

## КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОКСИДА АЗОТА В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЮ

Антон Валерьевич Шаханов\*, Эдуард Сергеевич Бельских, Вадим Анатольевич Луняков,  
Олег Михайлович Урясьев

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань, Россия

Поступила 16.02.2017; принята в печать 04.04.2017.

Реферат

DOI: 10.17750/КМЖ2017-492

**Цель.** Оценить клинико-патогенетическое значение определения уровня метаболитов оксида азота в крови у пациентов с бронхиальной астмой и гипертонической болезнью.

**Методы.** В исследование включён 91 пациент. Выделено три группы: пациенты с бронхиальной астмой (30 человек, первая группа), пациенты с бронхиальной астмой в сочетании с гипертонической болезнью (31 человек, вторая группа), пациенты с гипертонической болезнью (30 человек, третья группа). Больным выполнено определение уровня суммарных метаболитов оксида азота в крови спектрофотометрическим методом в видимой области спектра по реакции с реактивом Грисса.

**Результаты.** В крови больных бронхиальной астмой медиана уровня метаболитов оксида азота имела наивысшее значение, составляя 75,6 [70,4; 80,8] мкмоль/л. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой в сочетании с гипертонической болезнью и пациентов с гипертонической болезнью был ниже, составляя 72,4 [66,2; 81,2] мкмоль/л и 60,0 [54,6; 62,7] мкмоль/л соответственно ( $p < 0,001$ ). Выявлена тенденция к повышению уровня метаболитов оксида азота в крови больных бронхиальной астмой с увеличением тяжести заболевания и объёма базисной терапии. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных с тяжёлым течением бронхиальной астмы составил 77,4 [71,6; 82,4] мкмоль/л, а у больных среднетяжёлого течения — 72,4 [70,4; 73,9] мкмоль/л.

**Вывод.** Уровень метаболитов оксида азота в крови пациентов с сочетанием бронхиальной астмы и гипертонической болезни находится на промежуточных значениях относительно больных изолированной бронхиальной астмой, имеющих наивысший уровень, и пациентов с изолированной гипертонической болезнью, у которых были зафиксированы наименьшие значения.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, гипертоническая болезнь, оксид азота, коморбидность, патогенез.

### CLINICAL AND PATHOGENETIC VALUE OF NITRIC OXIDE MEASUREMENT IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA AND ESSENTIAL HYPERTENSION

A.V. Shakhonov, E.S. Bel'skikh, V.A. Lunyakov, O.M. Uryas'ev

Ryazan State Medical University named after Academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russia

**Aim.** To evaluate the clinical and pathogenetic value of nitric oxide metabolites measurement in the blood of patients with bronchial asthma and essential hypertension.

**Methods.** The study included 91 patients. Three groups were identified: patients with bronchial asthma (30 patients, group 1), patients with bronchial asthma in combination with essential hypertension (31 patients, group 2), and patients with essential hypertension (30 patients, group 3). Measurement of the level of total nitric oxide metabolites in patients' blood was performed with the use of spectrophotometric method in light spectrum based on Griess reaction.

**Results.** The median level of nitric oxide metabolites had the highest value in the blood of patients with bronchial asthma and accounted for 75.6 [70.4; 80.8]  $\mu\text{mol/L}$ . Level of nitric oxide metabolites in the blood of patients with bronchial asthma in combination with essential hypertension and patients with essential hypertension was lower, accounting for 72.4 [66.2; 81.2] and 60.0 [54.6; 62.7]  $\mu\text{mol/L}$  respectively ( $p < 0.001$ ). The tendency to increasing level of nitric oxide metabolites in the blood of patients with bronchial asthma according to disease severity and disease-modifying treatment was revealed. The level of nitric oxide metabolites in the blood of patients with severe bronchial asthma was 77.4 [71.6; 82.4]  $\mu\text{mol/L}$ , and in patients with moderate asthma it was 72.4 [70.4; 73.9]  $\mu\text{mol/L}$ .

**Conclusion.** The level of nitric oxide metabolites in the blood of patients with combination of bronchial asthma and essential hypertension had intermediate values compared with patients with bronchial asthma alone, who had the highest level, and with patients with essential hypertension alone, who had the lowest values.

**Keywords:** bronchial asthma, essential hypertension, nitric oxide, comorbidity, pathogenesis.

В мире всё большее внимание уделяют проблеме коморбидности [1, 2]. Исследование сочетанной патологии позволяет расширить представления о патогенезе заболеваний и способствует оптимизации патогенетической терапии. Наибольшее значение это имеет в отношении таких социально-значимых заболеваний, как болезни дыхательной и сердечно-сосудистой систем.

Весьма интересным представляется изу-

чение коморбидной патологии: сочетания бронхиальной астмы (БА) и гипертонической болезни (ГБ). На сегодняшний день остаются открытыми многие вопросы, касающиеся клинического течения и патогенеза их сочетанного течения. Среди них — вопрос о существовании единых патогенетических механизмов развития этих заболеваний.

Один из таких возможных механизмов — нарушение синтеза оксида азота (NO). NO участвует во многих физиологических процессах [3–5];

– регулирует тонус сосудов, кровотоков и артериальное давление;

– контролирует адгезию тромбоцитов и пролиферацию гладкомышечных клеток;

– регулирует ионный транспорт и барьерную функцию в эпителии, синхронное движение ресничек в верхних дыхательных путях, секрецию слизи и мукоцилиарный клиренс.

Снижение выработки оксида азота эндотелием приводит к развитию эндотелиальной дисфункции и повышению артериального давления [6, 7]. Кроме того, при БА NO участвует в развитии воспаления, влияя на синтез противовоспалительных медиаторов в эпителии и ингибируя функциональную активность Т-лимфоцитов [8].

Исходя из этого, целью нашего исследования было оценить клинико-патогенетическое значение определения уровня метаболитов NO в крови у больных БА и ГБ.

Исследование выполнено с 2014 по 2016 гг. на кафедре факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет» (РязГМУ) Минздрава России.

Проведённое исследование одобрено локальным этическим комитетом РязГМУ и соответствует требованиям надлежащей клинической практики (GCP — от англ. Good Clinical Practice) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования».

В исследование был включён 91 пациент в возрасте от 45 до 69 лет (медиана [25%; 75%] = 55 [50; 62] лет), проходивший стационарное лечение в ГБУ РО «Областная клиническая больница» (г. Рязань) по поводу БА или ГБ. Критериями включения в исследование были: подписанное информированное согласие, возраст от 45 до 70 лет, верифицированный, согласно рекомендациям GINA (от англ. Global INitiative for Asthma) и Всероссийского научного общества кардиологов/Российского кардиологического общества, диагноз «БА, смешанная форма» и/или «ГБ».

В исследование включали больных, госпитализированных по поводу обострения БА. Для лечения обострения у всех пациентов использовали системные глюкокортикоиды (ГК) в дозе, эквивалентной 30 мг преднизолонa в сутки, с последующей от-

меной или снижением до поддерживающей дозы. Забор крови для исследования выполняли через 2 сут после отмены системных ГК, если таковые были назначены для купирования обострения БА, или через 2 сут после перевода на поддерживающие дозы системных ГК, если больной получал их до поступления в стационар.

В группу больных ГБ включены пациенты со стабильным течением ГБ, проходившие плановое стационарное лечение. В исследование не включали пациентов, имеющих декомпенсированную сердечно-сосудистую патологию, тяжёлые нарушения функций печени и почек в анамнезе и иные состояния, способные оказывать значимое влияние на исследуемые показатели.

Всем пациентам было выполнено общеклиническое обследование.

Уровень суммарных метаболитов оксида азота в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом по реакции с реактивом Грисса в модификации В.А. Метельской [9] на микропланшетном анализаторе StatFax 3200 (Awareness Technology, США).

Пациенты были разделены на три группы. В первую группу вошли 30 пациентов, страдающих БА. Вторая группа включала 31 пациента в возрасте от 45 до 66 лет с сочетанной патологией БА+ГБ. В третью группу включены 30 пациентов с ГБ в возрасте от 47 до 69 лет. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием программ Microsoft Excel 2016 и StatSoft Statistica 10. Нормальность распределения признаков оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Учитывая отличное от нормального распределение исследуемых признаков, запись количественных данных представлена в виде  $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ , где  $Me$  — медиана, а  $Q_{25}$  и  $Q_{75}$  — значения нижнего и верхнего квартилей соответственно. Сравнение трёх и более не связанных между собой групп по количественному признаку выполнено с использованием критерия Краскела–Уоллиса с дальнейшим подтверждением парного сравнения с использованием критерия Манна–Уитни. Оценка взаимосвязи количественных признаков между собой выполнена с использованием коэффициента корреляции  $r$  Спирмена. Для сравнения относительных показателей качественных признаков (частот и долей) между двумя независимыми группами использовали точ-

Противоастматическая терапия в исследуемых группах

Степень базисной терапии БА	Используемая терапия	Исследуемая группа	
		БА (n=30), %	БА и ГБ (n=31), %
3	ИГК в низких дозах + ДДБА	7	16
	ИГК в средних дозах	20	7
	ИГК в высоких дозах	3	3
4	ИГК в средних дозах + ДДБА	7	13
	ИГК в высоких дозах + ДДБА	36	42
5	ИГК в высоких дозах + ДДБА + СГК	27	19

Примечание: БА — бронхиальная астма; ГБ — гипертоническая болезнь; ИГК — ингаляционные глюкокортикоиды; ДДБА — длительнодействующий  $\beta_2$ -адреномиметик; СГК — системные глюкокортикоиды.

ный критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Среди пациентов, страдающих БА (первая и вторая группы), среднетяжёлое течение заболевания встречалось у 17 (28%) человек, тяжёлое — у 44 (72%) пациентов. В том числе в первой группе (БА) среднетяжёлое течение заболевания зарегистрировано у 9 (30%), тяжёлое — у 21 (70%), а во второй группе (БА+ГБ) среднетяжёлое течение — у 8 (26%), тяжёлое — у 23 (74%) человек.

Не выявлено различий в тяжести БА у пациентов в зависимости от наличия или отсутствия ГБ ( $p=0,937$ ). Также не обнаружено различий между степенями базисной терапии ( $p=0,284$ ) и дозами ингаляционных ГК ( $p=0,589$ ) у пациентов с БА в зависимости от наличия сопутствующей ГБ. Группы изолированной БА и сочетания БА+ГБ не различались по используемой противоастматической терапии ( $p=0,745$ ) и степеням базисной терапии БА ( $p=0,672$ ; табл. 1). Доля курящих пациентов не различалась в исследуемых группах ( $p=0,441$ ).

Для оценки влияния возраста пациентов

на уровень метаболитов оксида азота выполнен корреляционный анализ, показавший наличие слабой отрицательной корреляции ( $r=0,34$ ,  $p=0,001$ ) по общей выборке больных, которая, однако, не выявлена в отдельных группах. Также не обнаружено значимых различий уровня метаболитов оксида азота в крови между пациентами мужского (71,6 [67,0; 82,0] мкмоль/л) и женского (74,3 [70,4; 80,8] мкмоль/л) пола ( $p=0,928$ ) и между курящими (67,6 [57,7; 72,0] мкмоль/л) и некурящими (69,7 [60,8; 78,5] мкмоль/л) пациентами ( $p=0,218$ ).

При анализе связи уровня метаболитов оксида азота с сочетанной патологией БА+ГБ установлено, что в крови больных БА медиана уровня метаболитов оксида азота имела наивысшее значение, составляя 75,6 [70,4; 80,8] мкмоль/л. Уровень метаболитов оксида азота в крови больных БА в сочетании с ГБ и больных ГБ был ниже, составляя 72,4 [66,2; 81,2] мкмоль/л и 60,0 [54,6; 62,7] мкмоль/л соответственно (рис. 1). Различия уровня метаболитов оксида азота в зависимости от заболевания

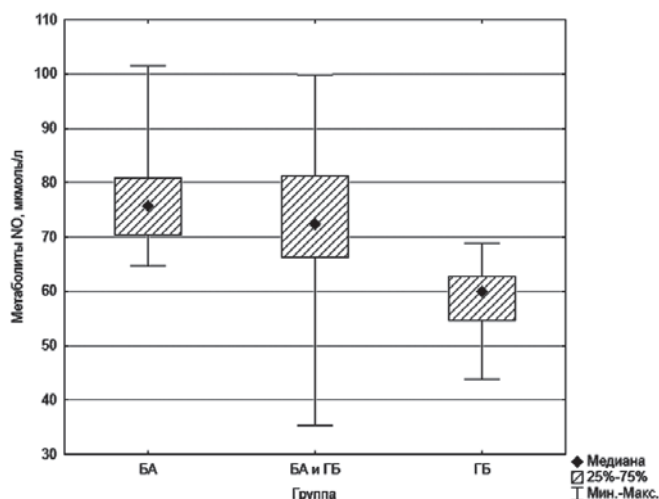


Рис. 1. Уровень метаболитов оксида азота в исследуемых группах; БА — бронхиальная астма; ГБ — гипертоническая болезнь

были статистически значимы ( $p < 0,001$ ).

Проведя попарные сравнения групп с помощью критерия Манна–Уитни, мы установили статистически значимые различия уровней метаболитов оксида азота в группах больных БА и БА в сочетании с ГБ по сравнению с группой больных ГБ ( $p < 0,001$  и  $p < 0,001$  соответственно). При этом наблюдаемые различия между группой больных БА и группой больных БА в сочетании с ГБ не достигали статистически значимого уровня ( $p=0,188$ ), что позволяет сделать предположение о большем влиянии БА на уровень метаболитов оксида азота в крови по сравнению с ГБ.

При сравнении уровня метаболитов оксида азота в крови больных БА в зависимости от степени тяжести выявлена тенденция к увеличению содержания метаболитов оксида азота в крови больных с более тяжёлым течением БА ( $p=0,114$ ). Так, медиана уровня метаболитов оксида азота у пациентов с тяжёлым течением БА составила 77,4 [71,6; 82,4] мкмоль/л, а у больных среднетяжёлого течения — 72,4 [70,4; 73,9] мкмоль/л.

При анализе уровня метаболитов оксида азота в крови больных БА в зависимости от ступени базисной терапии установлено, что медиана содержания метаболитов оксида азота в крови больных БА, находящихся на 5-й ступени терапии, имела максимальное значение, составляя 80,8 [75,6; 82,6] мкмоль/л, на 4-й ступени — 77,4 [69,7; 78,9] мкмоль/л, на 3-й ступени — 72,4 [70,4; 73,9] мкмоль/л, что позволяет говорить о выявлении статистически незначимой ( $p=0,1850$ ) тенденции к росту уровня метаболитов оксида азота параллельно с увеличением объёма базисной терапии.

У больных ГБ выявлена статистически значимая тенденция к снижению уровня метаболитов оксида азота в зависимости от стадии ГБ ( $p=0,0244$ ). Так, медиана содержания оксида азота в крови у больных ГБ I стадии составила 73,5 [67,0; 79,3] мкмоль/л, II стадии — 66,6 [55,8; 81,2] мкмоль/л, III стадии — 60,8 [57,7; 67,7] мкмоль/л.

Аналогичная, однако статистически незначимая связь ( $p=0,1245$ ), выявлена при оценке уровней метаболитов оксида азота в крови пациентов с ГБ в зависимости от степени артериальной гипертензии: медиана уровня метаболитов оксида азота при I степени АГ составила 76,6 [64,5; 87,6] мкмоль/л, при II степени — 66,0 [57,7; 71,6] мкмоль/л, при III степени — 60,8 [58,5; 68,9] мкмоль/л.

Определение связи уровня метаболитов оксида азота в крови больных ГБ с течением заболевания позволило установить, что увеличение стадии и степени ГБ сопровождается снижением уровня оксида азота в крови, что, вероятно, обусловлено участием оксида азота в регуляции тонуса гладкомышечных клеток сосудов и функций эндотелия. При этом логично предположить, что снижение синтеза оксида азота будет связано с повышением артериального давления и соответственно увеличением степени артериальной гипертензии. Однако на уровень метаболитов оксида азота у больных ГБ может оказывать влияние объём применяемой антигипертензивной терапии, что требует проведения дополнительных исследований для оценки истинной взаимосвязи показателей оксида азота с течением ГБ.

В литературе существует ограниченное количество данных, касающихся определения оксида азота в крови больных БА, однако множество работ посвящено определению оксида азота в выдыхаемом воздухе.

При анализе литературных данных установлено, что при БА воспалительные изменения в бронхах вызывают рост уровня NO, связанный с изменением активности синтаз оксида азота. При этом гиперпродукция NO сначала носит приспособительный характер, реализуемый через накопление в дыхательных путях эндогенного бронходилататора — нитрозоглутатиона [3, 10, 11]. Однако воспаление сопровождается избыточным накоплением NO, приводящим к росту содержания продуктов его метаболизма — пероксинитритного аниона (ONOO<sup>-</sup>) и пероксинитритной кислоты (ONOOH), — которые являются сильнейшими оксидантами и способствуют прогрессирующему расширению зоны воспаления в дыхательных путях [11].

Таким образом, в основе выявленной нами тенденции к увеличению уровня метаболитов оксида азота в крови с повышением степени тяжести БА и объёма базисной терапии, вероятно, лежит прогрессирующее воспаление, связанное с окислительным стрессом и гиперпродукцией оксида азота в дыхательных путях.

## ВЫВОД

Уровень метаболитов оксида азота в крови больных сочетанной патологией (бронхиальная астма и гипертоническая болезнь) находится на промежуточных

значениях относительно больных изолированной бронхиальной астмой, имеющих наивысший уровень, и пациентов с изолированной гипертонической болезнью, у которых были зафиксированы наименьшие значения. Исходя из этого, можно сделать вывод, что уровень метаболитов оксида азота в крови изменяется разнонаправленно, повышаясь при бронхиальной астме и снижаясь при гипертонической болезни. При этом при бронхиальной астме уровень метаболитов оксида азота в крови имеет тенденцию к повышению с увеличением степени тяжести бронхиальной астмы и увеличением объёма базисной терапии.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Верткин А.Л., Скотников А.С. Коморбидность. *Леч. врач.* 2013; (8): 78. [Vertkin A.L., Skotnikov A.S. Comorbidity. *Lechashchiy vrach.* 2013; (8): 78. (In Russ.)]
2. Chen W., Lynd L.D., FitzGerald J.M. et al. Excess medical costs in patients with asthma and the role of comorbidity. *Eur. Respir. J.* 2016; 48 (6): 1584–1592. DOI: 10.1183/13993003.01141-2016.
3. Ghosh S., Erzurum S. Modulation of asthma pathogenesis by nitric oxide pathways and therapeutic opportunities. *Drug Discov. Today Dis. Mech.* 2012; 9 (3–4): e89–94. DOI: 10.1016/j.ddmec.2012.10.004.
4. Prado C., Martins M., Tibério I. Nitric oxide in asthma pathophysiology. *ISRN Allergy.* 2011; 2011:

832560. DOI: 10.5402/2011/832560.

5. Aytakin M., Aulak K., Haserodt S. et al. Abnormal platelet aggregation in idiopathic pulmonary arterial hypertension: role of nitric oxide. *AJP Lung Cell Mol. Physiol.* 2012; 302 (6): L512–520. DOI: 10.1152/ajplung.00289.2011.

6. Белозёров В.К., Рубанова М.П., Вебер В.Р. и др. Эндотелийзависимая вазодилатация и состояние стенки сонной артерии. *Кардиоваск. терап. и профил.* 2014; 13 (S2): 16. [Belozerov V.K., Rubanova M.P., Veber V.R. et al. Endothelium-dependent vasodilation and the state of the carotid artery wall. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika.* 2014; 13 (S2): 16. (In Russ.)]

7. Kumar R., Kohli S., Mishra A. et al. Interactions between the genes of vasodilatation pathways in uence blood pressure and nitric oxide level in hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2015; 28 (2): 239–247. DOI: 10.1093/ajh/hpl130.

8. Hernansanz-Agustín P., Izquierdo-Álvarez A., García-Ortiz A. et al. Nitrosothiols in the immune system: signaling and protection. *Antioxid. Redox Signal.* 2013; 18 (3): 288–308. DOI: 10.1089/ars.2012.4765.

9. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови. *Клин. лаб. диагностика.* 2005; (6): 15. [Metel'skaya V.A., Gumanova N.G. Screening as a method for determining the serum level of nitric oxide metabolites. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2005; (6): 15. (In Russ.)]

10. Абатуров А.Е. Роль монооксида азота в системе неспецифической защиты респираторного тракта. *Здоровье ребёнка.* 2009; (1): 130–137. [Abaturov A.E. Role of nitric monoxide in non-speci c protective system of respiratory tract. *Zdorov'e rebenka.* 2009; (1): 130–137. (In Russ.)]

11. Козина О.В. Метаболизм нитрозотиолов при аллергическом воспалении. *Бюлл. СО РАМН.* 2010; 30 (1): 109–116. [Kozina O.V. Metabolism of nitrosothiols at an allergic in ammation. *Byulleten' SO RAMN.* 2010; 30 (1): 109–116. (In Russ.)]

УДК 575.174.015.3: 576.367: 616.33-006.6: 611.345-006.6: 612.112.92

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ С ТКАНЕВОЙ ЭОЗИНОФИЛИЕЙ

*Алла Ивановна Дмитриева<sup>1,2</sup>, Кристина Игоревна Янкович<sup>1,2\*</sup>,  
Юлия Владимировна Колобовникова<sup>1</sup>, Ольга Ивановна Уразова<sup>1</sup>,  
Игорь Леонидович Пурлик<sup>1,2</sup>, Лев Александрович Кудяков<sup>2</sup>, Вячеслав Викторович Новицкий<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия;

<sup>2</sup>Томский областной онкологический диспансер, г. Томск, Россия

Поступила 05.04.2017; принята в печать 02.05.2017.

**Реферат**

**DOI: 10.17750/KMJ2017-496**

**Цель.** Изучить молекулярно-генетические и морфологические особенности новообразований при раке желудка и толстой кишки, сопровождающемся тканевой эозинофилией.

**Методы.** Материалом исследования служили образцы тканей злокачественных новообразований желудка и толстой кишки, полученные при оперативном вмешательстве. Группы исследования были сформированы в зависимости от наличия или отсутствия эозинофильной инфильтрации ткани опухоли, а также от локализации новообразования. Были проанализированы истории болезни и амбулаторные карты пациентов, оценивали наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах и степень дифференцировки опухолевых клеток. В опухолевой ткани оценивали экспрессию белков p53 и p21 иммуногистохимическим методом. Для исследования распределения полиморфных вариантов генов p53 (G215C) и p21 (A1026G) проводили выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты из образцов тканей, фиксированных в формалине и залитых в парафин, полученных с границы резекции. Генотипирование образцов дезоксирибонуклеиновой кислоты по полиморфизмам генов осуществляли путём анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов продуктов амплификации