

## Стан перекисного окислення білків при хіміорезистентному туберкульозі та СНІД-асоційованому туберкульозі

Р.М.Ясінський, О.М.Разнатовська, О.А.Растворов

Запорізький державний медичний університет, кафедра фтизіатрії і пульмонології  
Запоріжжя, Україна

Визначали та порівнювали стан перекисного окислення білків (ПОБ) при хіміорезистентному туберкульозі, СНІД-асоційованому туберкульозі, туберкульозі зі збереженою чутливістю до препаратів. Визначали маркери ПОБ в плазмі за методикою В.Halliwel. У надосадовій рідині визначали ступінь фрагментації окислених білків. Встановили, що при хіміорезистентному туберкульозі та СНІД-асоційованому туберкульозі відзначається зростання маркерів спонтанної окислювальної модифікації білків та раннього маркера індукованої модифікації. При туберкульозі та СНІД-асоційованому туберкульозі показники дефрагментації вищі, ніж при хіміорезистентному туберкульозі та в контролі. При СНІД-асоційованому туберкульозі індуковане окислення перевищує рівні дефрагментації при туберкульозі та хіміорезистентному туберкульозі. Тобто, при ко-інфекції чи розвитку хіміорезистентності поглиблюється окислювальний стрес та починається зрив компенсаторних резервів організму.

**Ключові слова:** хіміорезистентний туберкульоз, СНІД-асоційований туберкульоз, перекисне окислення білків.

### ВСТУП

Туберкульоз у хворих на ВІЛ/СНІД в наш час є найбільш частою супутньою інфекцією, і саме ВІЛ/СНІД став одним з факторів зростання епідемії туберкульозу у світі [1, 13]. Сполучення туберкульозу з ВІЛ/СНІДом особливо актуальне для України, де відзначаються як взаємне перехресне інфікування, так і рекордно

високі темпи поширення обох інфекцій [1]. На цьому тлі існує ще проблема хіміорезистентного туберкульозу. Україну віднесено до 27 країн світу, в яких зосереджено 85% усього тягаря мультирезистентного туберкульозу, і вона посідає 4 місце у світі за його поширеністю серед хворих з новими випадками захворювання [8].

У разі потрапляння МБТ до організму і взаємодії їх з макрофагами, крім того, що відбувається активація різних ланок імунної системи, активується система вільнорадикального перекисного окислення (ВРПО) та антиоксидантного захисту організму (АЗО), система протеази – інгібітори протеаз, калікреїн-кінінова система, система гемостазу та інші [6, 12]. Під дією інфекційного агента фагоцити починають продукувати активні форми кисню (АФК), значне зростання яких стримується антиоксидантною системою організму (АСО), і в нормі існує баланс АФК/АСО, з переважанням АСО [7].

У разі інтенсифікації ВРПО починається пошкодження білків, ліпідів та нуклеїнових кислот власних тканин організму. Крім цього, АФК активують медіатори запалення, що ще більше ускладнює перебіг захворювання. У літературі багато робіт присвячено перекисному окисненню ліпідів (ПОЛ), та наряду із цим слід відзначити вагомий вплив у розвитку змін у різних органах, пов'язаних з утворенням продуктів окислювальної модифікації білків (ОМБ) або перекисного окислення білків (ПОБ). Багатьма дослідженнями підтверджується, що саме окисна модифікація білків є первинною [4, 5, 9, 11]. Продукти ПОБ у подальшому стимулюють ПОЛ, окислювальне пошкодження ДНК, порушення ферментативних процесів в організмі, порушення функціонування іонних каналів та рецепторів клітин, крім того, вони самі мають виражені цитотоксичні дії. Окислювальна модифікація білків пов'язана зі зміною їхньої структурної організації, супроводжується фрагментацією з

утворенням низькомолекулярних компонентів. Продукти фрагментації окислювальних білків, або молекули середньої маси (МСМ), як і самі модифіковані білки, являються надзвичайно реакційно здатними та виступають в ролі маркерів ендогенної інтоксикації [4, 5, 9, 11].

При туберкульозному запаленні відбувається інтенсифікація ВРПО та активація системи АЗО, а при прогресуванні процесу настає дисбаланс в бік ВРПО [6]. Відзначений чіткий зв'язок між зростанням продуктів ВРПО в крові хворих на туберкульоз і інші захворювання легень та поширенням і розмірами деструкцій у легеневій тканині та тяжкістю процесу [2]. При ВІЛ-інфекції також відмічається наростання ВРПО та досить слабкий ефект від антиретровірусної терапії без призначення антиоксидантів [7]. При ко-інфекції відзначається більш виражене зростання рівня малонового діальдегіду на всіх стадіях захворювання в порівнянні з хворими лише на ВІЛ-інфекцію [10]. Досліджень стану ОМБ при ко-інфекції та при хіміорезистентному туберкульозі в літературі не приділялось достатньої уваги.

Метою дослідження було визначити та порівняти стан перекисного окислення білків при хіміорезистентному та СНІД-асоційованому туберкульозі.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 51 пацієнта, які знаходилися на лікуванні в КУ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер» ЗОР та в «Центрі СНІДу» ЗОР. Обстеження проводилося на початку лікування. Хворих розподілили на три групи: до 1 групи увійшло 16 пацієнтів з вперше діагностованим хіміорезистентним туберкульозом (ХРТБ); до 2 групи — 16 хворих на СНІД-асоційований туберкульоз (СНІД/ТБ) (у всіх пацієнтів кількість клітин  $CD_4$  менша 200); до 3 групи — 19 пацієнтів з вперше діагностованим туберкульозом (ТБ) зі збереженою чутливістю до протитуберкульозних препаратів. Контрольну групу склали 33 практично здорові особи.

Серед хворих 1 групи (ХРТБ) 11 чоловіків та 5 жінок. Середній вік складав  $45,5 \pm 3,7$  року. В усіх пацієнтів виявлено туберкульозне ураження легень. Інфільтративна форма мала місце в 11 (68,8%) випадках, дисемінована — у 3 (18,8%), фіброзно-кавернозна — у 2 (12,4%). Усі пацієнти були бактеріовиділювачами (11 хворих, або 100%) та мали деструкції в легенях (11 хворих, або 100%). Монорезистентність відзначе-

на у 3 (18,8%) хворих, полірезистентність — у 7 (43,8%), мультирезистентність — у 5 (31,3%), а в 1 (6,1%) пацієнта — розширена резистентність.

Серед хворих 2 групи (СНІД/ТБ) також було 11 чоловіків та 5 жінок. Середній вік пацієнтів склав  $35,3 \pm 1,5$  року. В 11 (68,8%) хворих виявлено туберкульозне ураження легень, у 5 (31,2%) — позалегенові локалізації туберкульозу. Серед легеневих форм уражень зустрічалися: інфільтративна — 6 (54,5%) випадків, дисемінована — 3 (27,3%), вогнищева — 2 (18,2%). Серед позалегенових локалізацій було туберкульозне ураження лімфатичних вузлів у 3 випадках та ураження плеври у 3 пацієнтів. Бактеріовиділювачів було 6 (37,5%), а деструкції мали 4 (25%) хворих.

Серед хворих 3 групи (ТБ) було 10 чоловіків та 9 жінок. Середній вік пацієнтів склав  $40,2 \pm 3,0$  року. В усіх пацієнтів виявлено туберкульозне ураження легень. Інфільтративна форма мала місце в 11 (57,9%) випадках, дисемінована у 8 (42,1%). Бактеріовиділювачів серед них було 13 (68,4%), деструкції мали 14 (73,7%) хворих.

У контрольній групі було 19 чоловіків та 14 жінок, середній вік яких склав  $23,0 \pm 0,51$  року.

Для визначення стану ПОБ у всіх пацієнтів і осіб контрольної групи ранком натще брали кров з кубітальної вени в кількості 10 мл. У подальшому визначали загальний білок згідно з інструкцією. В якості маркерів ОМБ визначали в плазмі ранній — альдегідфенілгідрозон (АФГ) та пізній — кетонфенілгідрозон (КФГ) її маркери, спонтанні (АФГсп, КФГсп) та залізоіндуковані (АФГін, КФГін) за методикою В. Halliwell. У надосадовій рідині визначали ступінь фрагментації окислених білків [3, 14]. Обстеження всіх хворих на туберкульоз проводили при госпіталізації. Ці дослідження проводилися на базі біохімічного відділу Центральної науково-дослідницької лабораторії Запорізького державного медичного університету (ЦНДЛ ЗДМУ).

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Достовірно вищі показники маркерів спонтанної ОМБ в порівнянні з контролем відмічені у хворих на ХРТБ (таблиця 1), тенденція до їх зростання прослідковується і у пацієнтів зі СНІД/ТБ, у хворих на ТБ зі збереженою чутливістю до протитуберкульозних препаратів встановили достовірно нижчі показники, ніж в контрольній групі. Найвищий рівень продуктів спонтанної ОМБ був при ХРТБ: достовірно вищий для АФГсп в порівнянні зі СНІД/ТБ та ТБ; для КФГсп — в порівнянні з ТБ. При

ТАБЛИЦЯ 1

Маркери ОМБ при ХРТБ, СНІД/ТБ, ТБ та в контролі

	1 група (ХРТБ)	2 група (СНІД/ТБ)	3 група (ТБ)	Контроль	Р
АФГсп, опт.щільн./г білка	4,923±0,083	4,003±0,351	2,903±0,096	3,721±0,181	P <sub>1-2</sub> <0,05 P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>1-к</sub> <0,001 P <sub>2-3</sub> <0,005 P <sub>3-к</sub> <0,005
АФГін, опт.щільн./г білка	10,571±0,561	6,85±0,368	6,629±0,28	6,308±0,227	P <sub>1-2</sub> <0,001 P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>1-к</sub> <0,001
КФГсп, опт.щільн./г білка	3,121±0,062	2,55±0,271	1,825±0,087	2,278±0,137	P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>1-к</sub> <0,001 P <sub>2-3</sub> <0,05 P <sub>3-к</sub> <0,05
КФГін, опт.щільн./г білка	2,611±0,199	2,635±0,311	2,636±0,256	2,778±0,192	

СНІД/ТБ рівень продуктів спонтанної ОМБ був достовірно вищий, ніж при ТБ.

У рівнях раннього маркера індукованої ОМБ – АФГін – спостерігалися схожі закономірності: максимальне значення при ХРТБ, при СНІД/ТБ – вище, ніж при ТБ. У рівнях пізнього маркеру індукованої ОМБ – КФГін – відмінностей між групами практично не відзначено.

Можливо, при туберкульозі існують компенсаторні механізми захисту, що дозволяють

стримувати окислювальний стрес. При ко-інфекції СНІД/ТБ, ХРТБ створюються умови для поглиблення окислювального стресу, зриву компенсаторних можливостей організму. Але в умовах ко-інфекції вираженість окислювального стресу зменшена, мабуть, через пригнічення імунної системи.

У хворих на ТБ та СНІД/ТБ рівень продуктів спонтанної дефрагментації окислено модифікованих білків достовірно вищий,

ТАБЛИЦЯ 2

Маркери дефрагментації білків при ХРТБ, СНІД/ТБ, ТБ та у контролі

	1 група (ХРТБ)	2 група (СНІД/ТБ)	3 група (ТБ)	Контроль	Р
Дефрагментація сп 254 нм, у.о.	0,282±0,028	0,326±0,021	0,404±0,013	0,274±0,014	P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>2-3</sub> <0,005 P <sub>2-к</sub> <0,05 P <sub>3-к</sub> <0,001
Дефрагментація сп 272 нм, у.о.	0,198±0,021	0,221±0,019	0,311±0,03	0,164±0,012	P <sub>1-3</sub> <0,01 P <sub>2-3</sub> <0,05 P <sub>2-к</sub> <0,05 P <sub>3-к</sub> <0,001
Дефрагментація сп 280 нм, у.о.	0,211±0,023	0,222±0,019	0,316±0,029	0,158±0,011	P <sub>1-3</sub> <0,05 P <sub>1-к</sub> <0,05 P <sub>2-3</sub> <0,05 P <sub>2-к</sub> <0,01 P <sub>3-к</sub> <0,001
Дефрагментація ін 254 нм, у.о.	3,759±0,039	3,296±0,171	2,724±0,073	3,68±0,141	P <sub>1-2</sub> <0,05 P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>2-3</sub> <0,005 P <sub>3-к</sub> <0,001
Дефрагментація ін 272 нм, у.о.	2,128±0,053	2,23±0,097	1,991±0,063	2,676±0,071	P <sub>1-к</sub> <0,001 P <sub>2-3</sub> <0,05 P <sub>2-к</sub> <0,001 P <sub>3-к</sub> <0,001
Дефрагментація ін 280 нм, у.о.	1,592±0,039	1,79±0,069	1,618±0,065	2,081±0,058	P <sub>1-2</sub> <0,05 P <sub>1-к</sub> <0,001 P <sub>2-к</sub> <0,005 P <sub>3-к</sub> <0,001

ніж в контрольній групі та у хворих на ХРТБ (табл. 2).

У хворих на ТБ спонтанна дефрагментація білків була найбільшою і достовірно відрізнялась від показників у хворих на ХРТБ і пацієнтів зі СНІД/ТБ, а також від контролю. У хворих на СНІД/ТБ ці показники були дещо нижчими, у хворих на ХРТБ — ще меншими, але вони також перевищували спонтанну дефрагментацію білків у контролі.

Зниження рівня спонтанної дефрагментації білків у хворих на ХРТБ, пацієнтів зі СНІД/ТБ порівняно з хворими на ТБ можливо пояснити деякими моментами. Можливим механізмом може бути зниження формування низькомолекулярних пептидів унаслідок пригнічення можливостей імунної системи реагувати за механізмом «кисневого вибуху», що зменшує кількість розривів дисульфідних зв'язків, по яким відбувається окислення, що, в свою чергу, знижує прояви ендотоксикозу. Також не можна виключити можливість того, що окислені олігопептиди через свою активність взаємодіють між собою та утворюють агрегати молекул, які підлягають швидкому протеолізу, що підвищує рівень ендотоксикозу. У хворих на ТБ компенсаторні можливості системи АОЗ збережені більшою мірою, ніж у хворих на ХРТБ і СНІД/ТБ, що і сприяє на початковому етапі розвитку хвороби більш значному накопиченню продуктів протеолізу, що і підвищує рівень дефрагментації білків.

У рівнях продуктів індукованої дефрагментації окислених білків була дещо інша ситуація. Майже усі показники були нижчими за контрольні значення. У найменшій мірі зниження індукованої дефрагментації білків спостерігалося при СНІД/ТБ. При ХРТБ і ТБ ситуація була дещо неоднозначною — при різних довжинах хвиль переважали показники то у хворих на ТБ, то у пацієнтів з ХРТБ. Таку ситуацію можливо пояснити виснаженням компенсаторних можливостей захисту при підвищеному рівні спонтанної ОМБ, що і призводить до того, що на індуковану модифікацію білків в стані імунодефіциту не залишається резервів АОЗ, а враховуючи той факт, що при туберкульозі ці показники нижчі за контрольні значення, у випадку приєднання ко-інфекції або появи стійкості до протитуберкульозних препаратів починається зрив компенсаторних резервів організму.

Але у хворих на СНІД/ТБ маркери дефрагментації мали вищі значення, ніж при ХРТБ та при ТБ зі збереженою чутливістю до протитуберкульозних препаратів.

## ВИСНОВКИ

При хіміорезистентному туберкульозі та СНІД-асоційованому туберкульозі відзначається зростання маркерів спонтанної окислювальної модифікації білків та раннього маркера індукованої модифікації, що свідчить про поглиблення окислювального стресу при даних захворюваннях та початок зриву компенсаторних механізмів.

При туберкульозі та СНІД-асоційованому туберкульозі показники дефрагментації спонтанно окислених білкових молекул (МСМ) вищі, ніж при хіміорезистентному туберкульозі та в контролі. При індукованому окисленні білкових молекул рівень МСМ найвищим був у контролі, а найнижчим — при туберкульозі. При хіміорезистентному туберкульозі й при СНІД-асоційованому туберкульозі він мав проміжні значення, що, можливо, свідчить про початок зриву компенсаторних резервів організму у випадку приєднання ко-інфекції або появи стійкості до протитуберкульозних препаратів.

## 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 перекисное 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. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов: Метод. рек. — Киев, 2010. — 84 с.
4. Дубинина Е.Е. Определение окислительной модификации белков / Е.Е.Дубинина, С.О.Бурмистров // Вопросы медицинской химии. — 1995. — Т. 41, № 1. — С. 24-25.
5. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е.Дубинина, А.В.Пустьгина // Український біохімічний журнал. — 2008. — Т.80, №6. — С. 5-18.
6. Каминская Г.О. Некоторые метаболические характеристики циркулирующих фагоцитов у больных с разными вариантами течения туберкулеза легких / Г.О.Каминская, Р.Ю.Абдуллаев // Проблемы туберкулеза. — 2002. — №3. — С. 38-42.
7. 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.
8. Нова тактика антимікобактеріальної терапії при підозрі на мультирезистентний туберкульоз із несприятливим перебігом / О.В.Панасюк, С.М.Антоняк,

- В.О.Панасюк [та ін.] // Інфекційні хвороби. — 2010. — №4. — С. 47-50.
9. 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.
  10. Сабанчиева Ж.Х. Клинико-прогностическое значение оценки функционально-метаболической активности лейкоцитов, среднемoleкулярных пептидов, системы прооксидантной защиты крови у больных ВИЧ-инфекцией: автореф. ... дис. на соискание науч. степени доктора мед. наук: спец. 14.00.10 «Инфекционные болезни» / Ж.Х.Сабанчиева. — Москва, 2007. — 40 [1] с.
  11. 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.
  12. Чучалин А.Г. Система оксиданты-антиоксиданты и пути медикаментозной коррекции / А.Г.Чучалин // Пульмонология. — 2004. — №2. — С. 111-115.
  13. 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. — Vol. 8. — №8. — P. 945-951.
  14. Halliwell B. Free radical in Biology and Medicine / B. Halliwell, M.C. Yutteridge — Oxford: Clarendon press, 1999. — 320 [1] p.

**Р.Н.Ясинский, Е.Н.Разнатовская, А.А.Растворов. Состояние перекисного окисления белков при химиорезистентном туберкулезе и СПИД-ассоциированном туберкулезе. Запорожье, Украина.**

**Ключевые слова:** химиорезистентный туберкулез, СПИД-ассоциированный туберкулез, перекисное окисление белков.

Определяли и сравнивали состояние перекисного окисления белков при химиорезистентном, СПИД-ассоциированном туберкулезе и туберкулезе с сохраненной чувствительностью к препаратам. Определяли маркеры перекисного окисления белков в плазме по методике В. Halliwell. В надосадочной жидкости оценивали степень фраг-

ментации окисленных белков. Выяснили, что при химиорезистентном туберкулезе и СПИД-ассоциированном туберкулезе определяется увеличение уровней маркеров спонтанной окислительной модификации белков и раннего маркера индуцированной модификации. При туберкулезе и СПИД-ассоциированном туберкулезе показатели дефрагментации выше, чем при химиорезистентном туберкулезе и в контроле. При индуцированном окислении их уровень при СПИД-ассоциированном туберкулезе превышает уровни продуктов дефрагментации при туберкулезе и химиорезистентном туберкулезе. Таким образом, при ко-инфекции или развитии химиорезистентности усиливается окислительный стресс и начинается срыв компенсаторных резервов организма.

**R.M.Yasinskiy, O.M.Raznatovska, O.A.Rastvorov. The state of peroxidation of proteins at drug-resistant tuberculosis and AIDS-associated tuberculosis. Zaporizhzhya, Ukraine.**

**Key words:** drug-resistant tuberculosis, AIDS-associated tuberculosis, peroxidation of proteins.

The state of peroxidation of proteins at drug-resistant tuberculosis, AIDS-associated tuberculosis and tuberculosis with kept sensitivity to antituberculosis drugs were determined and compared. Markers of peroxidation of proteins in plasma were determined by the method B. Halliwell. In supernatant the degree of fragmentation of oxidation proteins was determined. The increasing of markers of spontaneous oxidative modification and early marker of induced modification at drug-resistant tuberculosis and AIDS-associated tuberculosis was detected. The levels of defragmentation products at tuberculosis and AIDS-associated tuberculosis are higher, than at drug-resistant tuberculosis and control. The levels of induced defragmentation products at AIDS-associated tuberculosis are higher, than at tuberculosis and drug-resistant tuberculosis. So, in the case of accession of co-infection or the appearance of resistance to antituberculosis drugs, oxidative stress is progressing and begins disruption of compensatory reserves of the organism.

Надійшла до редакції 29.11.2011 р.