

Порушення пігментного обміну у хворих з трьохденною малярією

А.М. НАГІЄВ, У.М. АЛІЄВА

Нами був проведений ретроспективний аналіз і дослідження клініко-лабораторних даних 554 хворих малярією, госпіталізованих протягом 5 років. Під час проведеного дослідження були виявлені виражені порушення пігментного обміну у хворих малярією з реінфекцією чи рецидивним перебігом. Вияснено, що при тяжкому перебігу хвороби, особливо при реінфекціях чи рецидивному перебігу трьохденної малярії може мати місце змішаний характер ураження, коли у процес втягуються не тільки мезенхіма, але і печінкові клітини з швидкоплинними функціональними порушеннями.

Ключові слова: трьохденна малярія, рецидиви, пігментний обмін

Pigmentary exchange violations in patients with a three-day malaria

A. NAGIEV, U. ALIEVA

The retrospective study by clinical and laboratory point of 554 patients hospitalized within 5 years was made. During the study it was found more pronounced disorders of pigment metabolism in patients with malaria re-infection or recurrent course. After the research we have come to believe that if severe disease, especially in re-infection or recurrent course of falciparum malaria can be a mixed lesion, when the process involves not only the mesenchyme, but also liver cells from fast transient functional impairment.

Key words: three-day malaria, relapses, pigment's metabolism.

УДК 616.832.9–092.18

Вміст каспази-3 в сироватці крові хворих гострими менінгітами

П.В. НАРТОВ

В сироватці крові хворих гострими менінгітами бактеріальної та вірусної етіології виявлено збільшення вмісту каспази-3, яке було найбільш виражене при вірусних менінгітах. Визначення каспази-3 в хворих гострими менінгітами є важливим показником апоптозу, а характер порушень реалізації апоптозу визначався молекулярними особливостями збудника.

Ключові слова: каспаза-3, апоптоз, гострий менінгіт, бактеріальний менінгіт, вірусний менінгіт

Актуальність проблеми гострих менінгітів (ГМ) бактеріальної та вірусної етіології обумовлена високою частотою тяжких форм, високою летальністю, розширенням спектра етіопатогенів, труднощами діагностики та

диференціальної діагностики, частими залишковими явищами. Дослідження в цій галузі в основному присвячені вивченню ГМ у дітей. Разом з тим, до 25–30% ГМ припадає на дорослих, у яких залишаються недостатньо висвітленими питання експрес-діагностики та диференційної діагностики між бактеріальною та вірусною природою менінгіту, особливостей патогенезу, клінічних проявів і схем лікування [2, 4, 9, 10].

В даний час дослідниками інтенсивно вивчаються основні ланки патогенезу нейроінфекцій. Зокрема, доведено, що збудник і його токсичні субстанції, проникаючи через гематоенцефалічний бар'єр, зумовлюють запуск патологічних процесів, що прискорюють загибель нервових клітин за рахунок активізації некротичних змін та механізму апоптозу [9, 10].

Апоптоз – генетично запрограмована смерть, що здійснюється за допомогою специфічних механізмів і ферментів [1, 12]. Термін «апоптоз», запропонований у 1972 р. англійськими вченими J.F.R. Kerr, A.H. Wyllie та A.R. Currie, складається з двох грецьких слів (apo – відділення + ptosis – падіння) і означає буквально «відділення пелюстків від квітів» або «листя, що опадає з дерев восени», а стосовно клітини – особливий тип смерті шляхом розділення її на частини «апоптозні тільця», які надалі фагоцитуються сусідніми клітинами різного типу [8, 19].

Нейрональне ушкодження при бактеріальному гнійному менінгіті (ГБМ) є наслідком інвазії лейкоцитів в центральній нервовій системі (ЦНС), залучення мікроглії в інфекційний процес і прямого токсичного впливу бактеріальних компонентів на мозковий ендотелій та нейрони [16]. Клітинна оболонка пневмококу є головним прозапальним компонентом, що викликає каспазокерований класичний апоптоз, який активується через TLR2-рецептори (Toll-like receptor 2). Встановлено, достовірне збільшення кількості маркерів апоптозу на нейтрофілах під впливом пептидоглікану, а ліпосахариди бактерій достовірного впливу на дані параметри апоптозу не надає [6, 14, 17].

Недавні дослідження показали, що викликаний вірусом апоптоз є основним механізмом смерті клітин при вірусних інфекціях ЦНС. У дослідженнях S. Athmanathan зі співавт. (2001) показано, що більше ніж у 80% нейронів, інфікованих вірусом простого герпесу, мав місце розвиток цитопатичних ефектів при перебігу інфекції і більше ніж у 50% цих клітин спостерігалося зморщування (blebbing) цитоплазматичної мембрани, характерна особливість клітин, що переносять апоптоз. При вірусних енцефалітах можлива і пряма індукція апоптозу вірусними протеїнами. Віруси різноманітних груп здатні використовувати програми смерті клітин організму, щоб максимально продовжити своє виживання [13, 18].

На сьогоднішній день відомо, що у запуску та розвитку процесу апоптозу центральна роль належить протеазам. Здійснюючи деструкцію клітин-

них структур, вони розщеплюють білки-мішені. Ця група протеаз, названа каспазами (caspases), існує відокремлено і функціонує як медіатор сигналу смерті. Каспаза (від англ. caspase), де буква с відповідає цистеїну (cysteine), корінь asp – аспартату (aspartate), ase – суфіксу в назвах ферментів. У клітці каспаза синтезується у формі латентних попередників – проферментів, званих прокаспазами. Каспази відносяться до сімейства еволюційно консервативних протеаз – ферментів, які каталізують обмежене розщеплення клітинних білків. У літературі описані 14 каспаз, нумерація яких відповідає хронологічному порядку їх відкриття, які за своїми функціональними особливостями діляться на активатори цитокінів (каспази 1, 4, 5, 13), ініціаторні (каспаза 8 і 10) та ефекторні (каспаза 3, 6 і 7). Понад 60 різних білків є субстратами ефекторних каспаз [11].

Каспази складають центральний компонент програми апоптозу: їх активація призводить до фінальної стадії загибелі клітин, а саме – до фрагментації ДНК і деградації структурних білків цитоскелета та клітинних мембран, а також до інактивації інших білків, що забезпечують нормальне функціонування клітини. Каспаза-3 є одним з ключових ферментів ефекторної ланки апоптичних процесів в ЦНС, а зміна активності цієї протеази вважається одним з основних біохімічних маркерів загибелі клітин мозку по типу апоптозу. Аналіз результатів досліджень останніх років свідчить про те, що ферменти, які до цих пір вважаються «апоптотичними», можуть виконувати і функції, не пов'язані із загибеллю клітин у мозку. На прикладі каспази-3 показано, що цей «апоптотичний» фермент, що міститься в нейронах, необхідний для реалізації нейропластичності [3, 7, 15]. У зв'язку з цим представляє особливий інтерес виявлення загальних закономірностей і особливостей ефекторного апоптозу у хворих ГМ.

Мета роботи – вивчити вміст каспази-3 в СК хворих ГБМ і ВМ.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснювалося в умовах відділень повітряно-крапельних інфекцій та інтенсивної терапії обласної клінічної інфекційної лікарні м. Харкова, які є клінічною базою медичної академії післядипломної освіти. В обстеження було включено 24 пацієнта з ГМ які були госпіталізовані в екстреному порядку в середньотяжкому та тяжкому стані. Діагноз був верифікований на підставі клініко-лікворологічних, бактеріологічних, серологічних та молекулярно-генетичних досліджень (полімеразна ланцюгова реакція). Хворі були розділені на 2 групи: 12 осіб з ГБМ (перша група) і 12 пацієнтів з вірусним менінгітом (друга група). В першій групі у 7 хворих встановлено менінгококова (*N. meningitidis*), у 4 – пневмококова (*Str. pneumoniae*) та у 1 хворого – стафілококова (*S. aureus*) етіологія

захворювання. В другій групі у 8 хворих діагностовано герпесвірусний менінгіт (Herpes simplex-1/2 – 4, Herpes zoster – 1, Epstein-Barr virus – 1, Cytomegalovirus – 2), в інших випадках етіологічний фактор не встановлено, а бактеріальна природа захворювання була виключена за допомогою SLP – тесту (silkworm larvae plasma) [5]. Контрольну групу склали 10 донорів. Вік хворих коливався в межах від 17 до 65 років, переважали особи віком до 40 років.

Оцінку апоптозу на підставі активності специфічних ферментів проводили методом колориметричного вимірювання активності каспази-3 за допомогою набору реагентів (Promega, США), за методикою виробника. Вимірювання активності каспази-3 засноване на розщепленні субстрату, міченого хромофором, під дією активної каспази-3 і вивільнення хромофора, який забарвлює середу в жовтий колір. Фарбування реєстрували за допомогою планшетного фотометра (Tecan, Classic) при довжині хвилі $\lambda = 405$ нм. Кількість вільного барвника, і, відповідно, інтенсивність забарвлення пропорційні активності каспази-3 в досліджуваному зразку. Підвищення активності каспази свідчить про індукцію процесу апоптозу в досліджуваних клітинах.

Зразки ЦСЖ відбирали в обсязі 0,5 мл в гострий період хвороби (при госпіталізації) та в період одужання (10–14 день хвороби). При проведенні спинномозкової пункції використовували одноразові пункційні голки та стерильні апірогенні одноразові пробірки для попередження хибно-позитивних результатів. Комп'ютерну обробку результатів досліджень здійснювали на персональному комп'ютері з використанням програми «Біостатистика». Достовірність відмінностей між показниками порівнюваних величин оцінювали за критерієм *t* Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення

При госпіталізації в інфекційний стаціонар кількісний вміст каспази-3 в сироватці крові (СК) хворих на ГБМ становив 20, 38 ± 8 , 04 нмоль/мл, а в групі з вірусним менінгітом (ВМ) – 70, 53 ± 12 , 28 нмоль/мл, що вірогідно вище показників контрольної групи – 1, 6 ± 0 , 25 нмоль/мл (табл. 1).

Згідно даних табл.1, вміст каспази-3 в СК хворих ГБМ у період одужання склав 39, 27 ± 10 , 6 нмоль/мл, а середній показник протеази у групі ВМ був на рівні 99, 28 ± 13 , 66 нмоль/мл, що перевищило ($p < 0,05$) контрольні величини. При дослідженні СК у хворих першої та другої групи рівень каспази-3 був статистично вищим початкових даних. У гострий період та період одужання, а також у динаміці захворювання концентрація досліджуваного білка в СК хворих ВМ була статистично вище ніж у групі ГБМ.

Таким чином, у хворих ГМ бактеріальної та вірусної етіології спостерігається активація системи апоптозу за участю каспази-3. Отримані результати

**Концентрація каспази-3 в СК хворих ГМ
в динаміці захворювання (M ± m)**

Групи хворих	Кількість хворих	Рівень каспази-3 в СК, нмоль/мл	
		Гострий період	Період одуження
Гнійний менінгіт (1-а група)	12	20, 38±8, 04* ¹	39, 27±10, 6* ^{1,2}
Вірусний менінгіт (2-а група)	12	70, 53±12, 28* ¹	99, 28±13, 66* ^{1,2}
Контроль	10	1, 6±0, 25	

Примітка: * – $p < 0,05$ вірогідність відмінностей з контролем;

¹ – $p < 0,05$ вірогідність відмінностей в порівняльних групах;

² – $p < 0,05$ вірогідність відмінностей з початковими даними.

підтверджують, що характер порушень реалізації апоптозу визначався етіологічними особливостями збудника. Величина рівня активності каспази-3 у хворих ВМ перевищувала активність ферменту хворих ГМ, дана відмінність була статистичною ($p < 0,05$) на протязі всього періоду захворювання. Виявлення ключових ланок патогенезу ГМ дозволить розробити патогенетично обґрунтовані підходи управління реактивністю ефektorних клітин крові.

Висновки

Оцінка рівня каспази-3 може бути використана в якості додаткового критерію для проведення диференціальної діагностики та прогнозу захворювання.

Оцінка рівня активності маркерів апоптозу може бути використана в якості додаткового обґрунтування своєчасного і адекватного призначення патогенетичної терапії.

Література

1. Болдырев А.А. Нейрональные рецепторы / А.А. Болдырев // Природа. – 2005. – № 7. – С. 2–10.
2. Венгеров Ю.Я. Актуальные проблемы диагностики и лечения бактериальных менингитов / Ю.Я. Венгеров, М.В. Нагибина, Т.Э. Мигманов // Лечащий врач. – 2007. – № 9. – С. 31–35.
3. Гуляева Н.В. Апоптотические ферменты в пластичности нормального мозга: каспаза-3 и длительная потенция / Н.В. Гуляева // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2004. – № 4. – С. 437–447.
4. Обзор практических рекомендаций по ведению пациентов с бактериальным менингитом Американского общества инфекционных болезней / И.А. Карпов,

А.С. Иванов, И.В. Юркевич и др. // Клиническая микробиология антимикробная химиотерапия. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 217–242.

5. Малий В.П. Визначення бактеріальних ендотоксинів у лікворі хворих на менінгококовий менінгіт з використанням плазми личинок тутового шовкопряду / В.П. Малий., П.В. Нартов, В.С. Кульшин // Інфекційні хвороби. – 2008. – № 2. – С. 24–28.

6. Миргородская А.В. Влияние пептигликана и липосахаридов бактерий на апоптоз нейтрофилов *in vitro* / А.В. Миргородская // Український журнал екстремальної медицині ім. Г.О. Можасва. – 2008. – Т. 3, № 2. – С. 86–89.

7. Олейник Е.К. Система апоптоза Fas–FasL в онкогенезе / Е.К. Олейник, М.Ю. Донников, В.М. Олейник // Иммунология. – 2004. – № 4. – С. 251–255.

8. Семке В.Я. Нейропротекторы в борьбе с апоптозом и их применение на ранних этапах терапии / В.Я. Семке, С.А. Иванова // Медицинский вестник. – 2008. – № 6–7. – С. 433–434.

9. Сорокина М.Н. Бактериальные менингиты у детей / М.Н. Сорокина, В.В. Иванова, Н.В. Скрипченко. – М.: Медицина, 2003. – 320 с.

10. Сорокина М.Н. Вирусные энцефалиты и менингиты у детей / М.Н. Сорокина, Н.В. Скрипченко. – М.: Медицина, 2004. – 416 с.

11. Юрасов В.В. Эффекты ингибитора каспазы–3 на биохимические показатели апоптоза в зрелом мозге при его центральном введении / В.В. Юрасов, М.А. Грудень, Н.Е. Яковлева [и др.] // Нейрохимия. – 2007. – Т. 24, № 4. – С. 304–311.

12. Широкова А.В. Апоптоз. Сигнальные пути и изменение ионного и водного баланса клетки / А.В. Широкова // Цитология. – 2007. – Т. 49, № 5. – С. 385–394.

13. . Neuronal apoptosis in herpes simplex virus – 1 Encephalitis (HSE) / S. Athmanathan, V.V. Vydehi, C. Sundaram [et al.] // Indian J. Medical Microbiology. – 2001. – Vol. 19, № 3. – P. 127–131.

14. Bacterial programmed cell death of cerebral endothelial cells involves dual death pathways / D. Bernpoh, A. Halle, D. Freyer [et al.] // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115, № 6. – P. 1607–1615.

15. Friedlander R.M. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases / R.M. Friedlander // Engl. J. Med. – 2003. – Vol. 348. – P. 1365–1375.

16. Melatonin is neuroprotective in experimental Streptococcus pneumoniae meningitis / J. Gerber, M. Lotz, S. Ebert [et al.] // J. Infectious Diseases. – 2005. – Vol. 191. – P. 783–790.

17. Mechanism for neurodegeneration induced by Group B Streptococci through activation of the TLR2/MyD88 pathway in microglia / S. Lehnardt, P. Henneke, E. Lien [et al.] // The Journal of Immunology. – 2006. – Vol. 177. – P. 583–592.

18. Muller K. Gp120 of HIV–1 induces apoptosis in rat cortical cell cultures: prevention by memantine / K. Muller // Eur. J. Pharmacol. – 1992. – Vol. 226, № 6. – P. 209–214.

19. Reed J.C. Mechanisms of Apoptosis / J.C. Reed // Amer. J. Pathol. – 2000. – Vol. 157. – P. 1415–1430.

Содержание каспазы-3 в сыворотке крови больных острыми менингитами

П.В. НАРТОВ

В сыворотке крови больных острыми менингитами бактериальной и вирусной этиологии выявлено увеличение содержания каспазы-3, наиболее выраженное при вирус-

ных менингитах. Определения каспазы-3 у больных острыми менингитами является важным показателем апоптоза, а характер нарушений реализации апоптоза определялся молекулярными особенностями возбудителя.

Ключевые слова: каспаза-3, апоптоз, острый менингит, бактериальный менингит, вирусный менингит

Contents of caspase-3 in the blood serum of patients with acute meningitides

P.V. NARTOV

Increase of caspase-3 contents (more expressed in viral meningitides) were detected in blood serum of patients with acute meningitides of bacterial and viral etiology. Determination of caspase-3 in patients with acute meningitides is a significant index of apoptosis, and a character of disturbances of apoptosis realization is determined by molecular peculiarity of pathogenic agent.

Key words: caspase-3, apoptosis, acute meningitides, bacterial meningitides, viral meningitides

УДК 579:577.18:615.015.8:57.083

Комбинации наночастиц с антибиотиками как метод преодоления антибиотикорезистентности

М.К. РАИ, Е.В. КОНЬ

*Значительная распространенность антибиотикорезистентности среди возбудителей различных инфекционных заболеваний снижает эффективность проводимой терапии, что делает необходимым поиск новых методов преодоления антибиотикорезистентности. Среди таких методов перспективным является использование металлических наночастиц, обладающих антибактериальными свойствами. Комбинированное применение наночастиц с антибиотиками может повысить антибактериальную активность и снизить токсичность обоих компонентов. В связи с этим, целью работы явилось изучение влияния наночастиц серебра на активность антибиотиков *in vitro* в отношении медицински-значимых бактерий. Активность нескольких антибиотиков (ампициллина, гентамицина, канамицина, стрептомицина и ванкомицина) изучена в комбинации с наночастицами серебра диско-диффузионным методом в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*. Наибольшее увеличение зоны задержки роста в присутствии наночастиц в отношении *S. aureus* отмечено у ванкомицина, в отношении *E. coli* и *P. aeruginosa* – у ванкомицина и ампициллина. Полученные результаты показали, что наночастицы серебра способны повышать активность антибиотиков. Таким образом, комбинации металлических наночастиц с антибиотиками представляют альтернативный подход к преодолению антибиотикорезистентности.*