

## Использование пентоксифиллина для лечения пациентов с бактериальными кишечными инфекциями, осложненными развитием сосудистой недостаточности

Д.В. Пискун, В.М. Семенов, А.П. Солодков, А.В. Кутузова

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

## Usage of pentoxifyllin for treatment of patient's with acute intestinal infections complicated with the development of vascular insufficiency

D.V. Piskun, V.M. Semenov, A.P. Solodkov, A.V. Kutuzova

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

### Аннотация

Бактериальные кишечные инфекции довольно часто сопровождаются развитием сосудистой недостаточности. Целью работы явилось изучение влияния пентоксифиллина на выраженность нитрозативного и оксидативного стресса при бактериальных кишечных инфекциях с явлениями сосудистой недостаточности. В работе использовались биохимические (определение уровня нитритов/нитратов, диеновых конъюгатов) и статистические методы. У пациентов с бактериальными кишечными инфекциями с явлениями сосудистой недостаточности, получавшими пентоксифиллин уровень нитроксидемии был достоверно ниже, чем у лиц не получавших данный препарат, и составил в первые сутки наблюдения  $32,2 \pm 9,2$  мкмоль/л, к третьим суткам этот показатель снизился до  $29,15 \pm 3,4$  мкмоль/л, а к 5-7 суткам составил  $34,9 \pm 4,3$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ). У пациентов получавших пентоксифиллин, уровень диеновых конъюгатов в первые сутки наблюдения был достоверно ниже, чем у пациентов не получавших данный препарат и составил  $139,5 \pm 35,3$  нМ/г липида ( $p < 0,05$ ). К третьим суткам концентрация изучаемого показателя повысилась до  $277,9 \pm 70,65$  нМ/г липида, что связано с явлением реперфузии. Однако при использовании пентоксифиллина в последующие дни приведенный каскад реакций ингибируется и наблюдается снижение выраженности оксидативного стресса, о чем и будет свидетельствовать снижение уровня диеновых конъюгатов к 5-7 суткам ( $86,65$  нМ/г липида) у пациентов с сосудистой недостаточностью ( $p < 0,05$ ). Полученные экспериментальные данные позволяют рекомендовать использование пентоксифиллина для лечения бактериальных кишечных инфекций, осложненных развитием сосудистой недостаточности.

### Ключевые слова

Бактериальные кишечные инфекции, пентоксифиллин, сосудистая недостаточность.

### Summary

Bacterial intestinal infections is most frequently accompanied by development of vascular insufficiency. Thus, the aim of our work was the study of pentoxifyllin influence on the intensity of nitrostatic and oxidative stress in bacterial intestinal infections with the manifestation of vascular insufficiency. In this work we used biochemical (determination of nitrites/nitrates and dien conjugates levels) and statistical methods. In patients with bacterial intestinal infections with the evidences of vascular insufficiency receiving pentoxifyllin the level of nitroxidemia was reliably lower then in persons who didn't receive the corresponding preparation. It was  $32,2 \pm 9,2$  mmol/l on the 1st day of observation, by the 3rd day this index decreased to  $29,15 \pm 3,4$  mmol/l, and by 5-7 days it was equal to  $34,9 \pm 4,3$  mmol/l ( $p < 0,05$ ). The level of dien conjugates in patients receiving pentoxifyllin for the 1st day of observation was lower comparing with patients who didn't receive this preparation and was equal to  $139,5 \pm 35,3$  nM/g of lipid ( $p < 0,05$ ). By the 3rd day the concentration of parameter under control increased up to  $277,9 \pm 70,65$  of lipid what was associated with the phenomenon of reperfusion. However, subsequently this cascade of reactions was inhibited under pentoxifyllin administration and intensity of oxidative stress decreases, what evidences by the decrease of the level of dien conjugates to the 5-7 day of observation ( $86,65$  nM/g of lipid) in patients with vascular insufficiency ( $p < 0,05$ ). The data received allow us to propose the usage of pentoxifyllin for the treatment of bacterial intestinal infections complicated with the development of vascular insufficiency.

### Key words

Acute intestinal infection, pentoxifyllin, vascular insufficiency.

Бактериальные кишечные инфекции (БКИ) на протяжении последних лет остаются одной из актуальнейших проблем здравоохранения не только в России и Беларуси, но и во многих странах мира, сохраняя важное клиническое и социально-экономическое значение [1, 2]. Актуальность изучения данной патологии обусловлена несколькими факторами: ростом их числа, неуклонно повышающейся резистентностью возбудителей к антибактериальным препаратам, частым развитием тяжелых форм. БКИ являются одной из наиболее частых причин госпитализации в инфекционный стационар, их удельный вес колеблется от 20 до 30 %. Так, у детей диарея является одним из наиболее частых поводов для обращения родителей за медицинской помощью как в развитых, так и в развивающихся странах. Данная патология, к сожалению, может быть причиной высокой смертности в период новорожденности у детей раннего возраста [3]. Антибактериальная терапия не является основным методом лечения бактериальных кишечных инфекций и важна лишь при инвазивных формах заболевания у пациентов с риском возникновения экстраинтестинальных осложнений [2, 4]. В большинстве случаев основой лечения пациентов с острыми диареями является патогенетическая терапия, направленная на борьбу с дегидратацией [5, 6]. Однако при лечении не учитывается, что развитию сосудистой недостаточности способствует не только потеря жидкости со стулом, рвотой, но и активация синтеза таких соединений как интерлейкины – 1, 2, 6, 8, 12, интерферон-гамма, фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 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 [7, 8]. 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) [9]. NO – парамагнитный газ, молекулы которого имеют неспаренный электрон на внешней р-орбитали, что и обуславливает его высокую химическую реактивность при очень коротком полупериоде жизни. В нормальных условиях он образуется в пикомолярных концентраци-

ях в эндотелии, расслабляя в этом месте мышцы сосуда, а при сосудистой недостаточности в наномолярных концентрациях. 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 [10]. При взаимодействии NO с молекулярным кислородом образуется двуокись азота, которая в водных растворах разлагается на нитрит (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) и нитрат (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), являющимися показателями, отражающими нитрозативный стресс [11]. Негативное влияние на организм оксида азота реализуется как через сопряженную реакцию супероксидного анион-радикала (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) с NO, так и через непосредственное активирующее действие супероксидного анион-радикала на перекисное окисление липидов (ПОЛ), которое осуществляется неферментативным путем [12]. Несмотря на хорошее теоретическое обоснование, свидетельствующее о развитии нитрозативного стресса и активации перекисного окисления липидов (оксидативного стресса) при ряде патологических процессов, клинические рекомендации по коррекции данных процессов практически отсутствуют.

Целью работы явилось изучение влияния пентоксифиллина на выраженность нитрозативного и оксидативного стресса при БКИ с явлениями сосудистой недостаточности.

### Материалы и методы

Для подтверждения значимости изучения выбранной проблемы произведен статистический анализ 1015 случаев госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии Витебской областной инфекционной клинической больницы.

О показателе нитрозативного стресса судили по уровню нитритов/нитратов в крови 48 пациентов с различными бактериальными кишечными инфекциями (6 больных с сальмонеллезом, 8 пациентов с шигеллезом, и 34 больных с БКИ неуточненной этиологии), осложненными сосудистой недостаточностью, на 1, 3 и 5-7 сутки от момента возникновения сосудистой недостаточности.

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 [13].

Оксидативный стресс оценивался по уровню диеновых конъюгатов [14] в крови тех же 48 больных с сосудистой недостаточностью, взятой на 1, 3 и 5-7 сутки.

В группу пациентов с БКИ, осложненными сосудистой недостаточностью 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:

- температура тела выше 38°C или ниже 36°C;
- тахикардия более 90 уд/мин;
- тахипноэ более 20' в минуту;
- число лейкоцитов в периферической крови более -  $12 \times 10^9$  или менее  $4 \times 10^9$ /л, или число незрелых форм более 10%.

Группу сравнения (контрольную) при проведении лабораторных исследований составили практически здоровые доноры (n=42).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISTICA 6.0. Статистическую обработку данных проводили, рассчитывая среднюю арифметическую (M), стандартную ошибку средней арифметической ( $\pm m$ ). При сравнении средних величин совокупностей применяли критерий Стьюдента, позволяющий установить достоверность различий (p).

## Результаты и обсуждение

Анализ причин госпитализации показал, что наибольшую группу пациентов, нуждающихся в госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии составили больные острыми кишечными инфекциями (42,66 $\pm$ 2,24%). Удельный вес других групп инфекционных заболеваний был значительно ниже (инфекций дыхательных путей - 32,12 $\pm$ 1,46%, нейроинфекций - 13,5 $\pm$ 2,92%, вирусных гепатитов и циррозов печени - 2,95 $\pm$ 3,09%). У детей и подростков (от 1 до 18 лет) основным поводом для госпитализации послужили кишечные инфекции (63,23 $\pm$ 4,2%). Данная группа инфекционных заболеваний наиболее часто сопровождается развитием сосудистой недостаточности, что указывает на особую актуальность изучаемой проблемы.

При оценке кинетики уровня нитритов/нитратов, отражающих нитрозативный стресс в организме пациентов с бактериальными кишечными инфекциями, осложненными сосудистой недостаточностью, оказалось, что в первые сутки их концентрация в сыворотке составила 41,45 $\pm$ 2,6 мкмоль/л, что оказалось достоверно выше, чем в контрольной группе доноров (21,8 $\pm$ 0,14 мкмоль/л), а на третьи и 5-7 сутки - 37,3 $\pm$ 2,1 и 45,1 $\pm$ 8,9 мкмоль/л соответственно (p<0,05). Следовательно, у данной группы пациентов имеет место развитие выраженного нитрозативного стресса.

Следует отметить, что уровень нитроксидемии у пациентов с шигеллезом (n=8) был ниже, чем у 40 пациентов с другими бактериальными кишечными инфекциями и составил в первые сутки развития сосудистой недостаточности - 30,8 $\pm$ 5,4 мкмоль/л (p<0,05), а к 3 и 5-7 суткам - 35,1 $\pm$ 7,95 и 39,2 $\pm$ 6,95 мкмоль/л соответственно (p<0,01). Следовательно, при шигеллезе отмечается меньшая активация синтеза молекул оксида азота, чем при других видах БКИ.

Нами изучено влияние пентоксифиллина (трентал, производство компании Aventis) на выраженность нитрозативного и оксидативного стресса в организме пациентов с бактериальными кишечными инфекциями (n=10), осложненными развитием сосудистой недостаточности. Данный препарат применяли после возмещения жидкости, потерянной при обезвоживании (до 6 ч. от момента возникновения явлений сосудистой недостаточности). Использовали 2% раствор пентоксифиллина в объеме по 4,0 мл. внутривенно. При оценке уровня нитритов/нитратов в организме пациентов с острыми кишечными инфекциями, осложненными сосудистой недостаточностью и не получавшими пентоксифиллин, оказалось, что в первые сутки их концентрация в сыворотке составила 42,9 $\pm$ 2,6 мкмоль/л, на третьи сутки - 38,3 $\pm$ 2,3 мкмоль/л, а к 5-7 суткам концентрация продуктов деградации молекул оксида азота возросла до 46,85 $\pm$ 10,4 мкмоль/л. У пациентов с бактериальными кишечными инфекциями с явлениями сосудистой недостаточности, получавших пентоксифиллин уровень нитроксидемии был достоверно ниже и составил в первые сутки наблюдения 32,2 $\pm$ 9,2 мкмоль/л, к третьим суткам - 29,15 $\pm$ 3,4 мкмоль/л, а к 5-7 суткам составил 34,9 $\pm$ 4,3 мкмоль/л (p<0,05).

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, то обнаружение диеновой конъюгации является чувствительным тестом на выявление свободных радикалов либо ацилгидроперекисей (первичных продуктов ПОЛ, отражающих оксидативный стресс) [15, 16].

При оценке уровня диеновых конъюгатов в первые сутки от момента возникновения сосудистой недостаточности у пациентов не получавших пентоксифиллин их концентрация составила  $172,7 \pm 21,7$  нМ/г липида, а к трети суткам снизилась до  $119,7 \pm 17,4$  нМ/г липида, что вероятно связано с активацией ряда антиоксидантных ферментов, однако к 5-7 суткам концентрация диеновых конъюгатов вновь повысилась до  $171,9 \pm 32,8$  нМ/г липида. В контрольной группе содержание диеновых конъюгатов в сыворотке составило  $69,18 \pm 1,7$  нМ/г липида ( $p < 0,05$ ). Эти данные свидетельствуют о развитии оксидативного стресса у пациентов с явлениями сосудистой недостаточности.

В то же время, у пациентов получавших пентоксифиллин, уровень диеновых конъюгатов в первые сутки наблюдения был достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем у пациентов не получавших данный препарат и составил  $139,5 \pm 35,3$  нМ/г липида. К третьим суткам концентрация изучаемого показателя повысилась до  $277,9 \pm 70,65$  нМ/г липида, что достоверно выше, чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). 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  $A_2$  [17, 18]. 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 [19, 20]. Однако при использова-

нии ингибиторов NOS-II в последующие дни приведенный каскад реакций ингибируется [21] и наблюдается снижение выраженности как нитрозативного, так и оксидативного стресса. Наши данные свидетельствуют о уменьшении уровня диеновых конъюгатов к 5-7 суткам ( $86,65 \pm 22,7$  нМ/г липида) у пациентов с сосудистой недостаточностью, получавших пентоксифиллин ( $p < 0,05$ ). Следовательно, пентоксифиллин способен снижать и выраженность оксидативного стресса.

Это связано с тем, что, с одной стороны, пентоксифиллин улучшает реологические свойства крови путем воздействия на патологически измененную деформируемость эритроцитов, ингибируя агрегацию тромбоцитов и улучшая микроциркуляцию в зонах нарушенного кровообращения. При этом механизм его действия связан с ингибированием фосфодиэстеразы и накоплением циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в клетках гладкой мускулатуры сосудов и форменных элементов крови [22]. С другой стороны, полученные данные косвенно свидетельствуют о ингибирующем влиянии пентоксифиллина на iNOS при сосудистой недостаточности, что проявляется снижением выраженности нитрозативного и оксидативного стресса.

## Выводы

1. Пациенты с острыми кишечными инфекциями составляют наибольшую группу нуждающихся в госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии.
2. У больных с бактериальными кишечными инфекциями, осложненными развитием сосудистой недостаточности, развивается нитрозативный и оксидативный стресс, что свидетельствует о гиперпродукции молекул оксида азота при данном патологическом состоянии и требует медикаментозной коррекции.
3. У больных шигеллезом с явлениями сосудистой недостаточности нитрозативный стресс менее выражен, чем при других бактериальных кишечных инфекциях.
4. Пентоксифиллин способен снижать выраженность нитрозативного (уровень нитритов/нитратов) и оксидативного (уровень диеновых конъюгатов) стресса у пациентов с сосудистой недостаточностью.
5. Полученные данные позволяют рекомендовать использование пентоксифиллина для лечения бактериальных кишечных инфекций, осложненных развитием сосудистой недостаточности.

## Литература

1. Мартынова Н.Н., Еровиченков А.А., Алленов М.Н. и соавт. Динамика содержания цитокинов и газового состава в крови больных сальмонеллезом и острым шигеллезом. Тер. архив. 2006; 11:24-26.
2. Семенов В.М., Дмитраченко Т.И. Этиотропная терапия бактериальных кишечных инфекций. Мед. новости. 2000; 2:32-36.
3. Barker Dj.P., Rose G. Epidemiology in Medical Practice, 4<sup>th</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone. 1990; 5-49.
4. Тапальский Д.В., Владимирская Т.Э., Швед И.А. Устойчивость низкого уровня к фторхинолонам у полирезистентных штаммов сальмонелл. Мед. новости. 2006; 3:146-148.
5. Ребенок Ж.А. Пищевая токсикоинфекция. Мн.: Бел. наука, 2004; 171 с.
6. Учайкин В.Ф., Молочный В.П. Неотложные состояния в педиатрии: практическое руководство. М.:ГЭОТАР-Медиа, 2005; 256 с.
7. Eggesbo J., Hjermann I., Hostmark A. et. al. LPS induced release of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 and TNF- in EDTA or heparin anticoagulated whole blood from persons with high or low levels of serum HDL. Cytokine.1996; 8:152-160.
8. Abracham E. Why immunomodulatory therapies have not worked in sepsis? Intensive Care Med. 1999; 25:556-566.
9. Солодков А.П., Шебеко В.И., Занько С.Н. и соавт. Функциональное состояние системы синтеза NO при различных патологических процессах. Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. Труды III международной научно-практической конференции. Витебск: ВГМУ, 2004; 241-247.
10. Murad F. Cyclic guanosine monophosphate as mediator of vasodilation. J. Clin. Invest. 1986; 78: 26-34.
11. Nathan C.F., Hibbs J.B. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. Current Opinion Immunol. 1991; 3:65-70.
12. Squadrito G.L., Pryor W.A. Oxidative chemistry of nitric oxide: The roles of superoxide, peroxynitrite and carbon dioxide. Free Radical Biol. Med. 1998; 25:392-403.
13. Солодков А.П., Веремей И.С., Осочук С.С. и соавт. Фотометрический метод определения нитратов и нитритов в биологических жидкостях. Инструкция по применению, утв. МЗ РБ № 91-0008 от 19.03.2001.
14. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изоропильных экстрактов. Лаб. дело. 1988; 2:60-64.
15. Pryor W.A., Castle L. Chemical methods for the detection of lipid hydroperoxides. Methods Enzymol. 1984;105:293-299.
16. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. Methods Enzymol.1990;186:1-85.
17. Gerd Albuszies et al. Effect of increased cardiac output on hepatic and intestinal microcirculatory blood flow, oxygenation, and metabolism in hyperdynamic murine septic shock. Crit. Care Med. 2005; 33. No 10:2332- 2338.
18. Kellum J.A. Fluid resuscitation and hyperchloremic acidosis in experimental sepsis: improved short-term survival and acid-base balance with Hextend compared with saline. Crit. Care Med. 2002; 30:300-305.
19. Cooke J.P., Dzau V.J. Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular diseases. Circulation. 1997;96:379- 382.
20. Sakr Y. et al. Persistent microcirculatory alterations are associated with organ failure and death in patients with septic shock. Crit. Care. Med. 2004; 32:1825-1831.
21. Tsuchiya T., Kishimoto J. Modulatory effect of L-NAME, a specific nitric oxide synthase (NOS) inhibitor, on stress-induced changes in plasma adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone levels in rats: physiological significance of stress-induced NOS activation in hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Brain. Res. 1997; 776:68-74.
22. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система). Выпуск VII. М.: „Эхо”, 2006;1000 с.