

КОНКУРС МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЯ», XIV РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС «ЧЕЛОВЕК И ЛЕКАРСТВО» (ТРЕТЬЯ ПРЕМИЯ)

ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ ВЫРАЖЕННЫМ ОБЕЗВОЖИВАНИЕМ

Пискун В. Д.

Витебский государственный медицинский университет

РЕЗЮМЕ

Бактериальные кишечные инфекции — одна из актуальнейших проблем здравоохранения во многих странах, а их клинический и социально-экономический аспекты трудно переоценить. Данная группа инфекционных заболеваний наиболее часто сопровождается обезвоживанием, при этом имеет место развитие нитрозилирующего и оксидативного стресса. Полученные данные свидетельствуют об ингибирующем влиянии пентоксифиллина на iNOS при дегидратации, что проявляется снижением выраженности нитрозилирующего и оксидативного стресса.

Ключевые слова: бактериальные кишечные инфекции, оксид азота, пентоксифиллин.

SUMMARY

Bacterial intestinal infections is one of the most outstanding problems of international health service, preserving its significant clinical and social-economic importance. This group of infectious diseases is most frequently accompanied by the development of dehydration, thus leading to the development of nitrozative and oxidative stress. The presented data evidence the inhibiting action of pentoxifyllin for iNOS on dehydration, what may be manifested by decrease of severity of nitrozative and oxidative stress.

Key words: bacterial intestinal infections, nitric oxide, pentoxifyllin.

Актуальность. Бактериальные кишечные инфекции (БКИ) продолжают оставаться одной из актуальнейших проблем здравоохранения во многих странах, клинический и социально-экономический аспекты которых трудно переоценить. БКИ — одна из наиболее частых причин госпитализации в инфекционный стационар, их удельный вес колеблется от 20 до 30% [1–3]. Антибактериальная терапия не является основным методом лечения данной группы заболеваний и важна лишь при инвазивных формах у пациентов с риском возникновения экстраинтестинальных осложнений. В большинстве случаев основой лечения пациентов с инфекционными диареями является патогенетическая терапия, направленная на борьбу с дегидратацией. Следует отметить, что патогенетическая терапия выраженного обезвоживания (синонимы: инфекци-

онно-токсический или септический шок, гиповолемия, сосудистая недостаточность) является одним из самых сложных разделов современной медицины. В большинстве случаев для лечения пациентов с острыми диареями используется патогенетическая терапия, направленная на борьбу с гиповолемией. Однако при лечении не учитывается, что развитие обезвоживания способствует не только потере жидкости со стулом, рвотой, но и активация синтеза ряда цитокинов, таких как интерлейкины -1, -2, -6, -8, -12, интерферон-гамма, фактор некроза опухоли- α (TNF- α), фактор активации тромбоцитов, эндорфины, различные эйкозаноиды, фактор ингибирования миграции макрофагов, high mobility group 1 (HMG-1), которые вырабатываются в ответ на действие компонентов клеточной стенки бактерий, экзотоксинов [4, 5]. В свою очередь



ряд цитокинов способен активировать фермент из группы уникальных цитохром-Р-450-подобных гемопротеинов — NO-синтазу II (iNOS, тип II), синтезирующую молекулы оксида азота (NO) [6]. Оксид азота благодаря хорошей растворимости в воде путем диффузии достигает цитозольной гуанилатциклазы гладкомышечных клеток сосудов, активирует ее и таким образом способствует увеличению продукции циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), который в свою очередь обеспечивает гипотензивный эффект, а следовательно, и явление сосудистой недостаточности [7]. При взаимодействии NO с молекулярным кислородом образуется двуокись азота, которая в водных растворах разлагается на нитрит (NO_2^-) и нитрат (NO_3^-), являющиеся показателями, отражающими нитрозилирующий (нитрозативный) стресс. Негативное влияние на организм оксида азота реализуется как через сопряженную реакцию супероксидного анион-радикала (O_2^-) с NO, так и через непосредственное активирующее действие супероксидного анион-радикала на перекисное окисление липидов (ПОЛ), которое осуществляется неферментативным путем. Несмотря на хорошее теоретическое обоснование, свидетельствующее о развитии нитрозилирующего стресса и активации перекисного окисления липидов (оксидативного или окислительного стресса), при ряде патологических процессов клинические рекомендации по коррекции данных процессов практически отсутствуют.

Задачей работы явилось изучение влияния пентоксифиллина на выраженность нитрозилирующего и окислительного стресса в организме пациентов с тяжелыми формами бактериальных кишечных инфекций, сопровождающихся выраженным обезвоживанием, так как данные виды стресса наряду с выраженностью дегидратации определяют тяжесть и исход заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

О показателе нитрозилирующего стресса судили по уровню нитритов/нитратов в плазме крови пациентов с бактериальными кишечными инфекциями, сопровождающимися выраженным обезвоживанием, на 1, 3 и 5–7-е сутки от момента возникновения дегидратации.

Уровень *нитритов/нитратов* определялся по методике, основанной на восстановлении нитратов до нитритов цинковой пылью в щелочной среде в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди с последующей фотометрией.

Измерение *диеновых конъюгатов* в плазме тех же больных оценивали по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изоропильных экстрактов.

В группу пациентов с БКИ, сопровождающимся выраженным обезвоживанием (сосудистой недо-

статочностью), вошли лица, у которых шоковый индекс Альдгвера был выше 0,7.

Дополнительными критериями для отбора в опытную группу явилось наличие двух (и более) из нижеперечисленных критериев синдрома системного воспалительного ответа:

1. температура тела выше 38 или ниже 36°С;
2. тахикардия более 90 уд/мин;
3. тахипноэ более 20' в минуту;
4. число лейкоцитов в периферической крови более 12×10^9 или менее $4 \times 10^9/\text{л}$, либо число незрелых форм более 10%.

Пациенты были условно разделены на две группы. В первую вошли больные, которым проводилось стандартное комплексное лечение тяжелой формы бактериальной кишечной инфекции по общепринятой схеме, включающей диету- и этиотропную терапию (ципрофлоксацин), регидратационную терапию, симптоматические средства (вяжущие и ферментные препараты, эубиотики и прочие препараты). Вторую группу составили пациенты с тяжелым течением бактериальной кишечной инфекции, которые кроме стандартной комплексной терапии получали пентоксифиллин.

Дополнительно был оценен уровень диеновых конъюгатов в сыворотке практически здоровых доноров ($n = 35$).

Пентоксифиллин применяли после возмещения жидкости, потерянной при обезвоживании (до 6 ч). Взрослым и детям старше 1 года регидратация проводилась из расчета 30 мл/кг в течение 30 мин под строгим контролем гемодинамики. В случае гипертонической (вододефицитной) дегидратации возмещение жидкости необходимо проводить медленно (в среднем около 24 ч), так как при быстром введении жидкости возможно развитие внутриклеточного отека, проявляющегося клинически симптомами отека головного мозга.

Использовали 2%-ный раствор пентоксифиллина в объеме по 5 мл одно- или двукратно внутривенно капельно (по меньшей мере в течение 60 мин) на кристаллоидном растворе объемом не менее 250 мл.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы *Statistica 6.0*. Рассчитывали среднюю арифметическую (M), стандартную ошибку средней арифметической ($\pm m$). Соответствие всех анализируемых переменных нормальному распределению было проверено с использованием метода Колмогорова — Смирнова. Распределение вариант не соответствует нормальному ни в одной выборке, как и в большинстве медицинских исследований. Соответственно для проверки достоверности различий (p) был использован непараметрический анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При оценке уровня нитритов/нитратов в организме пациентов с тяжелыми формами бактериальных кишечных инфекций, сопровождающихся выраженным обезвоживанием, которые не получали пентоксифиллин ($n = 29$), оказалось, что в первые сутки их концентрация в сыворотке составила $45,39 \pm 2,67$ мкмоль/л, на третьи ($n = 28$) — $40,16 \pm 2,63$ мкмоль/л, а к 5–7-м суткам ($n = 25$) концентрация продуктов деградации молекул оксида азота возросла до $49,99 \pm 12,01$ мкмоль/л, что оказалось достоверно выше, чем у здоровых людей ($21,7$ мкмоль/л). У пациентов с тяжелыми формами бактериальных кишечных инфекций, сопровождающихся выраженным обезвоживанием, которые получали пентоксифиллин, уровень нитрооксидемии был достоверно ниже, чем у пациентов, не получавших данный препарат, и составил в первые сутки наблюдения ($n = 12$) $34,02 \pm 4,03$ мкмоль/л ($p = 0,01$ в сравнении с аналогичной группой, не получавшей пентоксифиллин), к третьим суткам — $30,11 \pm 3,15$ мкмоль/л ($p = 0,01$ в сравнении с аналогичной группой, не получавшей пентоксифиллин), а к 5–7-м суткам ($n = 11$) составил $30,75 \pm 3,2$ мкмоль/л ($p = 0,13$ в сравнении с аналогичной группой, не получавшей пентоксифиллин) (рис. 1).

В связи с тем, что оксид азота через ряд промежуточных субстратов активирует окисление преимущественно полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и их остатков в составе сложных липидов, обнаружение диеновой конъюгации является чувствительным тестом на выявление свободных радикалов либо ацилгидроперекисей (первичных

продуктов ПОЛ, отражающих окислительный стресс).

При оценке уровня диеновых конъюгатов в первые сутки ($n = 32$) от момента возникновения выраженного обезвоживания у пациентов с бактериальными кишечными инфекциями, не получавших пентоксифиллин, их концентрация составила $173,06 \pm 23,72$ нМ/г липида, а к третьим суткам ($n = 31$) снизилась до $115,88 \pm 19,42$ нМ/г липида, что, вероятно, связано с активацией ряда антиоксидантных ферментов, однако к 5–7-м суткам концентрация диеновых конъюгатов вновь повысилась до $176,31 \pm 38,36$ нМ/г липида. В контрольной группе доноров содержание диеновых конъюгатов в сыворотке составило $70,1 \pm 8,8$ нМ/г липида. Эти данные свидетельствуют о развитии окислительного стресса у пациентов с тяжелыми формами бактериальных кишечных инфекций, сопровождающихся выраженным обезвоживанием.

В то же время у пациентов, получавших пентоксифиллин, уровень диеновых конъюгатов в первые сутки наблюдения ($n = 13$) был значительно ниже, чем у пациентов, не получавших данный препарат, и составил $150,36 \pm 36,64$ нМ/г липида ($p = 0,29$ в сравнении с аналогичной группой, не получавшей пентоксифиллин). К третьим суткам ($n = 13$) концентрация изучаемого показателя повысилась до $179,64 \pm 36,61$ нМ/г липида, что выше, чем в группе пациентов, не получавших пентоксифиллин ($p = 0,07$ в сравнении с аналогичной группой,

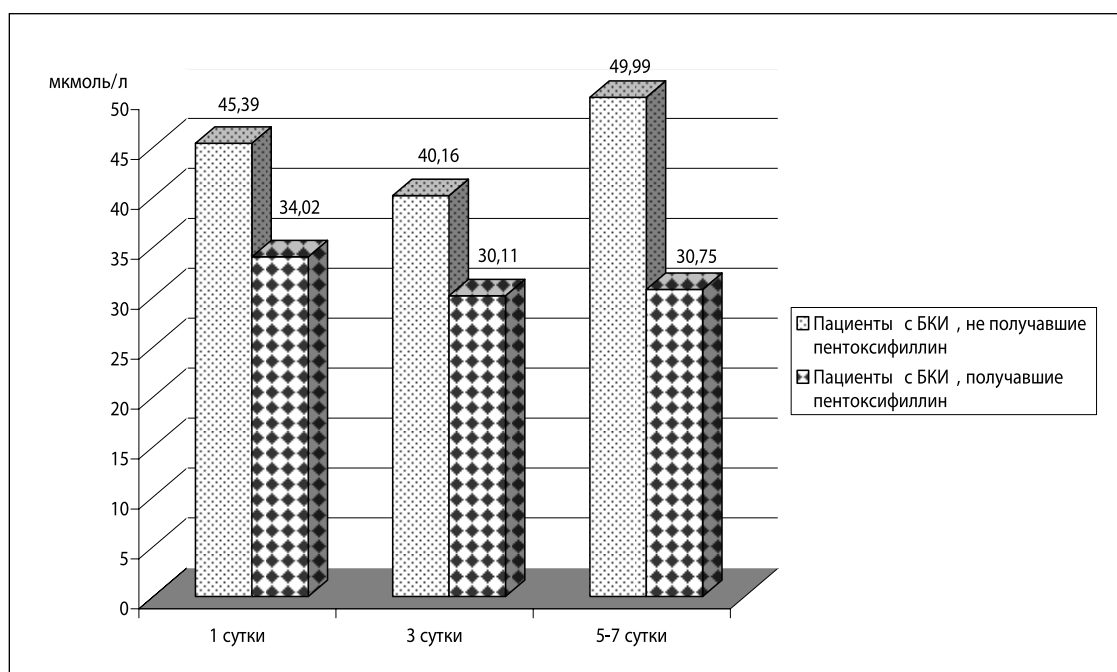


Рис. 1. Показатель нитритов/нитратов в плазме крови у пациентов с БКИ, сопровождающимися выраженным обезвоживанием.



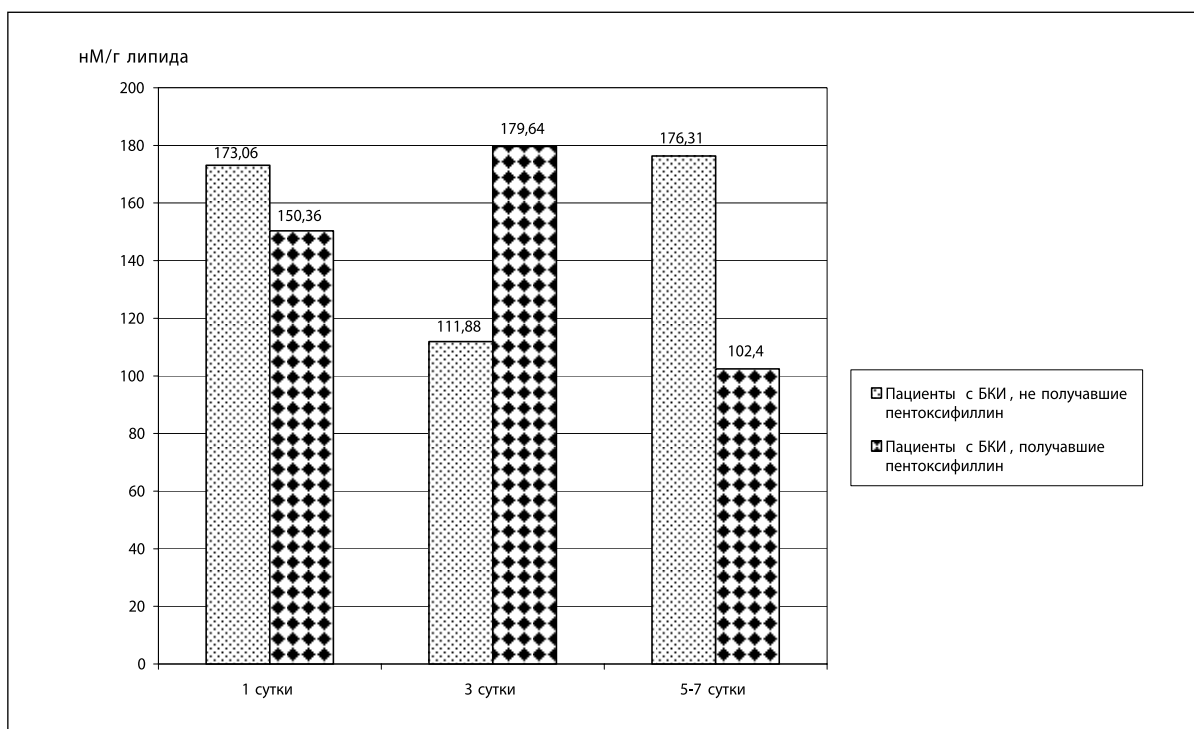


Рис. 2. Уровень диеновых конъюгатов в плазме крови у пациентов с БКИ, сопровождающимся выраженным обезвоживанием.

не получавшей пентоксифиллин). Этот феномен, вероятно, связан со значительным улучшением микроциркуляции и явлением реперфузии. При этом происходит приток молекулярного кислорода и кальция, что ускоряет взрыв кислородпроизводных свободных радикалов, возникающих в результате действия ксантиноксидазы и других оксидантных ферментов. Оксидантная среда генерирует перекиси липидов, которые увеличивают проницаемость для кальция и активируют фосфолипазу A_2 [8, 9]. В свою очередь, эти события запускают дальнейшую экспрессию индуцибельной NOS-II, адгезивных молекул и выделение фактора, активирующего тромбоциты, лейкотриены, тромбоксан A_2 и другие индукторы воспаления. Нейтрофилы, курсирующие в этой неблагоприятной среде, также активируются, прилипают к реперфузированной ткани, генерируют супероксидные анион-радикалы и NO, образуют пероксинитрит, сопряженно индуцируя некроз тканей и усиливая тканевую гипоксию [10]. Однако при использовании ингибиторов гиперпродукции оксида азота в последующие дни приведенный каскад реакций ингибируется и наблюдается снижение выраженности как нитрозирующего, так и окислительного стресса. Наши данные свидетельствуют об уменьшении уровня диеновых конъюгатов к 5–7-м суткам ($n = 12$; $102,4 \pm 23,36$ нМ/г липида; $p = 0,26$ в сравнении с аналогичной группой) у пациентов с выраженным обезвоживанием, получавших пентоксифиллин. Следовательно, пентоксифиллин способен снижать и выраженность окислительного стресса (рис. 2).

Средняя длительность нахождения в стационаре получавших пентоксифиллин больных тяжело-

ми формами бактериальных кишечных инфекций (шоковый индекс более 0,8), сопровождающимся выраженным обезвоживанием, составила 7 койко-дней, что оказалось достоверно меньше ($p = 0,005$), чем в аналогичной группе пациентов, не получавших пентоксифиллин (8 койко-дней). Данный факт позволит уменьшить срок пребывания пациентов в стационаре.

Средняя стоимость лечения в стационаре 1 пациента с бактериальной кишечной инфекцией, не получавшего в составе комплексной терапии пентоксифиллин, составила 226,5 доллара США. А средняя стоимость лечения в стационаре 1 пациента с бактериальной кишечной инфекцией, получавшего в составе комплексной терапии пентоксифиллин, была значительно ниже и составила 198,2 доллара США.

Долю экономии от сокращения периода пребывания больного в инфекционном стационаре (Эх) определяли по формуле [11]:

$$Эх = K \times (Xx - Xy),$$

где K — средняя стоимость одного койко-дня пребывания больного в соответствующем стационаре;

Xx и Xy — среднее количество койко-дней пребывания в стационаре в расчете на лечение одного случая заболевания в базовом и предлагаемом вариантах.

Доля экономии от сокращения периода пребывания больного в инфекционном стационаре (Эх) составила $28,3 \times (8 - 7) = 28,3$ доллара США. Данный факт указывает на экономическую целесообразность использования пентоксифиллина в составе комп-

лексной терапии пациентов с тяжелыми формами бактериальных кишечных инфекций, сопровождающихся выраженным обезвоживанием.

В изучаемых группах выживаемость пациентов составила 100%.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Долгое время основным механизмом действия пентоксифиллина считали ингибирование фосфодиэстеразы и накопление циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в ряде клеток, подавление входа ионов кальция в клетки, увеличение синтеза и высвобождение эндогенных катехоламинов в коре надпочечников [12]. Все эти механизмы приводят к накоплению цАМФ в гладких миоцитах сосудов, форменных элементах крови, других тканях и органах, что способствует вазодилатации, торможению агрегации тромбоцитов и эритроцитов, увеличению их гибкости, снижению повышенной концентрации фибриногена в плазме и усилению фибринолиза. Эти феномены вызывают снижение вязкости крови и улучшают ее реологические свойства. Кроме того, действие производных ксантинов на фосфодиэстеразу нейтрофилов, эозинофилов, альвеолярных макрофагов, Т-лимфоцитов тормозит высвобождение медиаторов, цитокинов и свободных радикалов [13]. Приведенные механизмы действия оказывают благоприятное воздействие на микроциркуляторное русло при тяжелом течении бактериальных кишечных

инфекций. С другой стороны, полученные данные косвенно свидетельствуют об ингибирующем влиянии пентоксифиллина на каскад реакций, приводящих к активации iNOS при сосудистой недостаточности, что проявляется снижением выраженности нитрозирующего и окислительного стресса.

ВЫВОДЫ

1. У больных с бактериальными кишечными инфекциями, сопровождающимися выраженным обезвоживанием, развивается нитрозирующий и окислительный стресс, что свидетельствует о гиперпродукции молекул оксида азота при данном патологическом состоянии и требует медикаментозной коррекции.
2. Пентоксифиллин способен снижать выраженность нитрозирующего (уровень нитритов/нитратов) и окислительного (уровень диеновых конъюгатов) стресса у пациентов с выраженным обезвоживанием.
3. Полученные данные позволяют рекомендовать использование пентоксифиллина в комплексной терапии бактериальных кишечных инфекций с выраженным обезвоживанием, что позволит уменьшить срок пребывания пациентов в стационаре, а следовательно, принесет положительный экономический эффект.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мартынова, Н. Н. Динамика содержания цитокинов и газового состава в крови больных сальмонеллезом и острым шигеллезом/Н. Н. Мартынова, А. А. Еровиченков, М. Н. Алленов и др.//Тер. арх. — 2006. — Т. 11. — С. 24–26.
2. Bakhshi, B. Genomic organization of the CTX element among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates/B. Bakhshi, M. R. Pourshafie, F. Navabakbar et al.//Clin. Microbiol. Infect. — 2008. — Vol. 14, № 6. — P. 562.
3. Семенов, В. М. Этиотропная терапия бактериальных кишечных инфекций/В. М. Семенов, Т. И. Дмитраченко//Мед. новости. — 2000. — Т. 2. — С. 32–36.
4. Eggesbo, J. LPS induced release of IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF in EDTA or heparin anticoagulated whole blood from persons with high or low levels of serum HDL/J. Eggesbo, I. Hjermann, A. Hostmark et al.//Cytokine. — 1996. — Vol. 8. — P. 152–160.
5. Abracham, E. Why immunomodulatory therapies have not worked in sepsis?/E. Abracham//Intensive Care Med. — 1999. — Vol. 25. — P. 556–566.
6. Солодков, А. П. Функциональное состояние системы синтеза NO при различных патологических процессах. Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. Труды III Междунар. научно-практич. конф./А. П. Солодков, В. И. Шебеко, С. Н. Занько и др. — Витебск: ВГМУ, 2004. — С. 241–247.
7. Murad, F. Cyclic guanosine monophosphate as mediator of vasodilation/F. Murad//J. Clin. Invest. — 1986. — Vol. 78. — P. 26–34.
8. Albuszies, G. Effect of increased cardiac output on hepatic and intestinal microcirculatory blood flow, oxygenation, and metabolism in hyperdynamic murine septic shock/G. Albuszies et al.//Crit. Care Med. — 2005. — Vol. 33, № 10. — P. 2332–2338.
9. Kellum, J. A. Fluid resuscitation and hyperchloremic acidosis in experimental sepsis: improved short-term survival and acid-base balance with Hextend compared with saline/J. A. Kellum//Crit. Care Med. — 2002. — Vol. 30. — P. 300–305.
10. Cooke, J. P. Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular diseases. Circulation/J. P. Cooke, V. J. Dzau. — 1997. — Vol. 96. — P. 379–382.
11. Мовчан, К. А. Методики расчетов эффективности медицинских технологий в здравоохранении/К. А. Мовчан, В. С. Глушанко, А. В. Плиш//Инструкция по применению, утв. МЗ Республики Беларусь № 159-1203 от 31.12.2003.
12. Белоусов, Ю. Б. Клиническая фармакология и фармакотерапия: Руководство для врачей/Ю. Б. Белоусов, В. С. Моисеев, В. К. Лепехин. — М., 1993. — С. 208–222.
13. Харкевич, Д. А. Фармакология/Д. А. Харкевич. — М.: ГЭОТАР-Медицина, 1999. — С. 298.