



О.А. Растворов¹, А.В. Абрамов¹, І.Ф. Беленічев¹, Р.М. Ясінський¹, Г.О. Жернова¹, Ю.В. Біла¹, М.Г. Клевцова²

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ БІЛКІВ У ПАЦІЄНТІВ З ВІЛ/СНІД-АСОЦІЙОВАНИМ ТУБЕРКУЛЬОЗОМ, У ПОРІВНЯННІ З ХВОРИМИ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ І ВІЛ/СНІД

¹Запорізький державний медичний університет,

²КУ «Центр СНІД» Запорізької обласної ради

Ключові слова: окислювальний стрес, перекисне окислення білків, ВІЛ/СНІД-асоційований туберкульоз.

Ключевые слова: окислительный стресс, перекисное окисление белков, ВИЧ/СПИД-ассоциированный туберкулез.

Key words: oxidative stress, peroxidation of proteins, HIV/AIDS-associated tuberculosis.

Визначено стан перекисного окислення білків у пацієнтів з ВІЛ/СНІД-асоційованим туберкульозом, у порівнянні з даними хворих на туберкульоз і ВІЛ/СНІД. У хворих з ко-інфекцією відзначено ріст ранніх і пізніх маркерів окислювальної модифікації білків, у порівнянні з іншими пацієнтами. Ступінь дефрагментації білків зростала у всіх групах відносно контролю.

Определяли состояние перекисного окисления белков у пациентов с ВИЧ/СПИД-ассоциированным туберкулезом, в сравнении с данными больных туберкулезом и ВИЧ/СПИДом. У больных с ко-инфекцией отмечен рост ранних и поздних маркеров окислительной модификации белков, в сравнении с другими пациентами. Степень дефрагментации белков увеличивалась во всех группах относительно контроля.

The state of peroxidation of proteins in patients with HIV / AIDS-associated tuberculosis in comparison with the data of patients with tuberculosis and HIV / AIDS was defined. There was an increase of early and late markers of oxidative modification of proteins in patients with co-infection in comparison with other patients. The level of defragmentation protein increased in all groups compared with control.

У хворих з ВІЛ/СНІДом на сьогодні туберкульоз є найбільш частою супутньою інфекцією, і саме ВІЛ/СНІД став одним із факторів зростання епідемії туберкульозу у світі [1,12]. Сполучення туберкульозу з ВІЛ/СНІДом особливо актуальне для України, де відзначаються як взаємне перехресне інфікування, так і рекордно високі темпи поширення обох інфекцій [1].

У разі потрапляння МБТ до організму та взаємодії їх з макрофагами, крім того, що відбувається активація різних ланок імунної системи, активуються система вільнорадикального перекисного окислення (ВРПО) та антиоксидантного захисту організму (АЗО), система протеази – інгібітори протеаз, калікреїн-кінінова система, система гемостазу тощо [5,10]. Під дією інфекційного агента фагоцити починають продукувати активні форми кисню (АФК), значне наростання яких стримується антиоксидантною системою організму (АСО), і в нормі існує баланс АФК/АСО з переважанням останньої [6].

У разі інтенсифікації ВРПО починається пошкодження білків, ліпідів і нуклеїнових кислот власних тканин організму. Крім цього, АФК активують медіатори запалення, ще більше ускладнюючи перебіг захворювання. У спеціальній літературі багато робіт присвячено перекисному окисленню ліпідів (ПОЛ), та, разом з тим, слід відзначити вагомий роль окислювальної модифікації білків (ОМБ), або перекисного окислення білків (ПОБ) у розвитку змін у різних органах, пов'язаних з утворенням продуктів. Багатьма дослідженнями підтверджується, що саме окисна модифікація білків є первинною [3,4,7,9]. Продукти ПОБ у подальшому стимулюють ПОЛ, окислювальне пошкодження ДНК, порушення ферментативних процесів в організмі, порушення функціонування іонних каналів і рецепторів

клітин, крім того, їм самим властива виражена цитотоксична дія. Процес утворення продуктів ОМБ відбувається й у фізіологічних умовах, проте такі молекули підлягають протеолізу. У випадку вираженого ВРПО утворюється значна кількість продуктів ПОБ, що можуть зв'язуватись між собою та майже не підлягають протеолізу. Окислювальна модифікація білків пов'язана зі зміною їхньої структурної організації, супроводжується фрагментацією з утворенням низькомолекулярних компонентів. Продукти фрагментації окислювальних білків, як і самі модифіковані білки, є надзвичайно реакційно здатними та відіграють роль маркерів ендогенної інтоксикації [3,4,7,9].

При туберкульозному запаленні відбувається інтенсифікація ВРПО та активація системи АЗО, а при прогресуванні процесу настає дисбаланс у бік ВРПО [5]. Відзначено чіткий зв'язок між наростанням продуктів ВРПО в крові хворих на туберкульоз та інші захворювання легень, поширенням і розмірами деструкцій у легеневої тканині та важкістю процесу [2]. При ВІЛ-інфекції простежено також наростання ВРПО і досить слабкий ефект від антиретровірусної терапії без призначення антиоксидантів [6]. При ко-інфекції відзначено більш виражене зростання рівня малонового діальдегіду на всіх стадіях захворювання, порівняно з показниками хворих лише на ВІЛ-інфекцію [8]. Досліджень стану ОМБ при ко-інфекції в спеціальній літературі не виявлено.

МЕТА РОБОТИ

Вивчити стан перекисного окислення білків у пацієнтів з ВІЛ/СНІД-асоційованим туберкульозом; визначити його особливості, в порівнянні зі станом у хворих на туберкульоз і ВІЛ/СНІД.



МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 92 пацієнта, які перебували на стаціонарному лікуванні у Запорізькому обласному протитуберкульозному клінічному диспансері (ЗОПТКД) та в КУ «Центр СНІД» Запорізької обласної ради (ЗОР).

Першу групу склали 31 пацієнт з ВІЛ/СНІД-асоційованим туберкульозом (ТБ/ВІЛ): чоловіків – 21 (65,6%), жінок – 11 (34, %); середній вік пацієнтів – $35 \pm 1,24$ років. У 2 групу ввійшов 31 хворий з туберкульозом (ТБ). Серед них 18 чоловіків (54,5%) і 15 жінок (45,5%); середній вік пацієнтів групи – $43 \pm 3,05$ років. У 3 групу ввійшли 27 пацієнтів з 3 і 4 стадіями ВІЛ-інфекції (ВІЛ/СНІД). Серед них 17 чоловіків (63%) і 10 жінок (27%); середній вік пацієнтів – $36 \pm 1,17$ років. Контрольну групу склали 33 практично здорові особи. Чоловіків – 9 (25,7%), жінок – 26 (74,3%); середній вік – $23 \pm 0,51$ років.

Для визначення стану ОМБ у всіх пацієнтів і осіб контрольної групи вранці натще брали кров з кубітальної вени в кількості 10 мл. У подальшому кров центрифугували і відбирали плазму, визначали загальний білок. Ці дослідження проводили на базі біохімічного відділу Центральної науково-дослідної лабораторії Запорізького державного медичного університету (ЦНДЛ ЗДМУ). Загальний білок визначали згідно інструкції. У якості маркерів ОМБ визначали в плазмі ранній – альдегідфенілгідразон (АФГ) – та пізній – кетонфенілгідразон (КФГ) – її маркери, спонтанні (АФГсп, КФГсп) та залізоіндуковані (АФГін, КФГін) за методикою В. Halliwell. У надосадовій рідині визначали ступінь фрагментації окислених білків [11,13].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакету програм «Statistica 6.0» (Stat Soft Inc, США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Раннім маркером спонтанної окислювальної модифікації білків є альдегідфенілгідразон, у разі вираженої деструкції білкових молекул у плазмі крові зростатиме рівень пізнього маркеру – кетонфенілгідразон. Рівень продуктів індукованої

модифікації білків відбиває стан компенсаторних адаптивних механізмів організму. Стан ПОБ у хворих на ВІЛ/СНІД-асоційований туберкульоз, пацієнтів з туберкульозом і хворих на ВІЛ/СНІД наведено у таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, у пацієнтів 3 групи усі показники достовірно знижені, порівняно з показниками контрольної, другої (крім АФГсп) та 1 груп. Це можна пояснити пригніченням імунної системи, зокрема її фагоцитарної ланки. У пацієнтів 2 групи в рівнях АФГсп, КФГсп та КФГін спостережено тенденцію до зниження, в порівнянні з контрольною групою, але всі показники, окрім АФГсп, були вищими, ніж у хворих на ВІЛ/СНІД, що засвідчує наявність явища окислативного стресу. Оскільки тенденцію до зростання, в порівнянні з 3 групою, більшою мірою має КФГсп (пізній маркер окислювальної деструкції), а не АФГсп, можна припустити більш виражені зміни білкових молекул у хворих на туберкульоз. Однак в обох випадках компенсаторні можливості організму ще зберігаються.

За всіма показниками ОМБ у пацієнтів з ВІЛ/СНІД-асоційованим туберкульозом спостережено тенденцію до росту, в порівнянні з хворими як на туберкульоз, так і на ВІЛ/СНІД. Від показників здорових осіб ці дані майже не відрізнялись, що можна пояснити тим, що й у хворих на ВІЛ/СНІД, й у пацієнтів з туберкульозом відбувалось зниження ОМБ, а при ко-інфекції – значне зростання ВРПО, що призводило до суттєвого підвищення рівнів маркерів ОМБ. Достовірно зростання саме маркерів спонтанної ОМБ, у порівнянні з 2 і 3 групами, засвідчує більш виражені зміни білків у таких хворих на фоні зростання окислативного стресу, а тенденція до наростання рівнів маркерів стимульованої ОМБ, навіть з показниками здорових осіб з урахуванням того, що вони були зниженими, свідчить про можливий зрив адаптаційно-компенсаторних можливостей організму під впливом ко-інфекції.

Окисна модифікація білків пов'язана зі зміною їхньої структурної організації і супроводжується їх фрагментацією

Таблиця 1

Маркери ОМБ у хворих на ВІЛ/СНІД-асоційований туберкульоз, туберкульоз, ВІЛ/СНІД і в контролі

Показник	1 група (ТБ/ВІЛ) $M \pm m$ n=31	2 група (ТБ) $M \pm m$ n=31	3 група (ВІЛ) $M \pm m$ n=27	контроль $M \pm m$ n=33	P*
АФГсп, опт.щільн/г білка	0,097±0,006	0,073±0,002	0,071±0,005	0,093±0,005	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,005$ $P_{2-к} < 0,001$ $P_{3-к} < 0,005$
АФГін, опт.щільн/г білка	0,165±0,007	0,168±0,005	0,138±0,006	0,158±0,006	$P_{1-3} < 0,01$ $P_{2-3} < 0,001$ $P_{3-к} < 0,05$
КФГсп, опт.щільн/г білка	0,061±0,004	0,044±0,001	0,034±0,002	0,057±0,003	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{2-3} < 0,001$ $P_{2-к} < 0,005$ $P_{3-к} < 0,001$
КФГін, опт.щільн/г білка	0,070±0,006	0,061±0,004	0,043±0,003	0,069±0,005	$P_{1-3} < 0,001$ $P_{2-3} < 0,005$ $P_{3-к} < 0,001$

Примітка: * – недостовірні дані не наведено.



Дефрагментація білків у пацієнтів з ВІЛ/СНІД-асоційованим туберкульозом, хворих на туберкульоз і ВІЛ/СНІД

Показник	1 група (ТБ/ВІЛ) M±m n=31	2 група (ТБ) M±m n=31	3 група (ВІЛ) M±m n=27	контроль M±m n=33	P*
дефрагментація спонтанна при 254 нм, у.о.	0,325±0,014	0,412±0,014	0,363±0,015	0,274±0,014	P ₁₋₂ < 0,001 P _{1-к} < 0,02 P ₂₋₃ < 0,05 P _{2-к} < 0,001 P _{3-к} < 0,001
дефрагментація спонтанна при 272 нм, у.о.	0,225±0,013	0,330±0,028	0,204±0,017	0,164±0,012	P ₁₋₂ < 0,002 P _{1-к} < 0,002 P ₂₋₃ < 0,001 P _{2-к} < 0,001
дефрагментація спонтанна при 280 нм, у.о.	0,235±0,015	0,327±0,026	0,196±0,018	0,158±0,011	P ₁₋₂ < 0,005 P _{1-к} < 0,001 P ₂₋₃ < 0,001 P _{2-к} < 0,001
дефрагментація індукована при 254 нм, у.о.	3,096±0,118	2,764±0,061	2,807±0,104	3,680±0,141	P ₁₋₂ < 0,02 P _{1-к} < 0,005 P _{2-к} < 0,001 P _{3-к} < 0,001
дефрагментація індукована при 272 нм, у.о.	2,084±0,075	2,071±0,068	2,058±0,072	2,676±0,071	P _{1-к} < 0,001 P _{2-к} < 0,001 P _{3-к} < 0,001
дефрагментація індукована при 280 нм, у.о.	1,721±0,054	1,669±0,063	1,722±0,056	2,081±0,058	P _{1-к} < 0,001 P _{2-к} < 0,001 P _{3-к} < 0,001

Примітка: * – недостовірні дані не наведено.

з утворенням низькомолекулярних компонентів, агрегатів білкових молекул, подальшим їх протеолізом. Вони, як і самі продукти ОМБ, надзвичайно реакційно здатні. Їх виявляли в надосадовій рідині. Результати представлено в таблиці 2.

Аналізуючи отримані дані, треба відзначити достовірне зростання ступеня спонтанної дефрагментації окислених білків і у пацієнтів з ВІЛ/СНІД-асоційованим туберкульозом, і у хворих на туберкульоз, а також видно чітку тенденцію до зростання рівня продуктів спонтанної дефрагментації у хворих на ВІЛ/СНІД. Це свідчить про вираженість оксидативного стресу у всіх групах хворих.

Ступінь дефрагментації достовірно вищий у пацієнтів з туберкульозом, у порівнянні з хворими на ВІЛ/СНІД і ВІЛ/СНІД-асоційований туберкульоз. У зв'язку з тим, що утворені в результаті фрагментації низькомолекулярні пептиди відіграють роль антиоксидантів, чим пояснюється тенденція до зниження рівнів продуктів ОМБ, або існують певні механізми, що гальмують їх і стримують у такий спосіб формування ендотоксикозу, або ж в розвитку інтоксикації у пацієнтів 1 та 3 груп більш вагомо роль відіграють не окислені олігопептиди, а інші ендотоксини, або оскільки низькомолекулярні пептиди, що беруть участь у формуванні ендотоксикозу, не мають дисульфідних зв'язків, за якими відбувається окислення. Також не можна виключити можливість того, що ці окислені олігопептиди через свою активність взаємодіють між собою та утворюють агрегати молекул, що підлягають швидкому протеолізу, особливо за умов збереження компенсаторних можливостей організму у таких пацієнтів. А оскільки, за попередніми

даними, у хворих з ко-інфекцією починається зрив цих можливостей, власне продукти дефрагментації, а також їх можливі агрегати викликають порушення стану всіх систем організму, особливо в умовах імунодефіциту.

Дефрагментація при індукованій ОМБ достовірно знижена у представників усіх груп. Рівень продуктів дефрагментації, що виявляються при довжині хвилі 254 нм, достовірно вищий у пацієнтів з ко-інфекцією, в порівнянні з хворими на туберкульоз. Це можна пояснити тим, що існують механізми протидії вираженому оксидативному стресу, незважаючи на початок дезадаптації при ВІЛ/СНІД-асоційованому туберкульозі, а отже ще можлива корекція патологічних змін.

ВИСНОВКИ

1. У осіб з ВІЛ/СНІД-асоційованим туберкульозом, у порівнянні з хворими на туберкульоз і пацієнтами з ВІЛ/СНІДом відбувається зростання як ранніх, так і пізніх маркерів спонтанної окислювальної модифікації білків, що засвідчує значні деструктивні зміни білкових молекул і високий ступінь оксидативного стресу.

2. Ступінь дефрагментації у випадку спонтанного окислення білкових молекул зростає у всіх хворих, але найбільшою мірою – у хворих на туберкульоз, менші прояви інтоксикації саме у цих пацієнтів засвідчують збереження компенсаторних механізмів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волкова К.И. Туберкулез в период эпидемии ВИЧ/СПИДа и наркомании / К.И. Волкова, А.Н. Кокосов, Н.А. Браженко // Проблемы туберкулеза. – 2001. – №2. – С. 61–65.



2. Волчегорский И.А. Показатели системы перекисне окисление липидов – антиоксидантная защита как предикторы неблагоприятного течения инфильтративного туберкулеза легких / И.А. Волчегорский, П.Н. Новоселов, А.А. Болотов // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. – №4. – С. 28–32.
3. Дубинина Е.Е. Определение окислительной модификации белков / Е.Е. Дубинина, С.О.Бурмистров // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41, №1. – С. 24–25.
4. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Український біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, №6. – С. 5–18.
5. Каминская Г.О. Некоторые метаболические характеристики циркулирующих фагоцитов у больных с разными вариантами течения туберкулеза легких / Г.О. Каминская, Р.Ю. Абдулаев // Проблемы туберкулеза. – 2002. – №3. – С. 38–42.
6. Нагоев Б.С. Состояние системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных ВИЧ-инфекцией / Б.С. Нагоев, Ж.Х. Сабанчиева // Терапевтический архив. – 2007. – №12. – С. 70–72.
7. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е.Е. Дубинина, М.Г. Морозова, Н.В. Леонова [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 2000. – №4. – С. 39–45.
8. Сабанчиева Ж.Х. Клинико-прогностическое значение оценки функционально-метаболической активности лейкоцитов, среднемoleкулярных пептидов, системы прооксидантной защиты крови у больных ВИЧ-инфекцией: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: спец. 14.00.10 «Инфекционные болезни» / Ж.Х. Сабанчиева. – М., 2007. – 40 с.
9. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев, С.В. Павлов [и др.] // Современные проблемы токсикологии. – 2005. – №3. – С. 20–26.
10. Чучалин А.Г. Система оксиданты-антиоксиданты и пути медикаментозной коррекции / А.Г. Чучалин // Пульмонология. – 2004. – №2. – С. 111–115.
11. AIDS epidemic update. – UNAIDS/WHO, december 2003. – P. 3–28.
12. Apers L. Accuracy of routine diagnosis of pulmonary tuberculosis in an area high HIV prevalence / L. Apers, C. Wijarajah, J. Mutsvangwa // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2004. – V. 8, №8. – P. 945–951.
13. Halliwell B. Free radical in Biology and Medicine / B. Halliwell, M.C. Yutteridge – Oxford: Clarendon press, 1999. – 320 p.

Відомості про авторів:

Растворов О.А., к. мед. н., доцент каф. фтизіатрії і пульмонології ЗДМУ.

Абрамов А.В., д. мед. н., професор, начальник ЦНДЛ ЗДМУ.

Беленичев І.Ф., д. біол. н., професор, зав. каф. фармакології та медичної рецептури, зав. відділу біохімії та експериментальної фармакології ЦНДЛ ЗДМУ.

Ясінський Р.М., магістрант каф. фтизіатрії і пульмонології ЗДМУ.

Жернова Г.О., мол. наук. співробітник ЦНДЛ ЗДМУ.

Біла Ю.В., мол. наук. співробітник ЦНДЛ ЗДМУ.

Клевцова М.Г., зав. клініко-діагностичною лабораторією КУ «Центр СНІД» ЗОР.

Адреса для листування:

Ясінський Роман Миколайович. 69035, м. Запоріжжя, вул. Перемоги, 93, 126.

Тел.: (097) 819 91 35.

E-mail: yarn85@mail.ru