

ДИНАМІКА АКТИВНОСТІ ОКСИДУ АЗОТУ У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ ПІД ВПЛИВОМ СТАНДАРТНОЇ ХІМІОТЕРАПІЇ

М. М. Кужко¹, Д. О. Бутов², Г. Л. Степаненко², І. М. Кузнєцова³

¹ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України», Київ

²Харківський національний медичний університет

³Обласна туберкульозна лікарня № 1, Харків

Резюме. У сироватці крові хворих на вперше діагностований туберкульоз легень, порівняно з практично здоровими особами, виявлено збільшення рівня попередників та метаболітів оксиду азоту (NO) — індукцибельної синтази NO (iNOS) у нейтрофілах, нітритів та нітратів. Стандартна антимікобактеріальна терапія, в продовж двох місяців, забезпечує зниження метаболітів NO та iNOS у нейтрофілах крові у зв'язку з зменшенням кількісної популяції МБТ у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень.

Ключові слова: туберкульоз легень, оксид азоту, метаболіти оксиду азоту, індукцибельна синтаза оксиду азоту, лікування туберкульозу.

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ОКСИДА АЗОТА У БОЛЬНЫХ С ВПЕРВЫЕ ДИАГНОСТИРОВАННЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ ПОД ВЛИЯНИЕМ СТАНДАРТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

**М. М. Кужко, Д. А. Бутов,
А. Л. Степаненко, И. Н. Кузнєцова**

Резюме. В сыворотке крови больных с впервые диагностированным туберкулезом легких, по сравнению с практически здоровыми лицами, выявлено увеличение уровня предшественников и метаболитов оксида азота (NO) — индуцибельной синтазы NO (iNOS) в нейтрофилах, нитритов и нитратов. Стандартная антимикобактериальная терапия в течение двух месяцев обеспечивает снижение метаболитов NO и iNOS в нейтрофилах крови, в связи с уменьшением количественной популяции МБТ у больных с впервые диагностированным туберкулезом легких.

Ключевые слова: туберкулез легких, оксид азота, метаболиты оксида азота, индуцибельная синтаза оксида азота, лечение туберкулеза.

DYNAMICS ACTIVITY OF NITRIC OXIDE IN PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED PULMONARY TUBERCULOSIS UNDER THE INFLUENCE OF STANDARD CHEMOTHERAPY

**M. M. Kuzhko, D. O. Butov,
G. L. Stepanenko, I. N. Kuznetsova**

Summary. In serum of 150 patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis revealed some increase in precursors and metabolites of nitric oxide (NO) - synthase indutsybelnu NO (iNOS) in neutrophils, nitrites and nitrates, compared with 30 practically healthy donors (donor blood). Standard antimikobakterialna therapy, in Continue two months, provides a reduction of NO metabolites and iNOS in the neutrophils of blood in connection with the quantitative reduction of populations of MBT in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis.

Key words: tuberculosis, nitric oxide, metabolites of nitric oxide, synthase indutsybelna nitric oxide, treatment of tuberculosis.

Адреса для листування:

Бутов Дмитро Олександрович
Харківський національний медичний університет
кафедра фізіатрії та пульмонології
Харків, 61002, пр. Леніна, 4
e-mail: dddimad@yandex.ru

На початку 90-х років ХХ сторіччя епідеміологічна ситуація з туберкульозу в Україні значно погіршилась і наразі в Україні туберкульоз посідає перше місце у структурі смертності людей від інфекційної патології [10 – 12]. В Україні від туберкульозу щорічно помирає більше 10 000 хворих, що складає 80 – 90 % від усіх померлих внаслідок інфекційних та паразитарних хвороб разом узятих [8, 11, 12].

Результати досліджень останніх років свідчать про широкий спектр біорегуляторної дії системи оксиду азоту (NO), що є унікальним медіатором міжклітинної взаємодії [14, 16], приймає участь у підтримці гомеостатичних параметрів організму,

формуванні базального тону судин [1], поліпшенні реологічних властивостей крові шляхом регуляції процесів агрегації формених елементів, стабілізації проникності мембрани судинної стінки, володіє вільнорадикальними властивостями [6]. Оксид азоту є одним із найважливіших медіаторів дихальної системи [9, 17] і активно вивчається в останні роки при захворюваннях легень та туберкульозі [15].

Робіт, присвячених дослідженню рівня продуктів утворення та метаболізму NO у крові хворих туберкульозом легень, одиниці [13]. Є дані, що рівень NO у крові хворих туберкульозом знижується паралельно тяжкості процесу. При пере-

ході вогнищевої форми процесу в інфільтративну зміст NO збільшувався, але у термінальній стадії хвороби спостерігалось пригнічення NO [13]. Протитуберкульозні препарати також можуть знижувати вміст NO у тканинах людини [13].

За даними деяких авторів [2, 13], NO бере участь у регуляції імунної відповіді лімфоцитів людини, стимульованих антигеном мікобактерії туберкульозу (МБТ) (туберкуліновим очищеним білковим дериватом). У фізіологічних концентраціях NO відіграє роль «позитивного» регулятора, оскільки посилення його продукції при активації туберкуліном супроводжується запуском ефективної проліферативної відповіді. Крім того, при туберкульозі легень закономірно знижується генерація NO, завдяки дії інфекційного збудника [7].

Таким чином, NO має багато функцій при туберкульозному запаленні. Але однозначної відповіді, щодо динаміки концентрації NO у крові хворих на вперше діагностований туберкульоз легень під впливом протитуберкульозної терапії не має, що послугувало метою нашого дослідження, а саме вивчити динаміку стану оксиду азоту у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень під впливом стандартної хіміотерапії.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під нашим спостереженням було 180 людей з них: 30 практично здорових осіб (донорів) і 150 хворих на вперше діагностований туберкульоз легень у віці від 20 до 70 років. Хворі на вперше діагностований туберкульоз легень знаходилися на обстеженні та лікуванні у Обласному протитуберкульозному диспансері № 1 м. Харків, Обласній туберкульозній лікарні № 1 м. Харків, Обласному протитуберкульозному диспансері № 3 м. Зміїв та Обласному протитуберкульозному диспансері № 4 м. Ізюм. У всіх хворих спостерігався інфільтративний туберкульоз легень. Згідно протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз (наказ МОЗ України № 318 від 24.05.2006 р., наказ МОЗ України № 384 від 9.06.2006 р., наказ МОЗ України № 385 від 9.06.2006 р. та наказ МОЗ України № 422/40 від 27.06.2006 р.), стандартна хіміотерапія проводилась на інтенсивному етапі лікування 4 – 5 основними протитуберкульозними препаратами (ізоніазид (у дозі 0,3 г/доба), рифампіцин (у дозі 0,6 г/доба), піразинамід (у дозі 2,0 г/доба), етамбутол (у дозі 1,2 г/доба) та/або стрептоміцин (у дозі 1,0 г/доба)) з подальшим зменшенням інтенсивності лікування.

З огляду на те, що NO є нестабільною молекулою з терміном напіврозпаду менше 5 сек, вивчення здатності його продукувати та забезпечувати фізіологічні ефекти NO на організм людини, проводилось за вмістом у сироватці його стабільних метаболітів та індукцельної синтази NO (iNOS). Рівень активності iNOS у нейтрофілах крові визначався за вмістом продукту ферментативної реакції NO-синтази, який вимірювався за оптичною

щільністю забарвленого комплексу з сульфонамідом та N-1-нафтилетилен-діамінхлоридом у кислому середовищі [5]. Рівень метаболітів NO (нітритів, нітратів) у сироватці крові, згідно з літературними даними [4], визначали спектрофотометричним методом за допомогою реакції Грисса. Рівень активності iNOS у нейтрофілах крові метаболітів NO у сироватці крові визначався у перші дні при госпіталізації до стаціонару та після 2 міс стандартної антимікобактеріальної терапії. У зв'язку з тим, що самі по собі метаболіти NO можуть змінитись під впливом екзогенних факторів, таких як харчування, то дослідження за цим методом проводилось зранку (о 8 – 9 годині) натще. Оскільки період розпаду метаболітів NO складає 6 год [4], ми отримуємо незалежний від харчування достовірний результат продуктів метаболізму NO.

Результати досліджень хворих обробили з використанням t-критерію Стьюдента [3]. Оцінювали отримані дані з визначенням середнього значення (M) та його стандартного відхилення (m). Різниця вважалась достовірною при значенні t-критерію, яке відповідало 95 % або ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно отриманих даних, на початку лікування у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень вміст продуктів метаболізму NO (нітрити та нітрати) та iNOS у периферійній крові був достовірно вдвічі більший, ніж у практично здорових донорів (таблиця). Це свідчить про інтенсивне утворення NO на догоспітальному етапі туберкульозного процесу та про активну участь NO у протитуберкульозному процесі, а саме у зниженні МБТ.

Після проведеної двохмісячної терапії у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень спостерігається достовірне відновлення (зниження), майже у два рази, кількості продуктів утворення та метаболізму NO у порівнянні з початковим станом з відсутністю достовірної різниці у порівнянні з такою практично здорових донорів (таблиця).

ВИСНОВКИ

У хворих на вперше діагностований туберкульоз легень спостерігається достовірне підвищення продукції NO та активності iNOS у нейтрофілах крові, що приводить до накопичення у крові нітритів та нітратів. З урахуванням даних літератури про пряму та опосередковану бактерицидну дію NO на МБТ та про провідну дію фагоцитарної активності проти МБТ можливо вважати, що гіпергенерація NO у фагоцитуючих клітинах (нейтрофілах) у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень відноситься до системи початкових захисних реакцій. Крім того, концентрація NO, може, залежати від абсолютної кількості МБТ у організмі, що може слугувати діагностичним критерієм оцінки кількісного інфекційного навантаження на організм хворого.

Стан показників індукбельної синтази та метаболітів оксиду азоту у хворих на туберкульоз легень та практично здорових донорів (M ± m)

Група хворих	n	Індуцибельна синтаза оксиду азоту, пмоль\хв\мгБ		Нітриди, мкмоль/л		Нітрати, мкмоль/л	
		до лікування	після 2 міс лікування	до лікування	після 2 міс лікування	до лікування	після 2 міс лікування
основна	150	272,1 ± 5,92*	86,58 ± 1,27**	6,23 ± 0,1*	3,98 ± 0,06**	64,5 ± 1,04*	39,89 ± 0,72**
контрольна	30	81,03 ± 2,36		3,83 ± 0,09		37,98 ± 1,3	

Примітка.

* — розбіжність показника достовірна (p < 0,05) у порівнянні з таким контрольною групою,

** — розбіжність показника достовірна (p < 0,05) у порівнянні з таким до лікування.

Стандартна антимикобактеріальна терапія, в продовж двох місяців, забезпечує достовірне зниження рівня метаболітів NO та iNOS у нейтрофілах крові у зв'язку з зменшенням кількісної популяції МБТ у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень.

ЛІТЕРАТУРА

- Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестн. Росс. АМН. — 2000. — №4. С.3-5.
- Дитетков А.Е., Антонова О.Ю., Шевелев В.И. и др. Особенности иммунитета у больных хроническим бронхитом с большими остаточными изменениями после перенесенного туберкулеза легких // Пробл. туберкул. и бол. легких. — 2008. — №3. С. 14-17.
- Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
- Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови // Клиническая лабораторная диагностика. — 2005. — №6. — С. 15-18.
- Методи визначення порушень системи L-аргінін—оксид нітрогену у терапії хронічних хвороб нирок : метод. вказівки МОЗ України / І. І. Топчій, І. К. Кондаков, Т.В. Горбач, О. М. Кириєнко. — К., 2008. — 23 с.
- Невзорова В.А., Просекова Е.В., Гельцер Б.И. и др. Динамика биохимических маркеров воспаления в оценке эффективности базисной фармакотерапии при бронхиальной астме // Тер. Архив. — 2001. — №3. — С.24-27.
- Потапов И. В. Исследование нитроксидагических нарушений и их фармакологическая коррекция в клетках мононуклеаро—фагоцитирующей системы при туберкулезе легких: автореф. дис. ... канд. мед наук: 14.00.25, 14.00.26 / Потапов Игорь Владимирович; Челябинская государственная медицинская академия. — Челябинск, 2002. — 22с.
- Процюк Р. Г., Москаленко В. Ф., Петренко В. І. та ін. Туберкульоз, ВІЛ-інфекція/СНІД: навч. посіб. — К.: Медицина, 2009. — 424с.
- Ремихова М. И. Роль оксида азота в регуляции легочных функций // Вест. Службы крови России. — 2000. — №2. — С. 53-57.
- Фещенко Ю. І. Стан надання фізіотричної допомоги населенню України // Укр. пульмонол. журн. — 2008. — 3. — С. 7-9.
- Фещенко Ю. І., Мельник В. М., Матусевич В. Г., Ареф'єва Л. В. 24 березня 2008р. — всесвітній день боротьби із захворюванням на туберкульоз // Укр. пульмонол. журн. — 2008. — №1. — С. 7-8.
- Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Матусевич В.Г. та ін. Стан та інфраструктура протитуберкульозної служби України в період епідемії туберкульозу // Укр. пульмонол. журн. — 2009. — №1. — С. 5-7.
- Чернеховская И. Е., Свистунов Б. Д., Поваляев А. В. и др. Применение оксида азота в комплексном лечении больных туберкулезом легких // Пробл. туберкул. и бол. легких. — 2009. — №6. — С. 50-52.
- Anngard E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine // Lancet. — 1994. Vol. 343. — P. 1199-1206.
- Lazarus S. C. Just say NO: nitric oxide and its role in allergic disease // Astma Immunol.: 56th Ann. Meeting. — 2000. — P.1058.
- Lowenstein C.J., Dinerman J. L., Snyder S. H. Nitric oxide in physiologic messengers // Ann. Int. Med. — 1994. — Vol. 120. — P. 227-237.
- Lundberg J. O., Weitzberg E., Lundberg J. M., Alving K. Nitric oxide in exhaled air // Eur. Respir. J. — 1996. — Vol. 1. — P.2671-2680.