

**ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО
СОСТОЯНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ
ГРАНУЛОЦИТОВ И МОНОЦИТОВ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭКСПРЕССИИ ИМИ
РЕЦЕПТОРОВ К γ -ИНТЕРФЕРОНУ У БОЛЬНЫХ
МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ
ЛЕГКИХ**

*И.Ф. Ильинская, Ю.А. Матвиенко, В.Н. Петушкіна,
А.С. Фирсова, Т.В. Задворный*

Изучено функциональное состояние гранулоцитов и моноцитов 20 здоровых лиц и 38 больных МРТБ в зависимости от экспрессии этими клетками рецепторов к гамма-интерферону (IFN- γ R1). Показано, что при МРТБ не всегда уменьшение плотности экспрессии IFN- γ R1 на фагоцитах сопровождается угнетением их функциональной активности и наоборот. Сделан вывод о том, что свидетельством активирующего влияния IFN- γ на гранулоциты и моноциты при референтных и пониженных значениях плотности экспрессии IFN- γ R1 этими клетками выступает усиление их поглотительной способности и продукции ими активных форм кислорода, тогда как высокая плотность экспрессии рецепторов к IFN- γ фагоцитами в случае снижения их функциональной активности может обуславливаться недостаточным содержанием данного цитокина либо из-за угнетения его продукции, либо вследствие связывания растворимыми лигандами. Выяснение этих механизмов требует проведения дальнейших исследований.

**THE FUNCTIONAL STATE FEATURES
OF CIRCULATING GRANULOCYTES
AND MONOCYTES, DEPENDING ON
THE EXPRESSION OF INTERFERON- γ
RECEPTORS IN PATIENTS WITH
MULTIDRUGRESISTENT PULMONARY
TUBERCULOSIS**

*I.F. Ilinskaya, Yu.A. Matvienko, V.N. Petushkina,
A.S. Firsova, T.V. Zadvornov*

The functional state of granulocytes and monocytes of 20 healthy individuals and 38 patients with multidrugresistant pulmonary tuberculosis (MRTB) depending on the phagocytes expression of interferon-gamma receptors (IFN- γ R1) was studied. It was demonstrated that at MRTB decrease of the density of IFN- γ R1 expression on phagocytes didn't always accompanied by inhibition of their functional activity and vice versa. It was concluded that the testimony of activating IFN- γ influence on granulocytes and monocytes with the reference and low densities of IFN- γ R1 expressing are absorbency strengthening and increasing of reactive oxygen production of these cells, whereas high-density phagocytes expression of IFN- γ R1 expressing in the case of a decrease of their functional cell activity may be caused by deficient of this cytokine because of depression of its production or binding by soluble ligands. Elucidation of these mechanisms requires further investigation.

УДК 616.21:616.15-08

**Н.В. Гринь, Ю.Б. Бурлака,
Ю.В. Шукліна, С.В. Верьовка**

**ОЦІНКА ДІАГНОСТИЧНОЇ ЦІННОСТІ
ВИЗНАЧЕННЯ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ
В КРОВІ ХВОРИХ НА ЗАПАЛЬНІ
ТА ОНКОЛОГІЧНІ ЗАХВОРЮВАННЯ
ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ**

*ДУ "Інститут отоларингології
імені професора О.С. Коломійченка НАМН України",
Лабораторія біохімії, відділ запальних захворювань
та відділ онкопатології ЛОР-органів*

Стрімке розповсюдження онкологічних захворювань ставить на порядок денний питання про можливість швидкого виявлення захворювання на якомога ранній стадії та тлі різноманітних, в першу чергу — хронічних запальних — захворювань. Один з можливих підходів до вирішення цього питання полягає в порівняльній оцінці дисбалансу білкового обміну та з'ясування відмін, притаманних онко- та запальним захворюванням. Відомо, що в основі процесів білкового обміну лежить постійний розпад білкових молекул до вільних амінокислот та біосинтез з них нових білків. Запальним та онкологічним процесам притаманне істотне порушення цих процесів, що призводить до функціонально неумовленого накопичення проміжних та утворення нетипових метаболітів [1, 5, 7–9]. Подібні зміни відіграють істотну роль в перебігу багатьох хвороб, а їх визначення може мати діагностичне та прогностичне значення [12, 13, 17, 18, 20]. Зокрема, процесам злоякісного новоутворення та запальним захворюванням притаманне істотне порушення процесів білкового обміну, що призводить до формування амінокислотного дисбалансу, зумовленого змінами активності реакцій протеолізу та транспорту амінокислот [2]. Це, в свою чергу, впливає як на біосинтез білків, так і на процеси метаболізму амінокислот [1, 11, 14, 16, 19]. Вільні амінокислоти та їх похідні є ендогенними регуляторами активності процесів проліферації та диференціювання злоякісних клітин, окремі ж метаболіти цих сполук здатні індукувати репрограмування дефектних клітин та апоптоз [9, 10]. Тому постійна увага дослідників до процесів обміну амінокислот, їх розподілу в тканинах та рідинах організму за онкозахворювань є цілком зрозумілою. Досліджено процеси

розподілу та перетворень амінокислот в кількох типах пухлин [3]. В новоутвореннях виявлено зниження активності ферментів катаболізму амінокислот, що призводить до виснаження ендогенного фонду амінокислот та виникнення негативного азотистого балансу, що поглиблюються через зміну перебігу реакцій протеолізу та транспорту амінокислот [4]. При цьому основні методи терапії злоякісних захворювань (хірургічний, променевий, хіміотерапевтичний) не лише не усувають амінокислотний дисбаланс в організмі хворого, але й поглиблюють його, що негативним чином впливає на ефективність лікування [6]. Не менш інформативним видається визначення вільних амінокислот в крові хворих на онкозахворювання. Показано, що вміст та розподіл амінокислот в плазми крові хворих на злоякісні новоутворення різної локалізації можуть бути інформативним критерієм щодо тяжкості захворювання [4, 15]. Водночас лишається відкритим питання про інформативну цінність цих показників за запальних захворювань, зокрема — щодо можливостей диференціювання досить подібних за механізмами порушення процесів обміну запальних та онкологічних захворювань. Тому видавалось за доцільне дослідити вміст та розподіл вільних амінокислот в крові хворих на онкологічні та запальні захворювання верхніх дихальних шляхів, провести їх порівняння з відповідними показниками групи здорових осіб, з'ясувати інформаційну цінність визначення вмісту вільних амінокислот в плазмі крові хворих для прогнозу перебігу запальних та онкозахворювань верхніх дихальних шляхів. При цьому особливої уваги приділено питанню вірогідності та можливого діагностичного значення відмін між онкологічною патологією та запальними захворюваннями.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліджено вміст вільних амінокислот та аміаку в сироватці крові 27 хворих на хронічний тонзиліт, 5 хворих з викривленням носової пе-

ретинки, 15 пацієнтів на рак верхніх дихальних шляхів, із них у 10 діагностовано II-гу стадію захворювання, а у 5 — III-тю стадію. Контролем слугували 10 практично здорових осіб.

Об'єктом дослідження була сироватка крові, яку отримували шляхом центрифугуванням крові при частоті обертання 4000 об./хв протягом 20 хв в центрифугі NF-200. Для осадження білків до сироватки крові додавали 3% розчин сульфосаліцилової кислоти у співвідношенні 1:1, перемішували та центрифугували 20 хвилин при частоті обертання 5000 об./хв в центрифугі NF-200. Для аналізу відбирали 1 мл надосадкової рідини. Кількість 19 вільних амінокислот та аміаку визначали на автоматичному аналізаторі амінокислот Т-339 ("Microtechno", Чехія).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням t-критерія Ст'юдента, достовірною вважали різницю $p < 0,05$. Показники амінокислот, що не відповідали вимозі достовірності відміни від норми, не наводяться.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Внаслідок проведеного дослідження виявлено відміни в розподілі амінокислот, що корелюють з видом та стадією хвороби та можуть бути застосовані для оцінки її перебігу. Тобто вміст окремих амінокислот може слугувати інформативними показниками для оцінки перебігу патології. Так, згідно даних, наведених в табл. 1, для об'єднаної групи хворих на хронічний тонзиліт вірогідні відміни від норми спостерігались за 5 амінокислотами та аміаком. З метою урахування можливого впливу молекулярних відмін на наявність чи відсутність ускладнень хворих на хронічний тонзиліт додатково було поділено на такі групи: хворі, що мали рецидиви ангін 3–5 разів на рік та субфібрилітет без супутніх захворювань (14 осіб); 5 пацієнтів мали в анамнезі паратонзиллярні абсцеси; 5 — кровотечі під час операції або в післяопераційному періоді (табл. 2). Показники хворих з викривленням

Таблиця 1

Концентрація вільних амінокислот та аміаку (мкМ, $M \pm m$) в сироватці крові хворих на хронічний тонзиліт

Групи	Орнітин	Аспарагінова кислота	Глутамінова кислота	Пролін	Тирозин	Аміак
Хворі (n=28)	97,5±7,6	16,9±1,5	66,7±5,3	113,7±10,9	49,9±5,1	325,7±28,1
Контрольна група (n=10)	54,2±4,3	7,6±0,7	46,1±3,9	159,0±15,1	84,5±5,3	123,9±10,5

Концентрація вільних амінокислот та аміаку в сироватці крові хворих на хронічний тонзиліт (мкМ, $M \pm m$)

Групи обстежених	Орнітин	Аспарагінова кислота	Глутамінова кислота	Пролін	Цистин	Тирозин	Аміак
Хронічний тонзиліт без супутніх захворювань (n=14)	85,5±8,1 p<0,01	14,1±2,2 p<0,02	66,1±6,6 p<0,02	94,2±10,8 p<0,01	91,3±10,4*	45,4±5,0 p<0,001	304,9±33,2 p<0,001
Хворі на хронічний тонзиліт з супутніми захворюваннями:							
Кровотечі під час операції або в післяопераційному періоді (n=5)	89,5±11,6 p<0,02	19,9±2,4 p<0,001	68,0±18,5*	102,8±11,7 p<0,01	93,4±9,5 p<0,05	48,9±13,2 p<0,05	317,7±44,0 p<0,001
Паратонзиллярні абсцеси в анамнезі (n=5)	109,6±13,8 p<0,01	15,5±1,7 p<0,001	71,8±15,6*	158,3±44,0*	80,8±12,3*	54,2±18,6*	414,9±112,5 p<0,05
Контрольна група (n=10)	54,2±4,3	7,6±0,8	46,1±4,0	159,2±15,1	68,3±6,6	84,5±5,3	123,9±10,5

Примітка. p — достовірність різниці між відповідними даними у хворих та здорових осіб; * — відміни від рівня норми статистично невірні (p>0,2).

носової перетинки також виділено в окрему групу (табл. 3).

Як випливає з даних, наведених в табл. 2 та 3, розглянуті різновиди хронічних запалень верхніх дихальних шляхів істотно відмінні між собою не лише за перебігом хвороби, але й за молекулярним складом вільних амінокислот в сироватці крові. Загальною рисою всіх розглянутих випадків є підвищений порівняно до рівня норми вміст орнітину, аспарагінової кислоти та аміаку, за цими показниками спостерігаються істотні відміни між окремими групами хворих. В той же час виявлено окремі амінокислоти, чий підвищений вміст притаманний лише окремим з розглянутих різновидів хронічних запальних захворювань.

Дослідження вмісту вільних амінокислот в сироватці крові хворих на онкозахворювання

верхніх дихальних шляхів також дало змогу виявити істотні відміни від норми. Отримані дані розділені на дві групи, відповідно до стадії хвороби. Як випливає з даних табл. 4, для II стадії хвороби спостерігаються вірогідні відміни від рівня норми за 9 амінокислотами та аміаком.

Показники рівня вільних амінокислот при III стадії онкозахворювань ЛОР-органів істотно відрізнялись від II стадії (табл. 5). Для III стадії характерна менша кількість вільних амінокислот, чий вміст вірогідно відрізняється від рівня норми. Всі ці відміни свідчать про глибоке порушення процесів обміну білків та вільних амінокислот, що становлять невід'ємну молекулярну складову онкопатології.

Закономірно повстає питання — наскільки істотними є відміни рівня вільних амінокислот між групами хворих з хронічними запальними

Таблиця 3

Концентрація вільних амінокислот та аміаку (мкМ, $M \pm m$) в сироватці крові хворих з викривленням носової перетинки

Групи	Орнітин	Аспарагінова кислота	Глутамінова кислота	Лізін	Лейцин	Фенілаланін	Аміак
Хворі (n=14)	129,2±26,5 p<0,02	32,3±3,1 p<0,001	110,5±17,8 p<0,01	214,4±24,0 p<0,05	176,1±17,6 p<0,001	72,9±9,7 p<0,01	276,0±33,3 p<0,001
Група контролю (n=10)	54,2±4,3	7,6±0,8	46,1±4,0	149,3±11,4	88,4±8,6	41,9±2,3	123,9±10,5

Примітка. p — достовірність різниці між відповідними даними у хворих та здорових осіб.

Концентрація вільних амінокислот та аміаку в сироватці крові хворих з II стадією онкологічних захворювань ЛОР-органів (мкМ, M±m)

Групи обстежених	Орнітин	Аспарагінова кислота	Глутамінова кислота	Лізин	Лейцин	Серин	Цистин	Феніл-аланін	Тирозин	Аміак
Рак гортані II стадія (n=14)	113,2±15,1 p<0,01	26,3±4,2 p<0,001	113,2±13,6 p<0,001	196,3±18,7 p<0,05	121,4±7,9 p<0,02	119,9±11,5 p<0,05	108,9±16,1 p<0,05	64,0±4,3 p<0,001	57,2±8,0 p<0,02	311,9±23,7 p<0,001
Контрольна група (n=10)	54,2±4,3	7,6±0,8	46,1±4,0	149,3±11,4	88,4±8,6	88,6±8,9	68,3±6,6	41,9±2,3	84,5±5,3	123,9±10,5

Примітка. p — достовірність різниці між відповідними даними у хворих та здорових осіб.

Концентрація вільних амінокислот та аміаку в сироватці крові хворих з III стадією онкологічних захворювань ЛОР-органів (мкМ, M±m)

Групи обстежених	Лізин	Орнітин	Аспарагінова кислота	Глутамінова кислота	Гліцин	Цистин	Лейцин	Тирозин	Феніл-аланін	Аміак
Рак гортані III стадія	185,0±8,9 p<0,05	105,0±5,3 p<0,001	23,7±2,5 p<0,001	109,7±15,9 p<0,01	279,2±32,3 p<0,05	104,9±13,2 p<0,05	126,9±10,1 p<0,01	62,7±8,9 p<0,05	67,8±1,9 p<0,01	289,9±22,8 p<0,001
Контрольна група	149,3±11,4	54,2±4,3	7,6±0,8	46,1±4,0	197,6±14,7	68,3±6,6	88,4±8,6	84,5±5,3	41,9±2,3	123,9±10,5

Примітка. p — достовірність різниці між відповідними даними у хворих та здорових осіб.

та онкологічними хвороби ЛОР-органів. Як впливає з даних, наведених в табл. 6, між показниками хворих на хронічний тонзиліт без супутніх захворювань та хворих на II стадію онкозахворювань ЛОР-органів спостерігаються істотні та статистично вірогідні відміни за цілою низкою амінокислот.

Отримані дані свідчать про те, що як онкологічним, так і хронічним запальним захворюванням ЛОР-органів притаманні істотні порушення процесів обміну білків та амінокислот. Виявлені відміни від норми вірогідно залежать як від виду,

так і від стадії хвороби та можуть слугувати вірогідним інформативним критерієм щодо наявності та виду хвороби. Варто підкреслити, що попередня обробка дослідницького матеріалу та переведення його в придатну для тривалого зберігання форму не потребують скільки-небудь складного обладнання, що відсутнє в сучасній дослідницькій чи клінічній лабораторії. Щоправда, тривалість хроматографічного визначення істотно ускладнює проведення скільки-небудь масового дослідження, не кажучи вже про масовий моніторинг населення з метою виявлення

Концентрація вільних амінокислот в сироватці крові хворих з II стадією онкологічних захворювань ЛОР-органів (мкМ, M±m)

Групи обстежених	Аргінін	Аспарагінова кислота	Глутамінова кислота	Пролін	Аланін	Феніл-аланін
Хронічний тонзиліт без супутніх захворювань	50,8±4,8 p<0,05	14,1±2,2 p<0,02	66,1±6,6 p<0,01	94,2±10,8 p<0,01	304,4±25,1 p<0,02	48,0±3,8 p<0,02
Рак гортані II стадія	87,2±16,3	26,3±4,2	113,2±13,6	169,4±21,8	433,7±40,7	64,0±4,3

Примітка. p — достовірність різниці між групами хворих.

онкопатології на ранніх доклінічних стадіях. Однак можливість визначення вмісту і розподілу вільних амінокислот методами мас-спектрометрії протягом кількох секунд дають змогу ефективно вирішити цю, поза всяк сумнів вагому та соціально значиму проблему. До переваг подібного підходу належить й можливість тривалого зберігання та можливість транспортування зразків після осадження білків сульфосаліциловою кислотою. Тож визначення вмісту та розподілу вільних амінокислот в крові видаються перспективними з точки зору оцінки наявності хвороби, її виду, стадії та можливостей ускладнень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Афанасьєва А.Н., Одицова И.Н., Удут В.В. Синдром эндогенной интоксикации и система воспалительного ответа: общность и различия // *Анестезиол. и реаниматология*. — 2007/ — № 4. — С. 67–71.
2. Березов Т.Т. Метаболизм аминокислот и злокачественный рост // *Вестн. АМН СССР*. — 1982. — № 9. — С. 19–24.
3. Березов Т.Т. Обмен аминокислот нормальных тканей и злокачественных опухолей. — М.: Медицина, 1969. — 224 с.
4. Глазев А.А. Нефедов Л.И. Аминокислоты и их дериваты как показатели метаболического дисбаланса при злокачественных новообразованиях // *Мед. новости*. — 2000. — № 7. — С. 9–13.
5. Заболотний Д.І., Кизим О.Й., Вєрвока С.В. Патологічні ефекти інтоксикації клітинних мембран ендогенними пептидами (огляд літератури і власних досліджень) // *Журн. НАМН України*. — 2011. — 17, № 3. — С. 201–207.
6. Западнюк В.И., Купраш Л.П., Заика М.С. Аминокислоты в медицине. — К.: Здоров'я, 1982. — 200 с.
7. Карамышева А.Ф. Механизмы ангиогенеза // *Биохимия*. — 2008. — Т. 73, № 7. — С. 935–948.
8. Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (Обзор литературы) // *Клин. лаб. диагностика*. — 2004. — № 3. — С. 3–8.
9. Нефедов Л.И. Результаты и перспективы применения аминокислот и их производных в качестве универсальных природных регуляторов обмена веществ и новых лекарственных препаратов // *Мед. новости*. — 2000. — № 7. — С. 9–13.
10. Bender D.A. *Amino acid metabolism*. — N.-Y.: J. Willey & Sons, 1975. — 234 p.
11. Kohno M., Hori K., Hoshino U., Ikuta Y. et al. Free amino acids // *Nippon Rinsho*. — 1995. — Vol. 53, № 1. — P. 481–485.
12. Lance A., Liotta L.A., Petricoin E.F. Serum peptidome for cancer detection: spinning biologic trash into diagnostic gold // *The Journal of Clinical Investigation*. — 2006. — Vol. 116, № 1. — P. 26–30.
13. Ling S.-L., Chan D. Enzymes and related proteins as cancer biomarkers: a proteomic approach // *Clin. Chim. Acta*. — 2007. — Vol. 381. — P. 93–97.
14. Lubec C., Rosental J.A. *Amino Acids (Chemistry, Biology, Medicine)*. — N.-Y.: Escom, 1990. — 1196 p.
15. Miyagi Y., Higashiyama M., Gochi A., Akaike M., Ishikawa T., Miura T. Plasma free amino acid profiling of fivetypes of cancer patients and its application for early detection // *PLoS ONE*. — 2011. — Vol. 6, № 9. — P. 24–43.
16. Nyhan W.L. *Abnormalities in Amino Acid Metabolism in Clinical Medicine*. — Connecticut: Nerevalk, 1984. — 250 p.
17. Ocak S., Sos M., Thomas R., and Massion P. High-throuput molecular analysis in lung cancer: insight into biology and potential clinical applications // *Eur. Respir. J.* — 2009. — Vol. 34, № 2. — P. 489–506.
18. Ocak S., Stuart S., Ausborn J., Friedman D., Massion P. Identification of membrane-associated proteins as a new candidate biomarkers of small-cell lung cancer / *Abstracts of 20-th ERS Annual Congress, Barcelona, Spain, 18–20 September 2010* // *Eur. Respiratory Journ.* — 2010. — Vol. 36, Suppl. 54. — № 1944.
19. Sasaki T. New anti-cancer drugs for gastrointestinal cancers // *Can. To. Kagaku. Ryoho*. — 1997. — Vol. 13, № 24. — P. 1925–1931.
20. Verevka S.V. Peptide contamination of cell membranes in etiology of chronic noninfectious diseases / in: *Advances in Medicine and Biology (Berhardt L.V., Ed.)*, Nova Science Publishers, NY, 2012, Vol. 56, P. 157–172.

ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В КРОВИ БОЛЬНЫХ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ И ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Н.В. Гринь, Ю.Б. Бурлака,
Ю.В. Шуклина, С.В. Вєрєвка

Исследовано содержание свободных аминокислот и аммиака в крови групп больных с хроническим тонзиллитом, с искривлением носовой перегородки и с раком верхних дыхательных путей. Обнаружены достоверные отличия, зависящие от вида болезни, ее стадии и наличия осложнений. Обговариваются полученные результаты.

ON DIAGNOSTIC VALUE OF CONTENT AND DISTRIBUTION OF FREE AMINO ACIDS IN BLOOD OF PATIENTS WITH INFLAMMATORY AND ONCOLOGIC DISEASES OF UPPER RESPIRATORY TRACT

N.V. Gryn', Yu.B. Burlaka,
Yu.V. Shuklina, S.V. Verevka

The groups of patients with chronic tonsillitis, with deviation of nasal septum, and with cancer of upper respiratory tract, were studied for content of free amino acids in blood. It were detected reliable differences dependent of the kind of disease, its stage and complications. Obtained results are discussed.