

## И. А. Сиренко, С. А. Шматько ОСОБЕННОСТИ L-АРГИНИНЗАВИСИМОГО СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ, БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

*Харьковская медицинская академия последипломного образования*

Развитие туберкулёза лёгких, особенности его течения и исходов тесно связаны с неспецифической реактивностью организма, которая зависит от большого числа гуморальных и клеточных систем. При значительной силе патологического воздействия на организм наступает истощение механизмов саморегуляции и возникает метаболический дисбаланс, приобретающий собственное патогенетическое значение в прогрессировании заболевания.

При туберкулёзе лёгких происходит значительное нарушение тканевого обмена с развитием дистрофических изменений в тканях. Важную роль в генезе дистрофии играет нарушение ферментативных процессов, белкового обмена и изменение физико-химических свойств белкового и липидного компонентов в клетках и биохимических жидкостях организма. Аминокислоты, как структурные элементы белка, непосредственно участвуют в его обмене, принимают участие в процессах детоксикации, воздействуя на многие био- и цитохимические процессы в организме [3, 6].

У больных туберкулёзом лёгких обнаружено снижение общего уровня свободных аминокислот в сыворотке крови. Аминокислотный спектр больше изменяется у больных с тяжёлым течением заболевания [6].

Открытие свойств оксида азота (NO) как полифункционального физиологического регулятора является одним из выдающихся достижений биохимии последнего десятилетия [7]. NO представляет собой уникальный по своей природе и механизму действия вторичный мессенджер в большинстве клеток организма. Это липофильное соединение, являясь высокореактивным радикалом, свободно проникает через биологические мембраны, принимает участие в реализации большого количества физиологических процессов: вазодилатации, реакциях иммунной системы и др; а также в возникновении многих патологических состояний [1, 2].

В организме человека синтез NO клетками осуществляется из аминокислоты L-аргинина. На следующей стадии реакции стехиометрически образуется L-цитруллин и NO в свободно радикальной форме. Ферментом, катализирующим эти реакции является NO-синтаза [1, 7].

Катаболизм NO осуществляется путём образования нитритов и нитратов. NO может вступать в реакцию с гемовой группой гемоглобина и другими гемосодержащими белками и ферментами, образуя при этом метгемоглобин, который может рассматриваться как транспортная форма оксида азота [1].

NO при патологических процессах наряду с регуляторным может оказывать и протекторное действие. В то же время, NO может оказывать цитотоксический эффект. Установлено, что цитотоксичность NO является результатом инициации апоптоза [4]. Двойственность действия NO проявляется в его способности защищать клетку от апоптозных сигналов и вызывать апоптоз. Способность молекулы NO оказывать цитостатический или

цитотоксический эффект зависит от типа клеток, фазы её развития, биохимического потенциала, локальной концентрации NO и других активных форм кислорода [4, 5].

В литературе исследования по изучению белкового обмена и сдвигов в аминокислотном спектре сыворотки крови при туберкулёзе лёгких малочисленны и неоднородны. По данным литературы [5], NO играет существенную роль в инвазии, репликации и поддержании латентного состояния внутриклеточных инфекций, в том числе и микобактерий туберкулёза. Он может действовать как агент, который, с одной стороны, вызывает гибель патогенов и индуцирует процессы апоптотической гибели клеток-хозяев, а с другой, участвует в подавлении иммунных реакций, хотя баланс между этими двумя явлениями не вполне понятен. Высокий уровень экспрессии NO-синтазы был зарегистрирован в бронхоальвеолярных макрофагах больных туберкулёзом. Он коррелировал с активностью заболевания и эффективностью терапии [5]. Работ, посвященных исследованию содержания оксида азота в сыворотке крови больных туберкулёзом детей, мы не нашли.

Учитывая изложенное, целью работы явилось изучение состояния процессов L-аргинин-зависимого синтеза NO у детей и подростков с локальными формами туберкулёза органов дыхания.

Исследование проводилось в детском туберкулёзном отделении № 1 ТМО "Фтизиатрия" г. Харькова в 2001–2002 гг. Проведено комплексное клинико-рентгенологическое и биохимическое обследование 74 детей и подростков, больных локальными формами туберкулёза органов дыхания (основная группа), на основании чего был поставлен диагноз: 25 детям и подросткам (33,8 %) — инфильтративный туберкулёз лёгких, 19 (25,7 %) — первичный туберкулёзный комплекс, 12 (16,2 %) — туберкулёз внутригрудных лимфатических узлов, 9 (12,2 %) — туберкулёзный плеврит, 6 (8,1 %) — очаговый туберкулёз лёгких, 2 (2,7 %) — диссеминированный туберкулёз лёгких, 1 (1,3 %) — казеозная пневмония. У всех детей и подростков процесс был в фазе инфильтрации. Контрольную группу составили 37 не инфицированных туберкулёзом детей.

В основной группе мальчиков было 45,9 %, девочек — 54,1 %. Детей в возрасте 1–2 лет — 12,2 %, 3–6 лет — 13,5 %, 7–10 лет — 12,2 %, 11–14 лет — 23 %, 15–17 лет — 39,1 %.

Туберкулёзный контакт был выявлен почти у половины больных туберкулёзом детей и подростков — 41,9 %. Наиболее часто источником туберкулёзной инфекции являлся отец (41,9 %), у каждого четвёртого ребёнка (25,8 %) — мать, у 35,5 % детей источником инфекции были другие родственники и у 3,2 % — соседи по квартире. 12,9 % детей контактировали с несколькими больными туберкулёзом родственниками. В очагах смерти проживали 6 детей (8,1 %). У большинства заболевших туберкулёзом детей и подростков из туберкулёзного контакта (80,6 %) отмечался постоянный контакт, у 19,4 % — периодический. Абсолютное большинство детей (90,3 %) контактировали с бактериовыделителями.

Вакциной БЦЖ были привиты 94,6 % детей основной и контрольной групп. В основной группе, более чем у половины детей (52,7 %), наблюдалась некачественная иммунизация против туберкулёза — у 24,3 % отсутствовали знаки БЦЖ, у 28,4 % — выявлены знаки малой величины (1–4 мм). В контрольной группе качественно привитых было больше — 81,1 %, знаки малой величины имели 10,8 %, у 8,1 % детей знаки БЦЖ отсутствовали.

Чувствительность к туберкулину, определяемая по пробе Манту с 2ТЕ, у детей и подростков основной группы распределялась следующим образом: от 5 до 10 мм — 21,6 %, от 11 до 14 мм — 28,4 %, 15–16 мм — 24,3 %, гиперергические реакции — 25,7 %.

36,5 % всех заболевших туберкулёзом были выявлены в периоде выража туберкулиновых реакций, 63,5 % детей и подростков были инфицированы туберкулёзом в течение нескольких лет, причём у 46,8 % давно инфицированных детей и подростков перед заболеванием отмечалось нарастание чувствительности к туберкулину.

Социальные факторы риска были выявлены у 48,6 % больных туберкулёзом детей и подростков.

Заболевание туберкулёзом при обращении было выявлено у 40,5 % лиц основной группы, при обследовании по поводу туберкулёзного контакта — 23,0 %, по туберкулинодиагностике — 27,0 %, при профилактическом осмотре — 9,5 %.

Анализ содержания NO связан с многочисленными трудностями методического характера, так как NO — это кратковременно существующая и очень реакционноспособная молекула. Её непосредственная количественная регистрация является более сложной задачей, чем опосредованная оценка состояния системы. В настоящее время одним из наиболее точных следует считать метод определения меченного L-цитруллина, который образуется из L-аргинина [2].

Наиболее традиционным материалом для исследования больных в клинике является сыворотка крови, которая отражает характер метаболических сдвигов в организме. Нами изучено содержание в сыворотке больных туберкулёзом (основная группа) и не инфицированных (контрольная группа) детей и подростков L-аргинина и L-цитруллина с помощью автоматического анализатора аминокислот ААА-339.

Нестабильная молекула оксида азота легко превращается в нитриты, количество которых пропорционально содержанию NO. Для оценки накопления оксида азота в сыворотке крови определялось содержание нитритов с помощью цветовой реакции с реактивом Грисса спектрофотометрически при длине волны 560 нм. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-46.

Исследования проводились в период выявления заболевания, до начала лечения.

Проведенные исследования позволили установить снижение уровня аргинина в сыворотке крови больных туберкулёзом детей и подростков по сравнению с неинфицированными детьми ( $7,17 \pm 0,49$  мкмоль/л и  $9,69 \pm 1,2$  мкмоль/л, соответственно,  $p = 0,05$ ).

Уровень цитруллина в сыворотке крови больных туберкулёзом детей и подростков был достоверно выше по сравнению с неинфицированными ( $10,06 \pm 1,30$  мкмоль/л и  $6,97 \pm 0,68$  мкмоль/л, соответственно,  $p < 0,05$ ).

Можно предположить, что повышение уровня L-цитруллина и снижение L-аргинина в сыворотке крови больных туберкулёзом лёгких свидетельствует об активации преобразования аргинина в цитруллин, то есть о повышении активности NO-синтазы под влиянием туберкулёзной инфекции.

Было установлено увеличение содержания нитритов в сыворотке крови больных туберкулёзом детей и подростков по сравнению с не инфицированными ( $6,71 \pm 0,59$  нмоль/л и  $3,68 \pm 0,45$  нмоль/л, соответственно,  $p < 0,05$ ), что может косвенно свидетельствовать об увеличении в сыворотке крови больных туберкулёзом оксида азота.

Следует отметить, что изменения в содержании в сыворотке крови участников реакций, связанных с образованием оксида азота (L-аргинина, L-цитруллина и нитритов) коррелировало с распространённостью туберкулёзного процесса в лёгочной ткани.

Так, при распространённых поражениях лёгочной ткани (более 2 сегментов) средний уровень L-аргинина в сыворотке крови составил ( $6,90 \pm 0,26$ ) нмоль/л, а при ограниченных поражениях — ( $7,67 \pm 0,50$ ) нмоль/л, но данные различия не являются достоверными.

Содержание цитруллина в сыворотке крови больных с распространёнными лёгочными процессами было выше, чем у больных с ограниченными процессами ( $9,38 \pm 0,39$  нмоль/л и  $8,52 \pm 0,34$  нмоль/л, соответственно), однако данные различия также не являлись достоверными.

При анализе уровня нитритов в сыворотке крови, содержание которых косвенно свидетельствует о количестве оксида азота, установлено, что у детей с распространёнными лёгочными поражениями их уровень был достоверно выше по сравнению с ограниченными поражениями ( $7,72 \pm 0,34$  нмоль/л и  $6,25 \pm 0,37$  нмоль/л, соответственно,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, у больных туберкулёзом лёгких детей и подростков отмечается снижение содержания L-аргинина и повышение уровня L-цитруллина в сыворотке крови на фоне накопления оксида азота, который в данном случае может выполнять роль метаболического регулятора.

Анализ такой динамики свидетельствует об активации свободнорадикальных процессов под влиянием цитотоксических клеток в условиях туберкулёзной инфекции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гуревич К. Г., Шимановский Н. Л. Оксид азота: биосинтез, механизмы действия, функции // Вопросы биологической и фармацевтической химии. — 2000. — № 4 — С. 16–21.
2. Жуков В. I., Мясоедов В. В. NO-залежні механізми токсичності синтетичних детергентів // Вісник проблем біології і медицини. — 2002. — Вип. 9–10. — С. 12–19.
3. Западнюк В. И., Купраш Л. П., Заика М. У., Безверхая И. С. Аминокислоты в медицине. — Киев: Здоров'я, 1982. — 200 с.
4. Невзорова В. А., Зуга М. В., Гельцер Б. И. Роль окиси азота в регуляции лёгочных функций // Терапевт.архив. — 1997. — Т. 69, № 3. — С. 68–73.
5. Оксид азота в механизмах патогенеза внутриклеточных инфекций / С. Я. Проскураков, С. И. Бикетов, А. И. Иванников, В. Г. Скворцов // Иммунология. — 2000. — № 4. — С. 49–55.
6. Хорошило И. Я. Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови больных туберкулёзом лёгких // Сов. мед. — 1972. — № 4. — С. 13–16.
7. Culotta E, Koshland D. E. NO news is good news // Science. — 1992. — Vol. 258. — P. 1862–1865.

**ОСОБЕННОСТИ L-АРГИНИН-ЗАВИСИМОГО  
СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА У ДЕТЕЙ И  
ПОДРОСТКОВ, БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ  
ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ*****И. А. Сиренко, С. А. Шматко****Резюме*

В результате проведенного биохимического исследования содержания в сыворотке крови 74 больных туберкулёзом детей и подростков L-цитруллина, L-аргинина и нитритов, количество которых пропорционально содержанию оксида азота, установлено, что у детей и подростков, больных туберкулёзом, по сравнению с неинфицированными отмечается снижение уровня L-аргинина, повышение уровня L-цитруллина и нитритов, причём перечисленные изменения коррелируют с распространённостью лёгочного процесса. Анализ такой динамики свидетельствует об активации свободнорадикальных процессов под влиянием цитотоксических клеток в условиях туберкулёзной инфекции.

**PECULIARITIES OF L-ARGININE-  
DEPENDENT SYNTHESIS OF NITRIC  
OXIDE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS  
WITH TUBERCULOSIS OF RESPIRATORY  
ORGANS*****I. A. Sirenko, S. A. Schmatko****Summary*

We conducted a biochemical study in order to evaluate the levels of L-citrulline, L-arginine and nitrites, which concentrations was proportional to serum nitric oxide content. It was demonstrated in 74 children and adolescents with tuberculosis in comparison with non-infected subjects, that the level of L-arginine was decreased, whereas the levels of L-citrulline and nitrites were increased. All these changes correlated with the extent of pulmonary process. The analysis of such the dynamics testifies to an activation of free radical processes under the influence of cytotoxic cells under conditions of tuberculosis infection.