую роль в эндотелиальной дисфункции артерий. По данным ряда исследований по изучению метаболизма NO при ХСН, отмечается, что высокие уровни нитритов-нитратов при тяжелой ХСН определялись одновремен-

но с дефицитом eNOS. Вероятным объяснением повышенного уровня нитритов-нитратов при ХСН может быть усиленная экспрессия iNOS, поскольку при ХСН доказана цитокин-индуцированная продукция iNOS [17]. Избыточное образование NO при ХСН вначале имеет компенсаторное значение, направленное на поддержание тканевой перфузии, затем избыток NO при ХСН способствует усилению дисфункции эндотелия путем активации апоптоза, подавления eNOS и угнетения сократительной функции миокарда [18].

Пока не найдены ответы на вопросы, связанные с изучением механизмов нарушений метаболизма NO и возможных способов его фармакологической коррекции у больных ХСН ишемической этиологии. Именно поиск новых способов медикаментозных вмешательств, которые бы позволяли достичь длительных многоцелевых эффектов в лечении ХСН, является одной из актуальных и нерешенных проблем современной кардиологии. Все вышеизложенное стало основанием к проведению настоящего исследования.

Цель исследования

Оценить сравнительный эффект действия торасемида и фуросемида на степень активности eNOS, содержания NO₂/NO₃ у больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН) ФК II-III по NYHA.

Материал и методы

В настоящее исследование были включены 303 больных (204 мужчин и 99 женщин), наблюдаемых по поводу ХСН ишемического генеза. Средний возраст больных составил 62,22 \pm 0,87г. Условием включения в исследование была непрерывная базисная терапия ХСН (бета-адреноблокатор, иАПФ/блокатор рецепторов ангиотензина II 1-го типа, аспирин, статины) в течение не менее трех месяцев к моменту включения в исследование. На фоне базисной терапии ХСН в первой группе (n=56) назначался торасемид в дозе 5-10 мг/сут, во второй группе – фуросемид (n=50) в дозе 20-40 мг/сут. В процессе обследования у 78 больных (26%) был диагностирован III, а у остальных 225 больных (74%) - II функциональный класс ХСН по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA). Учитывая сократительную способность (ФВ), пациенты каждой из групп были рандомизированы на 2 подгруппы: с сохраненной и со сниженной ФВ. В динамике на 1-й, 10-й день и на 3-й месяц определяли уровень активности eNOS, содержания NO₂/NO₃.

Критериями включения больных в исследование служили: характерная клиническая картина

ХСН, а также анамнестические и клинические признаки ишемической природы заболевания. В исследование не включались больные с острыми воспалительными процессами, в течение первых двух месяцев после обострения ИБС (ОИМ, нестабильная стенокардия), хирургических вмешательств и острых нарушений мозгового кровообращения, с терминальной стадией органной недостаточности. Также не включались больные, у которых ХСН носила неишемический характер.

Активность эндотелиальной NOS определялась по увеличению продукции NO из L-аргинина в присутствии НАДФН и выражалось в мкмоль/л. Определение концентрации метаболитов оксида азота (нитратов и нитритов) в сыворотке крови проводили с использованием реактива Грисса (равная смесь сульфаниловой кислоты и б-нафтиламина в 12% уксусной кислоте).

О состоянии эндотелиальной функции сосудов судили по данным доплерографии плечевой артерии по методике Solomon и соавт. Доплеровское исследование кровотока на плечевой артерии производили в постоянно-волновом режиме электронным линейным датчиком 7.5МГц на аппарате Siemens Sonoline Omnia (Германия). Больной находился в горизонтальном положении, датчик устанавливался на правую плечевую артерию по медиальной поверхности на расстоянии 4-5см над локтевой ямкой. Компрессионную пробу де-

ляли по методике S. Laurent и соавт. На правое предплечье накладывали манжету сфигмоманометра, создавали давление 300мм.рт.ст. и удерживали в течение 3 минут. Регистрировали диаметр плечевой артерии до и в конце 1-й минуты после декомпрессии и оценивали относительный прирост диаметра в % от исходного.

Обсуждение результатов исследования

Активность eNOS у больных ХСН ишемического генеза была более выражена на фоне сниженной ФВ ЛЖ ($7,59 \pm 0,03$ против $9,50 \pm 0,02$ у больных с сохранной ФВ ЛЖ, $p < 0,001$ достоверность межгрупповых различий). К исходу 3-го месяца наблюдения на фоне дополнительного применения диуретиков активность eNOS достоверно увеличилась (на $7,01\%$ в целом по группе). При этом, хотя относительная динамика у больных с низкой ФВ ЛЖ составила $14,58\%$ против $2,82\%$ у больных с сохранной ФВ ЛЖ ($p < 0,001$), в результате к концу 3-го месяца терапии абсолютные значения активности фермента у больных с сохранной ФВ ЛЖ оставались достоверно выше, чем у больных со сниженной ФВ ($9,76 \pm 0,05$ против $8,70 \pm 0,06$, $p < 0,001$). Распределение больных в зависимости от применяемого петлевого диуретика обнаружило достоверно больший эффект торасемида на активность eNOS по сравнению с фуросемидом ($12,09\%$ против $2,04\%$, $p < 0,001$).

Таблица

Параметры метаболизма оксида азота у больных ХСН ишемического генеза в зависимости от применяемого диуретика

	Торасемид		Фуросемид	
	исходно			
NO2/NO3	10,00±0,36		9,47±0,35	
NOS	8,81±0,08		8,84±0,08	
	Через 10 дней			
NO2/NO3	8,86±0,07		8,35±0,09	
NOS	9,30±0,05		8,44±0,06	
	Через 3 мес			
NO2/NO3	10,99±0,06		10,03±0,06	
NOS	9,81±0,06		8,96±0,05	
	Со сниж ФВ	С норм ФВ	Со сниж ФВ	С норм ФВ
	исходно			
NO2/NO3	15,64±0,03	6,54±0,3	15,39±0,30	6,51±0,03
NOS	7,62±0,04	9,54±0,03	7,56±0,04	9,47±0,03
	Через 10 дней			
NO2/NO3	9,78±0,06	8,29±0,06	9,82±0,06	7,61±0,04
NOS	8,64±0,06	9,70±0,04	7,69±0,06	8,81±0,04
	Через 3 мес			
NO2/NO3	10,33±0,08	14,40±0,06	9,39±0,08	10,34±0,05
NOS	9,12±0,06	10,24±0,05	8,22±0,06	9,32±0,04

Примечание. * - достоверность статистических различий между соответствующими показателями в группах I и II ($p < 0,05$). * - достоверность статистических различий между подгруппами каждой группы ($p < 0,001$)

Эта закономерность сохранялась у больных как с низкой ФВ ЛЖ (19,78% против 8,77%, $p < 0,001$), так и с сохранной систолической функцией (7,38% против 1,33%, $p < 0,001$). Концентрация стабильных метаболитов оксида азота у больных ХСН со сниженной ФВ ЛЖ была достоверно увеличена, что связано с активацией макрофагальной NOS. Отражением этого процесса является феномен периферической вазодилатации, наблюдаемый у больных с ХСН. В группе больных с сохранной систолической функцией концентрация NO₂/NO₃ в периферической крови была снижена ($6,52 \pm 0,02$, $p < 0,001$ достоверность различия с больными ХСН со сниженной ФВ ЛЖ). К концу 3-го месяца терапии у больных с сохранной ФВ ЛЖ отмечалось достоверное увеличение концентрации стабильных метаболитов оксида азота, более выраженное в группах больных, принимавших торасемид, по сравнению с группой фуросемида (на 74,59% против 59,13%, $p < 0,001$) и в группе больных, принимавших аргинин (на 75,40% против 62,05% у больных, не принимавших аргинин, $p < 0,001$) (табл.). В группе больных со сниженной ФВ ЛЖ отмечалось достоверное снижение концентрации стабильных метаболитов NO, сопоставимо во всех терапевтических группах (в группе Т – на 33,93% против 7,11% в группе Ф, $p > 0,05$). Однако абсолютные значения, достигнутые к концу периода наблюдения, в группе Т достоверно превышали, значения, достигнутые в группе Ф ($p < 0,001$) как для больных с низкой, так и нормальной ФВ ЛЖ.

Таким образом, результаты, полученные в настоящем исследовании, позволили выявить нарушения, происходящие в системе синтеза оксида азота. На фоне терапии с включением диуретиков увеличивается активность eNOS и концентрация NO₂/NO₃.

У больных со сниженной ФВ ЛЖ эффекты торасемида и фуросемида на концентрацию NO₂/NO₃ были сопоставимы, в то время, как у больных с сохранной систолической функцией было выявлено явное преимущество торасемида.

Выводы

1. У больных ХСН ишемического генеза, в большей степени при снижении систолической функции ЛЖ, отмечается нарушение метаболизма NO, проявляющееся в снижении активности конституциональной эндотелиальной NO-синтазы и увеличении активности индуцибельной макрофагальной NO-синтазы, что приводит к увеличению концентрации NO и его стабильных метаболитов в периферической крови.

2. Включение в терапию петлевых диуретиков способствует достоверному увеличению активности eNOS, более выраженное у больных со сниженной ФВ ЛЖ, при этом концентрация NO₂/NO₃ у них достоверно снижается, а у больных с сохранной систолической функцией – увеличивалась.

Перспективы дальнейших исследований

В дальнейшем планируется изучить фармакогенетику метаболитов оксида азота, полиморфных маркеров генов эндотелиальной синтазы оксида азота и исследовать пути метаболической коррекции эндотелиальной дисфункции в лечении сердечно-сосудистой патологии.

Литература. 1. Белоусов Ю.Б., Намсараев Ж.Н. (2004) Эндотелиальная дисфункция как причина атеросклеротического поражения артерий при артериальной гипертензии: методы коррекции. Фарматека, 6(84): 62–72. 2. Визир В.А., Березин А.Е. (2000) Роль эндотелиальной дисфункции в формировании и прогрессировании артериальной гипертензии. Прогностическое значение и перспективы лечения. Укр. мед. часопис, 4(18): 23–33 (<http://www.umj.com.ua/rus/article/2097>; http://www.umj.com.ua/archive/18/pdf/1056_rus.pdf). 3. Головченко Ю.И., Трещинская М.А. (2008) Обзор современных представлений об эндотелиальной дисфункции. Consilium medicum Ukraina, 11: 38–40. 4. Гуревич М.А., Стуров Н.В. (2006) Дефицит оксида азота и поддержание сосудистого гомеостаза: роль мониторингов и проблемы цитопротекции. Трудный пациент, 3: 23–29. 5. Ельский В.Н., Вагутин Н.Т., Калинкина Н.В., Салахова А.М. (2008) Роль дисфункции эндотелия в генезе сердечно-сосудистых заболеваний. Журн. АМН України, 14(1): 51–62. 6. Малахов В.А., Завгородняя А.Н. (2007) Система оксида азота при церебральном ишемическом инсульте: некоторые патогенетические аспекты. Укр. мед. часопис, 2(58): 97–100 (<http://www.umj.com.ua/article/290>; http://www.umj.com.ua/archive/58/pdf/149_rus.pdf). 7. Марков Х.М. (2000) Роль оксида азота в патогенезе болезней детского возраста. Рос. вестн. перинатол. и педиатр., 4: 43–47. 8. Мовчан Е.А. (2008) Дисфункция эндотелия и тромбоцитов при хронической болезни почек: новый взгляд на старую проблему нарушений в системе гемостаза у больных гломерулонефритом. Бюллетень сибирской медицины, Приложение 2: 88–96. 9. Слободський В.А. (2009) Досвід застосування препарату Тівортін® аспартат при лікуванні пацієнтів зі стабільною стенокардією напруження. Укр. мед. часопис, 5(73): 40–43 (<http://www.umj.com.ua/article/2865>; http://www.umj.com.ua/archive/73/pdf/1511_ukr.pdf). 10. Созыкин А.В., Ноева Е.А., Балахонова Т.В. и др. (2000) Влияние L-аргинина на агрегацию тромбоцитов, функцию эндотелия и толерантность к физической нагрузке у пациентов со стабильной стенокардией напряжения. Тер. архив, 72(8): 24–27. 11. Степанов Ю.М., Кононов И.Н., Журбина А.И., Филиппова А.Ю. (2004) Аргинин в медицинской практике. Журн. АМН України, 10(1): 340–352. 12. Baylis C. (2008) Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease. Am. J. Physiol. Renal Physiol., 294: 1–9. 13. Bednarsz B., Jaxa-Chamiec T., Gebalska J. et al. (2004) L-arginine supplementation prolongs exercise capacity in congestive heart failure. Kardiol. Pol., 60(4): 348–353. 14. Bednarsz B., Jaxa-Chamiec T., Maciejewski P. et al. (2005) Efficacy and safety of oral L-arginine in acute myocardial infarction. Results of the multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled ARAMI pilot trial. Kardiol. Pol., 62(5): 421–427. 15. Bocchi E.A., Vilella de Moraes A.V., Esteves-Filho A. et al. (2000) L-arginine reduces heart rate and improves hemodynamics in severe congestive heart failure. Clin. Cardiol., 23(3): 205–210. 16. Bode-Büger S.M., Muke J., Surdacki A. et al. (2003) Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years. Vasc. Med., 8(2): 77–81. 17. Büger R.H. (2007) The pharmacodynamics of L-arginine. J. Nutr., 137:

1650S–1655S. 18. Bryan N.S., Bian K., Murad F. (2009) Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. *Frontiers in Bioscience*, 14: 1–18.

**ВПЛИВ ДІУРЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ НА АКТИВНІСТЬ
ОКСИДУ АЗОТА В ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ
СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ ШЕМІЧНОГО
ГЕНЕЗУ**

М.Г. Мухамедова

Резюме. Мета. Оцінити порівняльний ефект дії торасемиду і фуросемиду на ступінь активності eNOS, вмісту NO₂/NO₃ у хворих хронічною серцевою недостатністю (ХСН) ФК II-III по NYHA. **Матеріал і методи.** 106 хворих з ХСН були розділені на дві групи. На тлі базисної терапії ХСН в першій групі назначали торасемід в дозі 5-10 мг/добу, в другій групі - фуросемід в дозі 20-40 мг/добу. В динаміці на 1-й, 10-й день і на 3-й місяць визначали рівень активності eNOS, вмісту NO₂/NO₃. **Результати:** Включення в терапію петльових діуретиків сприяє достовірному збільшенню активності eNOS, більш виражене у хворих з пониженою ФВ ЛЖ, при цьому концентрація NO₂/NO₃ у них достовірно знижувалась, а у хворих зі збереженою систолічною функцією - збільшувалась.

Ключові слова: хронічна серцева недостатність, торасемід, фуросемід, оксид азоту.

**INFLUENCE OF DIURETIC THERAPY UPON NITRIC
OXIDE ACTIVITY IN PATIENTS WITH CHRONIC
HEART FAILURE OF ISCHEMIC ORIGIN**

M.G. Muhamedova

Abstract. To evaluate the comparative effect of torasemide and furosemide on activity level of eNOS, NO₂/NO₃ content in patients with chronic heart failure (CHF) FC II-III by NYHA. 106 patients with heart failure were divided into two groups. Against a background of basic therapy of CHF in the first group received torasemide in the dose of 5-10 mg / day, the second group received furosemide in the dose of 20-40 mg / day. The level of eNOS activity, NO₂/NO₃ content was determined in the dynamics on the 1st, 10th day and the third month. The inclusion of a loop diuretic therapy promotes the significant increase in eNOS activity, more pronounced in patients with reduced LVEF, at the same time concentration of NO₂/NO₃ significantly reduced in them, and increased in patients with preserved systolic function.

Keywords: chronic heart failure, torasemide, furosemide, nitric oxide.

**Republican Specialized Scientific Practical Medical Centre
of Therapy and Medical Rehabilitation, Tashkent,
Uzbekistan**

Clin. and experim. pathol.- 2013.- Vol.12, №4 (46).-P.87-91.

Надійшла до редакції 01.12.2013

Рецензент – проф. О. С. Полянська

© М.Г. Мухамедова, 2013