

# ВПЛИВ ДОНАТОРІВ ОКСИДУ АЗОТУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ СИНТЕЗУ NO У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ВІЯВЛЕНИЙ ДЕСТРУКТИВНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ ПІД ЧАС ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ

**О.С. Денисов.**

*Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України*

*Кафедра фтизіатрії та пульмонології, Київ*

**Резюме.** Проведено дослідження вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту (нітритів) в плазмі крові двох груп пацієнтів (20 та 18 чоловік) з вперше діагностованим туберкульозом легень під час проведення інтенсивної фази лікування. У всіх хворих діагностували інфільтративну форму туберкульозу з деструкцією та бактеріовиділенням. Хворі обох груп отримували стандартний режим хіміотерапії згідно протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз. Хворим 1-ї групи в якості донатору оксиду азоту призначали аргініну гідрохлорид, р-р для інфузій (препарат Тивортін), хворим 2-ї групи у якості гепатопротектора було призначено сілімарин (препарат Карсил). У хворих обох груп до початку лікування виявили достовірно знижений рівень метаболітів NO в плазмі крові порівняно з контрольною групою. Через 2 тижні терапії у хворих 1-ї групи, у яких в схему лікування включили Тивортін, підвищення інтенсивності синтезу NO виявилось набагато суттєвішим, ніж у пацієнтів 2-ї групи. Вірогідно, зниження інтенсивності синтезу NO у вказаних пацієнтів обумовлено виснаженням субстрату для утворення оксиду азоту (L-аргініну). Для визначення доцільності використання донаторів оксиду азоту при лікуванні пацієнтів з вперше діагностованим деструктивним туберкульозом легень необхідно проведення аналізу клінічних результатів лікування по завершенню інтенсивної фази хіміотерапії, а також вивчення впливу донаторів оксиду азоту на імунологічні характеристики фагоцитуючих клітин.

**Ключові слова:** туберкульоз легень, оксид азоту, аргініну гідрохлорид, Тивортін.

## ВЛИЯНИЕ ДОНАТОРОВ ОКСИДА АЗОТА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ СИНТЕЗА NO У БОЛЬНЫХ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМ ДЕСТРУКТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ ВО ВРЕМЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИНТЕНСИВНОЙ ФАЗЫ ХИМИОТЕРАПИИ

**А.С. Денисов.**

**Резюме.** Проведено исследование содержания стабильных метаболитов оксида азота (нитритов) в плазме крови двух групп пациентов (20 и 18 человек) с впервые диагностированным туберкулезом легких во время проведения интенсивной фазы лечения. У всех больных диагностировали инфильтративную форму туберкулеза с деструкцией и бактериовыделением. Больные обеих групп получали стандартный режим химиотерапии согласно протокола предоставления медицинской помощи больным туберкулезом. Больным 1-й группы в качестве донатора оксида азота назначали аргинина гидрохлорид, р-р для инфузий (препарат Тивортин), больным 2-й группы в качестве гепатопротектора был назначен силимарин (препарат Карсил). У больных обеих групп до начала лечения выявили достоверно сниженный уровень метаболитов NO в плазме крови в сравнении с контрольной группой. Через 2 недели терапии у больных 1-й группы, у которых в схему лечения был включен Тивортин, повышение интенсивности синтеза NO оказалось намного существеннее, чем у пациентов 2-й группы. Вероятно, снижение интенсивности синтеза NO у указанных пациентов обусловлено истощением субстрата для образования оксида азота (L-аргинина). Для определения целесообразности использования донаторов оксида азота при лечении пациентов с впервые диагностированным деструктивным туберкулезом легких необходимо проведение анализа клинических результатов лечения по завершению интенсивной фазы химиотерапии, а также изучение влияния донаторов оксида азота на иммунологические характеристики фагоцитирующих клеток.

**Ключевые слова:** туберкулез легких, оксид азота, аргинина гидрохлорид, Тивортин.

## INFLUENCING OF DONORS OF NITRIC OXIDE ON INTENSITY OF SYNTHESIS OF NO IN PATIENTS WITH THE FIRST DIAGNOSED DESTRUCTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS DURING REALIZATION OF AN INTENSIVE PHASE OF A CHEMOTHERAPY

**O.S. Denisov**

**Resume.** Research of maintenance stable metabolites of nitric oxide (nitrites) in blood plasma of two groups of patients (18 and 20 persons) with the first diagnosed lung tuberculosis during the intensive phase of treatment is conducted. All of the probed patients had an infiltrative form of tuberculosis with destruction and bacterioexcre-

tion. The patients of all groups got the standard modes of chemotherapy in obedience to protocol of grant of medicare to patients with tuberculosis. To the patients of I group as a donor of nitric oxide arginine hydrochloride, solution for infusion (preparation Tivortin) was appointed. To the patients of II group silimarine (preparation Karsil) was appointed. In both groups of patients before start of the treatment there was a considerably decreased level of metabolites of NO in a blood plasma by comparison to a control group. In 2 weeks of therapy in the I group of patients at which in the chart of treatment was included Tivortin, the increase of intensity of synthesis of NO appeared far more substantial, than in the II group of patients. It is set that the decline of intensity of synthesis of NO for the indicated patients is conditioned exhaustion of substrate for formation of nitric oxide (L-arginine). For determination of expedience of the use of donors of nitric oxide in the treatment of patients with the first diagnosed destructive lung tuberculosis the leadthrough of analysis of clinical results of treatment on completion of intensive phase of chemotherapy, and also study of influence of donors of nitric oxide on immunological descriptions of fagocyte cells is needed.

**Key words:** lung tuberculosis, nitric oxide, arginine hydrochloride, Tivortin.

**Адреса для листування:** Денисов Олексій Сергійович  
тел.: 050-449-93-87  
E-mail: aldenisov@bk.ru

## ВСТУП

Світове наукове медичне співтовариство вже досить давно актуалізує питання застосування антибактеріальних препаратів. Головною на сьогоднішній день є думка про те, що найефективнішою боротьба з інфекційною патологією стане не тоді, коли будуть синтезовані найбільш ефективні антибактеріальні засоби, а тоді, коли ми навчимося керувати імунними механізмами захисту людського організму. Перебіг туберкульозної інфекції багато в чому визначається станом імунної системи пацієнта. За даними останніх досліджень близько 90% бактерицидного потенціалу фагоцитуючих клітин обумовлено синтезом ними активних кисневих метаболітів, а саме оксиду азоту (NO) та кисневого радикалу ( $O_2^-$ ). Причому активні форми азоту більш ефективно пригнічують мікобактерії туберкульозу (МБТ) [1, 2, 4]. Бактерицидний ефект NO не відрізняється по відношенню до чутливих і стійких до хіміопрепаратів МБТ [4, 11]. Субстратом для синтезу NO в організмі є L-аргінін, з якого під впливом ферментів NO-синтаз відбувається утворення необхідної кількості цієї речовини. Постійний синтез незначної кількості NO для підтримання фізіологічних функцій відбувається під впливом конституціональних NO-синтаз [5, 6]. Для синтезу NO в токсичних для патогенних мікроорганізмів концентраціях необхідна активація індукцибельної NO-синтази. Індукцибельна NO-синтаза експресується під впливом бактеріальних токсинів, медіаторів запалення, ендотоксинів та екзогенних прооксидантів [5, 7, 12]. При тривалому перебігу інфекційного процесу і постійній стимуляції синтезу NO індукцибельною NO-синтазою відбувається поступове виснаження субстрату (L-аргінину) для утворення необхідних рівнів оксиду азоту. Внаслідок цього знижується інтенсивність утворення NO і, відповідно, знижується бактерицидний потенціал фагоцитуючих клітин [3, 4, 9, 10].

Встановлені методи корекції дефіциту NO, які полягають в застосуванні стимуляторів його утворення: вазодилаторів типу нітрогліцерину, фізичних факторів (магнітні поля, тепло, холод) [4]. Але застосування цих методів корекції в умовах

дефіциту субстрату недоцільне, а також може супроводжуватися виникненням побічних ефектів та загостренням туберкульозного процесу. Саме тому завданням даного дослідження стало визначення можливості використання з метою корекції дефіциту NO у пацієнтів з вперше виявленим туберкульозом легень препарату, який містить в собі безпосередній субстрат для синтезу оксиду азоту — аргініну гідрохлорид (Тівортін, р-н для інфузій, «ЮРІЯ-ФАРМ», Україна). Також Тівортін має антитоксичну та гепатопротекторну дію, що обумовлює додаткові покази для його використання у хворих на туберкульоз під час проведення інтенсивної фази хіміотерапії, а також відсутність необхідності в додатковому призначенні гепатопротекторів.

## ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нами досліджувався вміст метаболітів оксиду азоту (нітритів) в плазмі крові двох груп пацієнтів з вперше діагностованим туберкульозом легень в динаміці проведення інтенсивної фази лікування: 1-ша група — основна — 20 пацієнтів, 2-га група — порівняння — 18 пацієнтів, віком від 23 до 45 років. У всіх досліджуваних хворих діагностували інфільтративну форму туберкульозу легень з деструкцією, бактеріовиділенням та проявами інтоксикаційного синдрому від слабкого до помірного. Згідно протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз (Наказ МОЗ України № 384 та Наказ МОЗ України № 385 від 9.06.06) хворі обох груп отримували стандартний 5-компонентний режим хіміотерапії: ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол та стрептоміцин. Хворим 1-ї групи до стандартного 5-компонентного режиму хіміотерапії в якості донатора оксиду азоту та гепатопротектора призначили препарат аргініну гідрохлорид (Тівортін, р-н для інфузій) у дозі 4,2 г/100 мл внутрішньовенно крапельно 1 раз на добу впродовж 7 днів. В якості гепатопротектора у хворих 2-ї групи використовували препарат силімарин (Карсил, «Sopharma», Болгарія) у дозі 35 мг 3 рази на добу впродовж 14 днів.

В якості фактора оцінки інтенсивності утворення ендogenous оксиду азоту (NO) визначали

рівень нітритів, оскільки саме вони є одними з кінцевих стійких метаболітів оксиду азоту, в той час як молекула NO в біологічних рідинах інактивується через декілька секунд під впливом кисневих радикалів. Концентрацію метаболітів оксиду азоту в плазмі крові визначали спектрофотометричним методом за допомогою реакції GRIESS [8]. Отримані результати виражали в мікромолях на 1 літр та порівнювали з аналогічним показником контрольної групи — 15 здорових інфікованих осіб (співробітники відділення).

Рівень метаболітів NO в плазмі крові хворих обох груп визначали до та через 2 тижні від початку застосування аргініна гідрохлориду та силімарину.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати змін концентрації нітритів (NO<sub>2</sub>) в плазмі крові хворих досліджуваних груп після двох тижнів інтенсивної хіміотерапії на фоні використання Тівортину представлені в таблиці.

У хворих обох груп при надходженні в стаціонар спостерігали достовірно ( $p < 0,05$ ) знижений рівень метаболітів NO в плазмі крові ( $2,26 \pm 0,83$  мкмоль/л — в 1-й групі та  $2,42 \pm 0,72$  мкмоль/л — в 2-й) порівняно з контрольною групою ( $4,52 \pm 0,24$  мкмоль/л). Після 2 тижнів лікування у хворих 1-ї групи визначили виражену тенденцію до збільшення інтенсивності синтезу NO — приріст концентрації метаболітів більше 20% та без достовірної різниці з таким контрольною групи. Це свідчить про позитивний вплив патогенетичної терапії донатором оксиду азоту. У хворих 2-ї групи, в схему лікування яких не включили аргініна гідрохлорид, суттєвого збільшення рівня метаболітів оксиду азоту в плазмі крові не виявили.

Наведені дані свідчать про те, що у пацієнтів з вперше діагностованим деструктивним туберкульозом легень відбувається виснаження субстрату для синтезу NO (L-аргінін). Це пов'язано з наявністю специфічного захворювання і гіперстимуляцією індукційної NO-синтази. Збільшення інтенсивності продукування оксиду азоту при застосуванні аргініна гідрохлориду пояснюється примусовою корекцією дефіциту кількості субстрату, необхідного для достатнього синтезу NO.

### Перспективи подальшого дослідження

Для встановлення доцільності використання донаторів оксиду азоту в лікуванні пацієнтів з вперше діагностованим деструктивним туберку-

льозом легень необхідне проведення аналізу клінічних результатів лікування по завершенню інтенсивної фази хіміотерапії з визначенням строків абацилювання та закриття порожнин розпаду, а також вивчення впливу донаторів оксиду азоту на імунологічні характеристики фагоцитуючих клітин.

### ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів з вперше виявленим деструктивним туберкульозом легень спостерігається значне зниження інтенсивності синтезу оксиду азоту.

2. Використання донатора оксиду азоту аргініна гідрохлориду (Тівортін) з метою корекції дефіциту субстрату для синтезу NO у пацієнтів з вперше виявленим деструктивним туберкульозом легень на фоні стандартного режиму хіміотерапії дозволяє суттєво збільшити продукцію NO.

3. Для визначення доцільності використання донаторів оксиду азоту для лікування пацієнтів з вперше діагностованим деструктивним туберкульозом легень необхідне проведення аналізу клінічних результатів лікування по завершенню інтенсивної фази хіміотерапії, а також вивчення впливу донаторів оксиду азоту на імунологічні характеристики фагоцитуючих клітин.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Бондаренко В.М., Виноградов М.А., Малеев В.В. Антимикробная активность окиси азота и ее роль в инфекционном процессе // Журн. микробиол. — 1999. — № 5. — С. 61–67.
2. Каминская Г.О. Оксид азота — его биологическая роль и участие в патологии органов дыхания // Пробл. Туберкулеза и болезней легких — 2004. — № 6. — С. 3-11.
3. Каминская Г.О., Абдулаев Р.Ю. Изменения уровня азота в мононуклеарах и нейтрофилах крови у больных с разным течением туберкулеза легких // Пробл. туберкулеза и болезней легких — 2004. — № 8. — С. 41-45.
4. Краснов В.А., Зенков Н.К., Колпаков А.Р. и др. Активированные кислородные метаболиты при туберкулезе // Пробл. туб. — 2005. - № 9. — С. 9-17.
5. Ратников В.И., Бубочкин Б.П., Потапов И.В. Характеристика нитроксида азота в профиле у впервые заболевших очаговым и инфильтративным туберкулезом легких // Пробл. туб. — 2003. - № 12. — С. 26-28.
6. Сиренко И.А., Шматко С.А. Особенности L-аргининзависимого синтеза оксида азота у детей и подростков, больных туберкулезом органов дыхания // Укр. пульмон. журнал — 2006. - № 1 — с.63-65.
7. Aston C., Rom W.N., Talbot A.T., et al. Early inhibition of mycobacterial growth by human alveolar macrophages is not due to nitric oxide // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 1998. — Vol. 157. - № 6. — P. 1943-1950.
8. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. // Anal. Biochem. — 1982. — Vol. 126, N 1. — P. 131-138.
9. Miller B.H., Fratti R.A., Poschet J.F., et al. Mycobacteria inhibit nitric oxide synthase recruitment to phagosomes during macrophage infection // Inf. Immun. — 2004. — Vol. 72. - № 5. — P. 2872-2878.
10. Schnappinger D., Ehrh S., Voskuil M.I., et al. Transcriptional adaptation of Mycobacterium tuberculosis within macrophages: insights into the phagosomal environment // J. Exp. Med. — 2003. — Vol. 198. - № 5. — P. 693-704.
11. Sharma S., Sharma M., Roy S. et al. *Mycobacterium tuberculosis* induces high production of nitric oxide in coordination with production of tumor necrosis factor- $\alpha$  in patients with fresh active tuberculosis but not in MDR tuberculosis // Immunol. And cell Biology — 2004. — Vol. 82. — P. 377-382.
12. Timmins G.S., Master S., Rusnak F., et al. Nitric oxide generated from isoniazid activation by KatG: source of nitric oxide and activity against *Mycobacterium tuberculosis* // Antimicrob. Agents. Chemother. — 2004. - № 8. — P. 3006-3009.

Таблиця

Динаміка концентрації нітритів (NO<sub>2</sub>) в плазмі крові досліджуваних хворих після двох тижнів інтенсивної хіміотерапії на фоні використання аргініну гідрохлориду або силімарину, M $\pm$ m, мкмоль/л

Група хворих	До лікування	Через 2 тиж лікування
1-а	2,26 $\pm$ 0,83*	3,87 $\pm$ 0,93
2-а	2,42 $\pm$ 0,72*	2,45 $\pm$ 1,12
Контрольна	4,52 $\pm$ 0,24	

Примітка: \* $p < 0,05$  порівняно з таким контрольною групи.