

ИНГАЛЯЦИОННЫЙ ОКСИД АЗОТА: КЛИНИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ И ВЛИЯНИЕ НА ПРОФИЛЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Т.В. Мартынюк*, С.Н. Наконечников, В.П. Масенко, И.Е. Чазова

Институт клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, Российский кардиологический научно-производственный комплекс. 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, 15а

Ингаляционный оксид азота: клинические эффекты и влияние на профиль провоспалительных маркеров у пациентов с идиопатической легочной гипертензией

Т.В. Мартынюк*, С.Н. Наконечников, В.П. Масенко, И.Е. Чазова

Институт клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, Российский кардиологический научно-производственный комплекс. 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, 15а

Цель. Изучить влияния курсовой терапии ингаляционным оксидом азота (iNO) на клинический статус пациентов с идиопатической легочной гипертензией (ИЛГ), а также – профиль провоспалительных цитокинов в периферической крови.

Материал и методы. В исследование включено 48 пациентов с ИЛГ. Исходно и на 21 день терапии iNO у больных оценивали функциональный класс (ФК) легочной гипертензии, проводили тест 6-минутной ходьбы (6MWT) с оценкой индекса по Боргу, ЭхоКГ, лабораторные исследования (клинический анализ крови, определение высокочувствительного С-реактивного белка (вСРБ), уровней интерлейкинов (IL), интерферона γ (INF γ), фактора некроза опухоли α (TNF α), макрофагального воспалительного протеина α (MIP1 α), растворимых молекул адгезии (sICAM-1, sVCAM-1) в периферической крови). Курсовое лечение iNO 40 ppm (parts per million – 40 частей NO на миллион частей воздуха) 5 ч в сутки в течение 21 дня проводили под контролем токсичности на приборе PrinterNOx (Англия) на фоне приема стандартной терапии ИЛГ.

Результаты. В результате терапии iNO у больных ИЛГ отмечалось повышение толерантности к физической нагрузке, улучшение ФК (с $3,35 \pm 0,52$ до $2,71 \pm 0,56$; $p=0,008$), снижение систолического давления в легочной артерии (СДЛА) по данным ДопплерЭхоКГ (с $96,23 \pm 23,65$ до $82,36 \pm 20,92$ мм рт.ст.; $p<0,05$). При оценке исходных уровней провоспалительных цитокинов у больных ИЛГ удалось подтвердить значимость процессов воспаления в патогенезе заболевания. В результате 21-дневной ингаляционной терапии NO у больных ИЛГ отмечалось значимое снижение уровней провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α . У больных с ФК II в результате терапии iNO была выявлена существенная динамика IL-1 β и sVCAM, при ФК III-IV – уменьшение содержания IL-8 и TNF α и повышение INF γ ($p<0,05$). Изменения IL-1 β и sVCAM (Δ IL-1 β и Δ sVCAM) к 21 дню терапии по сравнению с исходным коррелировали с Δ СДЛА, а Δ IL-6 – с Δ ФК и Δ дистанции 6MWT ($30,5 [21,0; 53,0]$ м; $p<0,001$), что позволяет рассматривать указанные показатели в качестве маркеров эффективности терапии iNO.

Заключение. Ингаляционная терапия NO у больных ИЛГ в течение 21 дня способствовала значительному улучшению функционального статуса, снижению СДЛА и вызвала позитивную динамику уровней провоспалительных цитокинов в крови.

Ключевые слова: идиопатическая легочная гипертензия, оксид азота, цитокины, воспаление.

РФК 2012;8(4):500-508

Inhaled nitric oxide: clinical effects and influence on the profile of inflammatory markers in patients with idiopathic pulmonary hypertension

T.V. Martyniuk*, S.N. Nakonechnikov, V.P. Masenko, I.E. Chazova

Institute of Clinical Cardiology named after A.L. Myasnikov, Russian Cardiology Research and Production Complex. Tretya Cherepkovskaya ul. 15a, Moscow, 121552 Russia

Aim. To study the effect of treatment with inhaled nitric oxide (iNO) on the clinical status of patients with idiopathic pulmonary hypertension (IPH), and the profile of proinflammatory cytokines in peripheral blood.

Material and methods. Patients with IPH ($n=48$) were included into the study. Evaluation of the IPH functional class (FC), the 6-minute walk test (6MWT) with the assessment of the Borg index, echocardiography, laboratory tests [blood count, evaluation of high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), interleukins (IL), interferon- γ (INF γ), tumor necrosis factor α (TNF α), macrophage inflammatory protein α (MIP1 α), soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) in peripheral blood] were performed at baseline and on day 21 of iNO therapy course. The iNO course 40 ppm during 5 hours a day for 21 days was carried out additionally to the standard IPH therapy under the toxicity control by the PrinterNOx (England).

Results. Increase in exercise tolerance, improvement of IPH FC (from 3.35 ± 0.52 to 2.71 ± 0.56 ; $p=0.008$), reduction in systolic pulmonary artery pressure (SPAP) by Doppler echocardiography (from 96.23 ± 23.65 to 82.36 ± 20.92 mmHg; $p<0.05$) were found in IPH patients as a result of iNO therapy. The significance of inflammation in IPH pathogenesis was confirmed due to assessment of the initial levels of proinflammatory cytokines. iNO therapy resulted in significant decrease in proinflammatory cytokines-IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α levels. iNO induced significant dynamics of IL-1 β and sVCAM in patients with IPH FC II. It reduced IL-8 and TNF α and increase INF γ ($p<0.05$) in patients with IPH FC III-IV. Changes in IL-1 β and sVCAM levels (Δ IL-1 β and Δ sVCAM) by the 21 day of iNO therapy in comparison with these at baseline correlated with Δ SPAP, and Δ IL-6 correlated with Δ FC and Δ 6MWT distance ($30.5 [21.0; 53.0]$ m; $p<0.001$). This allows considering these indicators as markers of iNO treatment efficacy.

Conclusions. 21-day iNO therapy in IPH patients resulted in significant improvement of functional status, reduce SPAP and caused the positive dynamics of proinflammatory cytokines blood levels.

Key words: idiopathic pulmonary hypertension, nitric oxide, cytokines, inflammation

Rational Pharmacother. Card. 2012;8(4):500-508

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): trukhiniv@mail.ru

Идиопатическая легочная гипертензия (ИЛГ) относится к числу редких тяжелых заболеваний сердечно-сосудистой системы неустановленной этиологии. Процессы ремоделирования легочных сосудов приводят к выраженному повышению легочного сосудистого со-

противления (ЛСС) и давления в легочной артерии (ДЛА), перегрузке и декомпенсации правого желудочка, что определяет прогноз больных. В соответствии с современными представлениями о патогенезе заболевания ключевую роль в формировании сложной перестройки сосудистого русла легких при ИЛГ играет дисфункция эндотелия [1]. Повреждение эндотелия вызывает местные воспалительные реакции и процессы клеточной пролиферации. Воспаление в качестве самостоятельного повреждающего фактора может инициировать процессы свободно-радикального окисления, которые поддерживают и усиливают дисфункцию эндотелия.

Оксид азота (NO) – вазодилатор, который вырабатывается в эндотелии сосудов из L-аргинина в присутствии эндотелиальной NO-синтазы (eNOS). При ИЛГ продукция эндотелиального NO в легочном сосу-

Сведения об авторах:

Мартынюк Тамила Витальевна – к.м.н., в.н.с. отдела

системных гипертензий ИКК им А.Л. Мясникова РКНПК

Наконечников Сергей Николаевич – д.м.н., ученый

секретарь РКНПК

Масенко Валерий Павлович – д.м.н., профессор,

руководитель отдела нейрогуморальных и иммунологических

исследований ИКК им А.Л. Мясникова РКНПК

Чазова Ирина Евгеньевна – д.м.н., профессор, член-корр.

РАМН, руководитель отдела системных гипертензий, директор

ИКК им А.Л. Мясникова РКНПК

дистом русле значительно снижена. Это связано как со снижением экспрессии eNOS в эндотелиальных клетках (ЭК) легочных сосудов, так и с усилением активности эндогенного ингибитора eNOS — диметиларгинина, а также со снижением содержания в эндотелиальных клетках легочных артерий диметиларгинин диметиламиногидролазы — фермента, инактивирующего диметиларгинин [2]. Кроме того, у пациентов с легочной гипертензией повышена активность аргиназы II в клетках эндотелия, которая конкурирует с eNOS за субстрат — L-аргинин [3]. Не исключается и постсинтетическая инактивация NO в качестве возможной причины нарушения его обмена у больных с ИЛГ. Роль эндогенного оксида азота (NO) при ИЛГ обусловлена его многогранным действием на сосудистый тонус, активность тромбоцитов и лейкоцитов, пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК) и фибробластов, а также иммунный и воспалительный ответ [2].

Дефицит NO при ИЛГ как причина хронического вазоспазма, клеточной пролиферации, внутрисосудистого тромбообразования является потенциальной терапевтической мишенью [1]. Первым способом повышения уровня эндогенного NO у пациентов с ИЛГ явилось использование ингаляционного оксида азота (iNO), который представляет особый интерес с точки зрения наиболее полного и комплексного воздействия на патологические процессы при ИЛГ.

На фоне применения iNO происходит уменьшение количества и снижение активности нейтрофилов легких, угнетается процесс хемотаксиса [4]. Под действием NO уменьшается экспрессия молекул адгезии, CD18 [5]. Аспекту противовоспалительной активности iNO при ИЛГ посвящены единичные работы, поэтому целью настоящего исследования явилось изучение влияния курсовой терапии ингаляционным оксидом азота на клинический статус пациентов с ИЛГ, а также профиль провоспалительных цитокинов в периферической крови.

Материал и методы

В одноцентровом пилотном исследовании, проведенном в отделе системных гипертензий Института Клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, принимали участие пациенты в соответствии со следующими критериями включения/исключения:

Критерии включения:

- Возраст > 18 лет
- Верифицированный диагноз ИЛГ
- Отрицательная острая фармакологическая проба (ОФП) или положительная при отсутствии улучшения на фоне терапии антагонистами кальция (АК)
- Функциональный класс (ФК) (ВОЗ) II-IV
- Стабильное течение заболевания на фоне проводимой стандартной терапии ИЛГ в течение последних 3 мес.

Критерии исключения:

- ЛГ установленной этиологии
- Несоблюдение методов контрацепции женщинами детородного возраста
- Беременность, лактация
- Хроническая обструктивная болезнь легких [форсированный объем выдоха за 1 сек (ФОВ1) < 70% от должного], рестриктивные заболевания легких [общая емкость легких (ОЕЛ) < 70% от должного]
- Систолическое артериальное давление (САД) < 90 мм рт.ст.
- Заболевания опорно-двигательного аппарата, препятствующие проведению теста 6-минутной ходьбы (6MWT)
- Признаки системного воспаления (острые воспалительные заболевания, хронические воспалительные заболевания в стадии обострения)
- Изменения лекарственной терапии в течение последних 3 мес.

Диагноз ИЛГ устанавливался при повышении среднего ДЛА (ДЛА_{ср}) > 25 мм рт. ст. в состоянии покоя по данным катетеризации правых отделов сердца (КПОС) и исключения всех возможных причин ЛГ на основании тщательного обследования. Оценка параметров центральной гемодинамики по данным КПОС проводилась не ранее 3 мес, предшествующих включению больных в исследование при условии, что их клиническое состояние в течение указанного периода оставалось стабильным. Исходно и по окончании 21-дневного курса iNO всем пациентам проводилось клинико-лабораторное обследование. У больных оценивался ФК ЛГ по классификации ВОЗ. 6MWT проводился по стандартной методике и дополнялся оценкой индекса по шкале Борга (от 0 до 10 баллов) [1]. Трансторакальная эхокардиография (ЭхоКГ) выполнялась на приборе SONOS 5500 (Philips), уровень систолического давления в легочной артерии (СДЛА) определялся по величине трикуспидальной регургитации. Традиционная ЭхоКГ дополнялась проведением повторной неинвазивной ОФП при ДопплерЭхоКГ (ДЭхоКГ). Критерием положительной ОФП считалось снижение СДЛА к 15 минуте ингаляции NO в дозе 40 ppm более чем на 20%. Все лабораторные исследования проводились исходно (до начала ингаляций NO) и в последний (21-й) день курсовой терапии.

Клинический анализ крови с развернутой формулой выполняли на гематологическом анализаторе Cell DYE-3700 (Abbott, США). Исследование уровня высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) в сыворотке крови проводили методом нефелометрии на анализаторе белков крови «Беринг Нефелометр» (BN ProSpec, Dade-Behring Marburg GmbH, Германия) с использованием реактивов фирмы Dade-Behring. Опре-

деление уровня антител к кардиолипину классов IgM и IgG, а также аутоантител класса IgG к нативной (двухспиральной) и денатурированной (однонитевой) ДНК проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов реагентов компании Orgentec Diagnostika GmbH, Германия.

Определение уровня интерлейкинов (IL-1 α , IL-6, IL-8, IL-10), интерферона γ (INF γ), фактора некроза опухоли α (TNF α – tumor necrosis factor α), макрофагального воспалительного протеина α (MIP1 α – macrophage inflammatory peptide α), растворимых молекул межклеточной адгезии (sICAM-1 – soluble intercellular adhesion molecule-1; sVCAM-1 – soluble vascular cell adhesion molecule-1) в периферической крови проводилось методом иммуноферментного анализа наборами реагентов Bender MedSystems (Австрия).

После исходной комплексной оценки клинического и иммунологического статуса все больные получали курсовое лечение iNO в течение 21 дня. Всем пациентам на протяжении 3 нед проводилась ежедневная ингаляция NO в дозе 40 ppm в течение 5 ч в сутки. Контроль токсичности и подбор дозы NO осуществлялись на приборе PrinterNOx (Англия). Пациенты получали стандартную терапию дигидропиридиновыми АК (при положительной ОФП), антикоагулянты или антиагреганты, а при наличии признаков задержки жидкости и отечного синдрома – диуретики. При анализе результатов лечения iNO в зависимости от исходного клинико-функционального статуса больные ИЛГ были разделены на 2 группы. В 1 группу были включены больные с менее выраженными функциональными нарушениями, имевшие ФК II, во 2-ю – ФК III и IV. Оценка показателей системного воспаления и аутоиммунной патологии проводилась как в сравнении с нормальными значениями, так и с показателями в сопоставимой группе контроля (здоровые лица без признаков ЛГ).

Статистическая обработка проводилась с помощью пакета Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США). Количественные переменные описывались следующими статистиками: числом пациентов, средним арифметическим значением (M) и стандартным отклонением от среднего арифметического значения (δ) или медианой и [25-м; 75-м] процентилями. Качественные переменные описывались абсолютными и относительными частотами (процентами). Различия считались статистически значимыми при уровне ошибки $p < 0,05$. Для количественных переменных проводился тест на нормальность распределения. Для оценки полученных результатов использованы методы статистического анализа: χ^2 -критерий Пирсона (анализ таблиц сопряженности), t-критерий Стьюдента, критерий Шефе множественных сравнений (сравнение более чем двух групп). Если выборки из переменных не подчинялись нормальному закону распределения, использовали непараметрические

Таблица 1. Исходная характеристика пациентов ИЛГ (n=48)

Показатель	Значение
Возраст, годы	37,3 \pm 9,2
Пол: мужчины/ женщины, n (%)	38 (79,2) / 10 (20,8)
Длительность периода от дебюта первых симптомов, годы	2,09 \pm 0,87
Длительность ИЛГ от момента установления диагноза, годы	1,69 \pm 0,79
ИМТ, кг/м ²	23,9 \pm 4,7
ФК (ВОЗ): I/ II/ III/IV, n (%)	0 (0) / 17 (35,4) / 28 (58,3) / 3 (6,3)
ИМТ – индекс массы тела; ФК – функциональный класс	

тесты: U-тест по методу Манна и Уитни, H-тест по Крускалу и Уоллису. Для изучения взаимосвязи показателей использовался корреляционный анализ.

Результаты

В исследование было включено 48 пациентов с ИЛГ в возрасте 37,3 \pm 9,2 (от 18 до 59) лет. Большинство пациентов составили женщины (79,2%). Только 7 (14,6%) больных имели избыточную массу тела. Длительность заболевания с момента дебюта симптомов составила 1,69 \pm 0,79 лет. Длительность периода от дебюта первых симптомов до установления диагноза составила 2,09 \pm 0,87 года. 15 (31,3%) больных получили курсовую терапию iNO непосредственно после верификации диагноза и определения отрицательной ОФП. При оценке функционального статуса в соответствии с классификацией ВОЗ II, III и IV ФК имели соответственно 17(35,4%), 28(58,3%) и 3(6,3%) больных. Исходная характеристика включенных пациентов представлена в табл. 1.

На момент включения в исследование все больные ИЛГ отмечали возникновение одышки при выполнении физической нагрузки, у 3(6,3%) больных одышка возникала в покое. Больные предъявляли жалобы на повышенную утомляемость (n=39; 81,3%), боли в грудной клетке, не связанные с нагрузкой (n=22; 45,8%), сердцебиения (n=14; 29,2%), головокружения (n=31; 64,6%), синкопальные состояния (n=12; 25%), отеки голеней и стоп (n=5; 10,4%).

При выполнении 6MWT средняя дистанция составила 289,89 \pm 65,22м при выраженности одышки – 3,22 \pm 1,76 балла.

Таблица 2. Функциональный статус больных с ИЛГ исходно и через 3 нед ингаляций NO

Показатель	Исходно	После курса iNO
Средний ФК (ВОЗ)	3,35 \pm 0,52	2,71 \pm 0,56**
6MWT, м	289,89 \pm 65,22	321,54 \pm 58,39***
Индекс по Боргу, баллы	3,22 \pm 1,76	2.12 \pm 0.79*
*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 – по сравнению с исходным значением; ФК – функциональный класс; 6MWT – дистанция в тесте 6-минутной ходьбы		

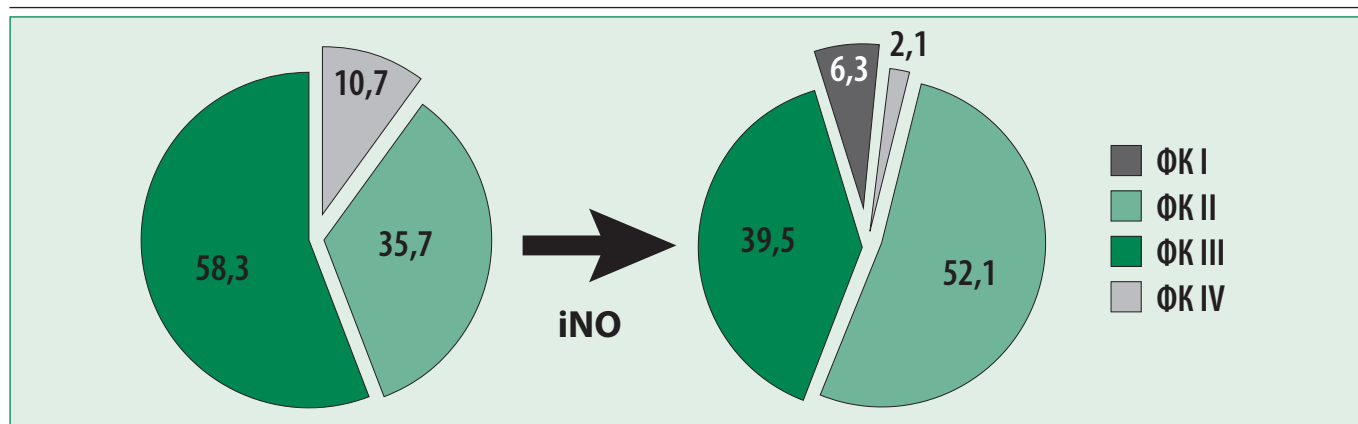


Рисунок 1. ФК у больных ИЛГ на фоне терапии iNOS (%)

Дозирование iNO проводилось под контролем системного АД и общего состояния больных ИЛГ. По окончании курсовой ингаляционной терапии NO у больных наблюдалось значительное улучшение переносимости физических нагрузок, которое субъективно отметили 25 (52,1%) больных. Одышка в покое сохранилась только у 1 (2,1%) больного, 28 (38,3%) больных отмечали повышенную утомляемость. Боли в грудной клетке сохранялись у 18 (37,5%), сердцебиения – у 11 (22,9%) больных. Значительно уменьшилось число больных с жалобами на головокружения ($n=23$; 47,9%) и отеки голеней и стоп ($n=2$; 4,2%). Синкопе за период лечения возникло у 1 (2,1%) пациентки.

Отмечено уменьшение ФК в среднем по группе с $3,35 \pm 0,52$ до $2,71 \pm 0,56$ ($p=0,008$) (табл. 2). Количество больных, имевших исходно ФК III, снизилось с 28 (58,3%) до 19 (39,5%) (рис. 1).

К 21-му дню iNO из 3 (6,3%) больных с исходным ФК IV только у 1 (2,1%) больного сохранялось крайне выраженное снижение толерантности к физическим нагрузкам. Число больных с ФК II увеличилось с 17 (35,4%) до 25 (52,1%). У 3 (6,3%) больных на фоне терапии iNO клинические симптомы появлялись только при выполнении чрезмерных физических нагрузок (ФК I).

При 6MWT пациенты прошли дистанцию на 30,5 [21,0; 53,0] м больше по сравнению с исходной

Таблица 3. Характеристика пациентов ИЛГ в зависимости от ФК

Показатель	Больные с ФК II (n=17)	Больные с ФК III-IV (n=31)	p
Возраст, годы	36,76±10,74	37,06±11,20	>0,05
Пол (м/ж), n (%)	3 (17,6)/ 14 (82,4)	7 (22,6)/ 24 (77,4)	>0,05
Длительность от дебюта первых симптомов, годы	1,79±0,87	2,21±0,82	>0,05
Длительность от момента установления диагноза, годы	1,89±0,88	1,63±0,75	>0,05
Дистанция в 6MWT, м	442,90±25,59	263,99±87,67	<0,0001
Индекс одышки по Боргу, баллы	2,42±1,44	4,45±2,03	<0,001
СДЛА, мм рт.ст. (ДЭхоКГ)	80,80±18,09	105,17±31,12	<0,05
ПЗР ПЖ, см	3,92±0,70	4,52±0,68	<0,05

6MWT – тест 6-минутной ходьбы; СДЛА – систолическое давление в легочной артерии; ДЭхоКГ – доплерэхокардиография; ПЗР ПЖ – передне-задний размер правого желудочка

Таблица 4. Динамика клинических показателей на фоне курсовой ингаляционной терапии NO

Показатель	Больные ИЛГ с ФК II (n=17)		Больные ИЛГ с ФК III-IV (n=31)	
	Исходно	Через 21 сут	Исходно	Через 21 сут
Дистанция в 6MWT, м	442,90±25,59 ⁺⁺⁺	470,88±72,45 ^{****}	263,99±87,67	292,87±90,81*
Индекс по Боргу, баллы	2,42±1,44 ⁺⁺⁺	1,0±0,76 ^{****}	4,45±2,03	3,22±1,08*
СДЛА (ДЭхоКГ), мм рт.ст.	80,80±18,09 ⁺	73,55±24,82 ⁺⁺	105,17±31,12	99,56±21,70*
САД, мм рт.ст.	118,20±7,84 ⁺⁺⁺	116,90±5,93 ^{****}	100,06±10,67	98,39±10,28 ^{***}
ДАД, мм рт.ст.	78,70±4,52 ⁺⁺⁺	73,20±5,12 ^{****}	71,0±5,02	68,17±4,30 ^{***}
ЧСС, уд /мин.	76,0±4,51 ⁺⁺	74,50±4,14 ^{****}	83,04±7,15	81,56±7,41 ^{***}

6MWT – тест 6-минутной ходьбы; СДЛА – систолическое давление в легочной артерии; ДЭхоКГ – доплерэхокардиография; САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений.
* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ – по сравнению с исходным значением; ⁺ $p<0,05$; ⁺⁺ $p<0,01$; ⁺⁺⁺ $p<0,001$ – по сравнению с аналогичным показателем в сравниваемой группе

($p < 0,001$), уменьшилась степень выраженности одышки по Боргу с $3,22 \pm 1,76$ до $2,12 \pm 0,79$ баллов ($p < 0,05$). СДЛА по данным ДЭхоКГ снизилось с $96,23 \pm 23,65$ до $82,36 \pm 20,92$ мм рт.ст. Через 3 нед ингаляции NO СДЛА в среднем по группе достоверно снизилось на $-5,3$ [-15,0; 0] ($p = 0,043$). При этом размеры правого предсердия, правого желудочка, легочной артерии, толщина миокарда правого желудочка существенно не изменились.

Как видно в табл. 3, группы больных с разным исходным клинико-функциональным статусом оказались сопоставимыми по возрасту, полу, длительности периода с момента появления первых симптомов и длительности ИЛГ с момента установления диагноза. 6MWT у больных с ФК II ($442,90 \pm 25,59$ м) была достоверно больше по сравнению с группой ФК III-IV ($263,99 \pm 87,67$ м) ($p < 0,0001$). Выполнение 6MWT сопровождалось возникновением более выраженной одышки у больных 2 группы ($4,45 \pm 2,03$ и $2,42 \pm 1,44$ баллов, соответственно; $p < 0,001$). Больные с более выраженными функциональными нарушениями характеризовались более высоким в среднем по группе СДЛА ($105,17 \pm 31,12$ по сравнению с $80,80 \pm 18,09$ мм рт.ст.; $p < 0,05$) и дилатацией ПЖ ($4,52 \pm 0,68$ и $3,92 \pm 0,70$, соответственно; $p < 0,05$). В результате курса терапии iNO в обеих группах больных наблюдалась положительная динамика в 6MWT. Прирост 6MWT в данных группах был сопоставимым – $29,0$ [9,5; 31,5] и $31,7$ [7,5; 37,5], соответственно. К 21-му дню лечения между группами сохранялись достоверные различия ($p < 0,001$) (табл. 4). Индекс по Боргу уменьшился в среднем на $1,42 \pm 0,54$ в 1-й группе и на $1,23 \pm 0,87$ баллов – во 2-й ($p < 0,05$). К 21 дню лечения iNO выраженность одышки между группами, как и исходно, достоверно различалась ($p < 0,001$).

Таблица 5. Данные иммунологического анализа крови у больных ИЛГ

Показатель, Ед/мл	Больные ИЛГ	Группа контроля
IgG к денатурированной ДНК	$7,59 \pm 10,75$ $3,3$ [0,1;13,2]	$6,19 \pm 7,25$ $4,5$ [0,1;16,8]
IgG к нативной ДНК	$4,73 \pm 10,76$ $0,1$ [0,1;3,3]	$5,12 \pm 6,26$ $3,2$ [0,1;15,7]
IgG к кардиолипину	$7,55 \pm 5,89$	$6,25 \pm 3,19$
IgM к кардиолипину	$4,69 \pm 2,34$	$3,83 \pm 2,14$
IgA к кардиолипину	$3,66 \pm 1,24$	$3,55 \pm 2,04$

По данным ДЭхоКГ СДЛА, в среднем, достоверно снизилось на $7,2$ [-16,8; 0] и $6,3$ [-15,6; 0] мм рт.ст., соответственно. Достигнутый уровень СДЛА во 2-й группе сохранялся достоверно выше по сравнению с группой 2 ($99,56 \pm 21,70$ и $73,55 \pm 24,82$ мм рт.ст., соответственно; $p < 0,01$).

Безопасность ингаляционной терапии NO. В целом, все больные хорошо переносили ингаляции NO. В первые дни терапии у 3 (6,3%) больных возникала головная боль средней интенсивности, проходящая самостоятельно и не требующая прекращения лечения. Эффекта отмены (ухудшение состояния, усиление одышки) после прекращения ингаляций NO не отмечалось. В целом, переносимость терапии больные характеризовали как «отличную» ($n = 12$; 25%), «очень хорошую» ($n = 25$; 52,1%), и «хорошую» ($n = 11$; 22,9%). При оценке динамики системного АД обращало на себя внимание снижение в среднем по группе как САД (с $106,54 \pm 13,06$ до $105,0 \pm 12,65$ мм рт.ст.; $p < 0,05$), так и ДАД (с $73,75 \pm 6,06$ до $71,21 \pm 6,07$ мм рт.ст.; $p < 0,001$), что не сопровождалось клинически значимыми побочными явлениями. Средняя ЧСС уменьшилась к 21 дню терапии NO с $80,54 \pm 7,15$ до $79,04 \pm 7,22$ уд/мин ($p < 0,001$). Группа больных ИЛГ с ФК I-II ха-

Таблица 6. Уровень цитокинов и молекул клеточной адгезии у больных ИЛГ в результате курсовой ингаляционной терапии NO

Показатель	Больные ИЛГ		Группа контроля
	исходно	после iNO	
IL-1 β , пг/мл	$2,05 \pm 1,36$ $2,08$ [0,8;3,0]	$1,55 \pm 1,19$ $1,09$ [0,98;1,90]***	$1,81 \pm 1,21$ $1,44$ [1,06; 2,26]
IL-6, пг/мл	$6,54 \pm 3,86$ †††	$3,05 \pm 1,73$ ***	$2,18 \pm 1,29$
IL-8, пг/мл	$16,10 \pm 18,53$ $8,44$ [6,10;15,84]	$10,55 \pm 13,70$ $5,63$ [4,05;9,41]***	$11,8 \pm 11,08$ $8,14$ [6,6; 9;12]
IL-10, пг/мл	$1,76 \pm 1,07$ $1,57$ [0,95;2,20]	$1,52 \pm 0,88$ $1,20$ [0,87;2,20]	$0,62 \pm 1,02$ $0,54$ [0,4;1,71]
TNF α , пг/мл	$22,01 \pm 3,72$ †††	$19,62 \pm 3,92$ ***††	$5,18 \pm 1,39$
INF γ , пг/мл	$2,56 \pm 3,01$ $1,50$ [1,10;2,73]††	$3,50 \pm 4,49$ $1,70$ [1,0;3,76]†	$4,84 \pm 1,49$
MIP1 α , пг/мл	$24,04 \pm 27,72$ $15,58$ [9,68;4,93]††	$16,02 \pm 11,61$ $11,28$ [7,58;9,86]††	$1,55 \pm 1,15$
sICAM, нг/мл	$364,11 \pm 76,34$ †††	$360,80 \pm 56,03$ ††	$235,07 \pm 77,48$
sVCAM, нг/мл	$1043,93 \pm 512,29$ ††	$1001,94 \pm 611,16$ †††	$734,16 \pm 126,80$

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – по сравнению с исходным значением; † $p < 0,05$; †† $p < 0,01$; ††† $p < 0,001$ – по сравнению с контролем

рактировалась исходно более высоким, по сравнению с группой 1, уровнем системного АД (САД/ДАД 118,20/78,70 и 100,06/71,0 мм рт.ст.; $p < 0,0001$) и более низкой ЧСС (76,0 и 83,04 уд/мин; $p < 0,001$). На фоне ингаляционной терапии NO в группах больных с ФК II и III-IV снижение АД (-1,3/5,5 и -1,7/2,8, соответственно) и уменьшение ЧСС (-1,5 и -1,4 уд/мин) было сопоставимым. К 21-му дню сохранялись существенные различия АД и ЧСС между группами больных ИЛГ. Для исключения системного воспаления и аутоиммунной патологии у всех больных ИЛГ анализировался уровень вЧСРБ и аутоантител к ДНК и кардиолипину в периферической крови. У обследованных больных ИЛГ уровень вЧСРБ не превышал нормальных значений и составлял, в среднем, $0,89 \pm 0,09$ мг/мл у больных ИЛГ и $0,51 \pm 0,13$ мг/мл в группе контроля. Содержание аутоантител (ААТ) класса IgG к нативной и денатурированной ДНК, антител (АТ) классов IgG, IgM и IgA к кардиолипину также находились в пределах нормы (табл. 5).

В результате анализа системы цитокинов при ИЛГ было выявлено, что уровни IL-1 β превышали контрольные значения у 33,3% больных, однако в среднем по группе существенно не отличались от уровней у здоровых лиц ($p > 0,05$) (табл. 6). На фоне терапии iNO уровень IL-1 β достоверно снизился с $2,05 \pm 1,36$ до $1,55 \pm 1,19$ пг/мл. При этом его повышение выше контрольных значений сохранилось только у 4,2% больных.

У больных ИЛГ имелось более чем трехкратное повышение содержания IL-6 до $6,54 \pm 3,86$ пг/мл ($p < 0,001$). Курсовая терапия iNO приводила к значимому снижению уровней IL-6 до $3,05 \pm 1,73$ пг/мл ($p < 0,001$).

Уровни IL-8 и IL-10 в среднем не превышали контрольные значения. Вместе с тем, содержание IL-8 и IL-10 исходно оказалось выше нормы у 31,3% и 25% больных, соответственно. Назначение iNO приводило к снижению IL-8 с 8,44 до 5,63 пг/мл ($p < 0,001$) и IL-10 с 1,57 до 1,20 пг/мл ($p < 0,05$), что сопровождалось нормализацией IL-8 и IL-10 у 25% и 16,7% больных.

Группа ИЛГ характеризовалась более чем 4-кратным превышением контрольных уровней TNF α ($22,01 \pm 3,72$ пг/мл; $p < 0,001$) и почти 10-кратным повышением MIP1 α (до 15,58 пг/мл; $p < 0,01$). iNO к 21 дню терапии приводил к достоверному снижению TNF α до $19,62 \pm 3,92$ пг/мл и некоторым снижением MIP1 α до 11,28 пг/мл. При этом достигнутые уровни TNF α и MIP1 α превышали контрольные ($p < 0,01$).

Содержание интерферона (INF γ) у больных ИЛГ было ниже, чем у здоровых добровольцев ($1,50$ и $4,84 \pm 1,49$ пг/мл, соответственно; $p < 0,01$) и существенно не изменилось к 21-му дню терапии iNO ($p > 0,05$). У больных ИЛГ имелось значительное повышение по сравнению

с контролем уровней sICAM (до $364,11 \pm 76,34$ нг/мл; $p < 0,001$) и sVCAM (до $1043,93 \pm 512,29$ нг/мл; $p < 0,01$). Назначение ингаляционного NO сопровождалось тенденцией к снижению содержания молекул адгезии до $360,80 \pm 56,03$ и $1001,94 \pm 611,16$ нг/мл. Однако уровни sICAM и sVCAM к 21-му дню лечения iNO превышали контрольные ($p < 0,01$).

При сравнительном анализе исходных уровней цитокинов и молекул адгезии у больных ИЛГ с различным ФК достоверных различий между группами выявлено не было. Вместе с тем, у больных с ФК II в отличие от ФК III-IV была выявлена существенная динамика IL-1 β и sVCAM в результате терапии iNO. У больных группы 2 наблюдалось достоверное уменьшение содержания IL-8 и TNF α , а также повышение INF γ ($p < 0,05$). Содержание IL-6 существенно снизилось в обеих группах (-0,53 и -0,43 нг/мл, соответственно).

Обсуждение

В результате исследования удалось продемонстрировать клиническую эффективность и безопасность курсовой терапии iNO у больных ИЛГ. В результате 21-дневного применения iNO в дозе 40 ppm в течение 5 ч в сутки наблюдалось значимое улучшение функционального статуса у больных с ФК II-IV. При этом достоверно улучшался ФК, увеличивалась дистанция в 6MWT, что сопровождалось снижением индекса одышки по Боргу.

Исследования, посвященные изучению эффективности длительной терапии iNO у больных с ИЛГ, немногочисленны. Эти работы описывают отдельные клинические случаи или серии наблюдений. Так, в работе Channick R. и соавт. изучали особенности ингаляционной терапии NO у 8 пациентов с ИЛГ. Только у 2 пациентов из них при применении ингаляций на протяжении 24 ч и 9 мес, соответственно, достигалось улучшение клинического состояния [6].

У больных к 21 дню применения iNO отмечался достоверный прирост дистанции в 6MWT в среднем на 30,5 м. Важно отметить, что позитивная динамика функционального статуса больных не зависела от исходного ФК. В связи с ограниченным числом работ по изучению влияния длительной ингаляции NO на толерантность к физической нагрузке, мы сравнили полученные нами данные с результатами исследования Parsons S. и соавт. [7]. При сравнении дистанции в 6MWT, проходимой больными при дыхании обычным воздухом и NO, авторы не получили статистически значимых различий по 6MWT (543 ± 83 против $540 \pm 79,6$ м; $p > 0,05$). Следует обратить внимание на то, что, в отличие от нашего исследования, в указанной работе оценивалась динамика по 6MWT при краткосрочном применении NO, что объясняет различия в полученных результатах.

Таблица 7. Динамика уровней цитокинов и молекул клеточной адгезии у больных ИЛГ с различным ФК в результате курсовой ингаляционной терапии NO

Показатель	Больные ИЛГ с ФК II		Больные ИЛГ с ФК III-IV	
	исходно	после iNO	исходно	после iNO
IL-1 β , г/мл	3,51 \pm 3,04 2,36 [1,40;4,17]	1,87 \pm 1,26 1,15 [1,0;3,0]*	2,23 \pm 2,34 1,55 [1,0;2,0]	1,38 \pm 1,16 1,05 [0,9;1,41]
IL-6, пг/мл	5,27 \pm 3,27	3,60 \pm 0,74*	4,07 \pm 3,07	2,74 \pm 2,05*
IL-8, пг/мл	9,83 \pm 9,38 6,82 [4,88;6,8,93]	5,38 \pm 3,44 4,86 [3,0;7,0]	19,59 \pm 21,65 10,53 [7,0;20,5]	13,42 \pm 16,36 6,94 [4,6;12,0]*
IL-10, пг/мл	1,61 \pm 1,34 1,05 [0,9;1,9]	1,35 \pm 0,83 1,10 [0,87;2,0]	1,84 \pm 0,92	1,60 \pm 0,91
TNF α , пг/мл	20,75 \pm 22,99 12,77 [6,4;28,3]	17,66 \pm 21,93 8,6 [4,6;22,0]	15,76 \pm 8,78	12,85 \pm 7,04*
INF- γ , пг/мл	3,36 \pm 5,16 1,37 [1,0;2,5]	4,49 \pm 6,82 1,70 [1,20;1,90]	2,19 \pm 1,32	2,88 \pm 1,64*
MIP1 α , пг/мл	15,23 \pm 10,19	16,12 \pm 10,67	28,78 \pm 33,09 21,94 [10,0;25,96]	15,90 \pm 11,43
sICAM, нг/мл	329,55 \pm 60,24	339,23 \pm 51,40	408,54 \pm 75,11	365,67 \pm 62,20
sVCAM, нг/мл	1220,74 \pm 815,79	1150,77 \pm 836,53*	961,42 \pm 292,42	932,49 \pm 289,09

* $p < 0,05$ – по сравнению с исходным значением

К 21-му дню ингаляций NO у больных ИЛГ мы отметили достоверное снижение СДЛА в среднем на 5,3 [-15,0; 0] мм рт.ст. Эти данные согласуются с результатами работы Perez-Penate G. и соавт., которые изучали эффективность и безопасность 12 месячной ингаляции NO у пациентки с ИЛГ [8]. Авторы показали безопасность и эффективность длительной терапии, которая вызвала снижение: среднее ДЛА на 9%, при этом не было отмечено значимых побочных эффектов и проявлений токсичности NO.

В настоящей работе нам удалось продемонстрировать не только клинические эффекты iNO. Процессы воспаления при ИЛГ являются важнейшим компонентом патогенеза заболевания. Воспалительные инфильтраты, включающие T- и B-лимфоциты, а также дендритные клетки, обнаруживаются в плексиформных структурах у пациентов с ИЛГ. В ряде работ у больных ИЛГ были показаны повышенные уровни ряда провоспалительных цитокинов, в частности, IL-1 β и IL-6 в плазме крови [4,9].

При исследовании исходных уровней ряда провоспалительных цитокинов и молекул адгезии мы убедились, что при отсутствии признаков системного воспаления у больных ИЛГ отмечается изменение профиля провоспалительных цитокинов в виде значимого повышения в среднем по группе уровней IL-6, TNF α и MIP α , а также молекул адгезии.

Противовоспалительные свойства оксида азота представляют большой интерес. В экспериментальных условиях была показана способность оксида азота снижать экспрессию целого ряда провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6, INF γ , TNF α и молекул межклеточной адгезии – ICAM-1, VCAM-1, MCP-1, CD11b/CD18 в клетках эндотелия и лейкоцитах [10]. Од-

ним из механизмов противовоспалительной активности NO является его способность влиять на экспрессию ряда генов путем подавления активности нуклеарного фактора NF-kB. Уменьшая провоспалительную активность ЭК и лейкоцитов, NO замедляет процессы хемотаксиса и клеточной адгезии, активирует B-лимфоциты, повышает продукцию иммуноглобулинов, вызывает пролиферацию как B-, так и T-лимфоцитов [4].

В данной работе мы рассмотрели эффекты ингаляционного NO на уровни различных цитокинов и молекул адгезии. У больных ИЛГ исходные уровни IL-1 β превышали контрольные значения у трети больных с ИЛГ. Это совпадает с наблюдениями ряда авторов, которые описывали повышенные концентрации IL-1 β в периферической крови пациентов с ИЛГ [4,9]. При ИЛГ роль IL-1 β связана со снижением экспрессии NO-синтазы и активности цАМФ в ГМК легочных артерий [11]. В монокроталиновой модели ЛАГ у крыс было показано, что применение антагониста рецепторов IL-1 β способствует снижению легочного сосудистого сопротивления и регрессу морфологических проявлений заболевания [4].

На фоне терапии iNO уровень IL-1 β в плазме крови больных ИЛГ достоверно снизился с 2,05 \pm 1,36 до 1,55 \pm 1,19 пг/мл. При этом его повышение выше контрольных значений сохранилось только у 4,2% больных. iNO приводил к значимому снижению уровней IL-6, которые исходно более чем трехкратно превышали контрольные значения у больных ИЛГ. При ИЛГ описана повышенная экспрессия IL-6 в эндотелиальных клетках легочных сосудов. Furuya и соавт. рассматривают повышенную экспрессию IL-6 в качестве важнейшего элемента в каскаде процессов, ответственных за процессы ремоделирования легочного сосудистого русла вследствие индукции пролиферации, снижения апоп-

тоза ГМК, нарушения регуляции факторов роста (VEGF, TGF β R2) [12]. Роль IL-6 в патогенезе ИЛГ подтверждается тем, что в условиях повышенной экспрессии IL-6 наблюдалось значительное повышение ЛСС у мышей [10]. Считается, что именно IL-6 координирует взаимодействие с другими провоспалительными медиаторами, в частности, IL-1 β . В то же время, IL-1 β повышает экспрессию мРНК IL-6 независимо от активации протеинкиназы C [4].

Интересной находкой в нашем исследовании явилось то, что, несмотря на отсутствие значимых различий между уровнями IL-1 β и IL-6 в плазме крови у больных ИЛГ с различной тяжестью функциональных нарушений (ФК I-II и III-IV), удалось выявить слабую положительную корреляционную связь между Δ IL-6 и динамикой ФК в результате курсовой терапии iNO ($r = -0,3855$; $p = 0,043$). В то же время о важном клиническом значении динамики IL-6 на фоне iNO-терапии свидетельствует высокая негативная корреляция между приростом дистанции в 6MWT и Δ IL-6 ($r = -0,769$ $p = 0,003$). Динамика IL-1 β находилась в прямой взаимосвязи с Δ СДЛА ($r = -0,5117$; $p = 0,005$). Вполне вероятно, что такие показатели, как IL-1 β и IL-6 у больных ИЛГ можно рассматривать как маркеры клинической эффективности ингаляционной терапии NO. Уровни IL-8- хемоаттрактанта нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов у больных ИЛГ достоверно не превысили контрольные значения. У больных с ФК III-IV содержание в крови этого медиатора, ответственного за миграцию и адгезию воспалительных клеток, оказалось несколько выше. Именно за счет его динамики в группе 2 наблюдалось достоверное снижение IL-8 к 21 дню терапии iNO. Данные корреляционного анализа отражают основные комплексные эффекты iNO на уровни цитокинов. Так, слабые, но достоверные средние корреляции были обнаружены между динамикой IL-1 β и IL-6, соответственно, и Δ IL-10 ($r = 0,5595$, $p = 0,002$; $r = 0,5621$, $p = 0,002$), а также Δ IL-1 и Δ TNF α ($r = 0,4239$; $p = 0,025$). При этом в среднем по группе уровни как IL-10, так и TNF α у больных ИЛГ при назначении iNO существенно не менялись. Повышение исходного уровня TNF α у больных ИЛГ по сравнению с контролем согласуется с данными экспериментальной работы, в которой повторные инъекции эндотоксина или TNF α приводили к формированию характерных для ИЛГ сосудистых повреждений [14]. В нашей работе повышение TNF α отмечалось у всех больных ИЛГ, и степень его повышения не зависела от исходного ФК у больных ИЛГ.

Также исходно отмечались достоверно более низкие, по сравнению с контролем, уровни INF γ , что совпадает с наблюдениями ряда авторов, хотя роль этого плейотропного цитокина в патогенезе ИЛГ точно не определена. В экспериментальных работах доказано, что в моноцитах INF γ является мощным индуктором iNOS, в то

время как цитокины TNF α и IL-1 β оказывают обратные эффекты. В мезангиальных и ГМК клетках, напротив, INF γ , TNF α и IL-1 β повышают экспрессию этого фермента [15].

В результате терапии iNO в группах больных ИЛГ с различным ФК наблюдался прирост INF γ , достигающий статистической значимости только в группе наиболее тяжелых больных. Слабая позитивная корреляционная связь была выявлена между Δ INF γ и Δ 6MWT ($r = 0,6856$; $p = 0,014$), что позволяет рассматривать динамику INF γ для объективизации результатов лечения. При корреляционном анализе между динамикой INF γ и других провоспалительных цитокинов достоверных взаимосвязей не выявлено.

Кроме того, мы изучили влияние iNO на уровни растворимых молекул межклеточной адгезии. Эндотелиальные молекулы адгезии, рассматриваемые как маркеры активации ЭК, осуществляют адгезию воспалительных клеток к сосудистому эндотелию. При оценке sVCAM-1 и sICAM-1 в сыворотке крови больных ИЛГ до начала терапии iNO было обнаружено значительное превышение контрольных значений независимо от исходного ФК. ICAM-1 является основным лигандом эндотелия, осуществляющим адгезию к его клеткам полиморфноядерных лимфоцитов. Напротив, экспрессия VCAM-1 (CD106) осуществляется первично в ЭК и регулируется различными медиаторами, в частности, цитокинами. Роль VCAM-1 заключается в обеспечении взаимодействия лейкоцитов и ЭК за счет связывания с интегринами. Известно, что экспрессия молекул адгезии определяется влиянием таких провоспалительных цитокинов, как TNF α IL-1 β , повышенные уровни которых мы обнаружили исходно у больных ИЛГ [10]. Экспрессия молекул адгезии зависит от уровня NO в ЭК. Этот эффект опосредуется за счет ингибирования супероксида и последующего влияния на нуклеарный фактор (NF- κ B) [4]. В экспериментальной работе ингибирование eNO-синтазы за счет TNF α или IL-1 β сопровождалось существенным снижением экспрессии гена VCAM-1 [16]. Нам не удалось выявить достоверного снижения sVCAM-1 и sICAM-1 в сыворотке крови больных ИЛГ в результате терапии iNO. Динамика sVCAM-1 в результате терапии iNO находилась в прямой корреляции с Δ СДЛА ($r = 0,5136$; $p = 0,014$). При анализе динамики этих показателей в группах больных с различным ФК существенное снижение уровней sVCAM-1 в группе с ФК II.

Таким образом, до начала терапии iNO у больных ИЛГ независимо от исходного ФК было выявлено повышение содержания ряда цитокинов (ИЛ-6, TNF α , MIP1 α) и молекул адгезии (sVCAM-1, sICAM-1), а также снижение содержания INF γ . Очевидно, что воспалительный компонент при ИЛГ играет важную роль на всех этапах формирования заболевания, от незначительно выраженных клинических проявлений

до формирования признаков декомпенсации заболевания. Ингаляционный оксид азота у всех больных ИЛГ независимо от ФК достоверно снижал содержание IL-6. У больных с ФК II наблюдалось существенное снижение sVCAM-1 и IL-1 β . В группе пациентов ИЛГ с ФК III-IV отмечалось уменьшение содержания IL-8, TNF α и повышение INF γ . Таким образом, в настоящем исследовании удалось оценить, с одной стороны, клиническую эффективность терапии iNO у больных ИЛГ, с другой – установить ее влияние на уровни провоспалительных цитокинов и сделать следующие выводы:

Заключение

В результате 21-дневного применения ингаляционной терапии NO у больных ИЛГ отмечалось повышение толерантности к физической нагрузке: достоверное улучшение ФК, увеличение дистанции в 6МВТ, сопровождавшееся уменьшением выраженности одышки по шкале Борга. Ингаляции NO в течение 21 дня

у больных ИЛГ приводили к достоверному снижению уровня СДЛА по данным ДопплерЭхоКГ. Ингаляционная терапия NO (40 ppm на протяжении 5 ч в день) в течение 21 дня не сопровождалась у пациентов с ИЛГ клинически значимыми нежелательными явлениями. При оценке исходных уровней провоспалительных цитокинов у больных ИЛГ удалось еще раз подтвердить значимость процессов воспаления в патогенезе заболевания. В результате 21-дневной ингаляционной терапии NO у больных ИЛГ отмечалось достоверное снижение уровней провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α . Причем, Δ IL-1 β и Δ sVCAM к 21-му дню терапии, по сравнению с исходным, коррелировала с Δ СДЛА, Δ IL-6 – с Δ ФК и Δ 6МВТ, что позволяет рассматривать указанные показатели в качестве маркеров эффективности терапии iNO.

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература

1. National guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Kardiovaskulyarnaya Terapiya i Profilaktika* 2007;6 (6) Prilozhenie 2: 1–42. Russian (Национальные рекомендации по диагностике и лечению легочной гипертензии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2007;6 (6) Приложение 2: 1–42).
2. Johnson B.D., Beck K.C., Zeballos J., et al. Advances in pulmonary laboratory testing. *Chest* 1999; 116:1377–1387.
3. Xu W., Kaneko F.T., Zheng S., et al. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension. *FASEB J* 2004 18: 1746–1748.
4. Rabinovitch M. Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Clin Invest* 2008; 118(7):2372–2379.
5. Trachsel S., Deby-Dupont G., Maurenbrecher E., et al. Association between inflammatory mediators and response to inhaled nitric oxide in a model of endotoxin-induced lung injury. *Crit Care* 2008; 12(5): R131.
6. Channick R.N., Newhart J.W., Johnson F.W., et al. Pulsed delivery of inhaled nitric oxide to patients with primary pulmonary hypertension: an ambulatory delivery system and initial clinical tests. *Chest* 1996;109: 1545–1549.
7. Parsons S., Celermajer D., Savidis E., et al. The effect of inhaled nitric oxide on 6-minute walk distance in patients with pulmonary hypertension. *Chest* 1998;114(1 Suppl):70S–72S.
8. Perez-Penate G., Julia-Serda G., Pulido-Duque J.M., et al. One-year continuous inhaled nitric oxide for primary pulmonary hypertension. *Chest* 2001;119:970–973.
9. Nakonechnikov S.N., Zыков K.A., Martynyuk T.V. et al. Profile and other inflammatory markers in patients with various forms of pulmonary hypertension. *Sistemnye Gipertenzii* 2010; (3):61–67. Russian (Наконечников С.Н., Зыков К.А., Мартынюк Т.В. и др. Профиль провоспалительных маркеров у пациентов с различными формами легочной гипертензии. *Системные Гипертензии* 2010; (3):61–67).
10. Hassoun P.M., Mouthon L., Barberà J.A. Inflammation, Growth Factors, and Pulmonary Vascular Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:S10–19.
11. Dorfmueller P., Perros F., Balabanian K., Humbert M. Inflammation in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2003;22:358–363.
12. Crosswhite P., Sun Z. Nitric Oxide, Oxidative Stress and Inflammation in Pulmonary Arterial Hypertension. *J Hypertens* 2010; 28(2): 201–212.
13. Dias-Junior C.A., Cau S.B., Tanus-Santos J.E. Role of nitric oxide in the control of the pulmonary circulation: physiological, pathophysiological, and therapeutic implications. *J Bras Pneumol* 2008;34:412–419.
14. Stevens T., Janssen P.L., Tucker A.D. Acute and long-term TNF-alpha administration increases pulmonary vascular reactivity in isolated rat lungs. *J Appl Physiol* 1992; 73:708–712.
15. Beck K.F., Eberhardt W., Frank S., et al. Inducible NO synthase: role in cellular signalling. *J Exper Biology* 1999; 202: 645–653.
16. Takahashi M., Ikeda U., Masuyama J., et al. Nitric oxide attenuates adhesion molecule expression in human endothelial cells. *Cytokine* 1996;8:817–821.

Поступила: 16.08.2012
Принята в печать: 24.08.2012