

М.А. Андрейчин, Ю.Ю. Рябоконт

ПОКАЗНИКИ ОКИСЛЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ТА ЇХ ДИНАМІКА НА ФОНІ ЛІКУВАННЯ ІМУНОФАНОМ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ГЕПАТИТ В

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського,
Запорізька обласна інфекційна клінічна лікарня

Вивчена окислювальна модифікація білків сироватки крові у хворих на гострий гепатит В (ГГВ). Показано підвищення альдегідфенілгідразонів і кетондинітрофенілгідразонів, які характеризують у випадку спонтанної окислювальної модифікації білків ступінь окислювальної деструкції білкової молекули, а при індукованій – свідчать про виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму. Застосування імунофану у хворих на ГГВ сприяє швидшому відновленню параметрів окислювальної модифікації білків, нормалізації цитолізу та елімінації вірусу гепатиту В.

Актуальність вивчення вірусних гепатитів з парентеральним механізмом зараження визначається досить високим рівнем захворюваності, тяжкістю й ризиком хронізації [1]. Відомо, що будь-який адаптивний або патологічний процес перебігає на фоні утворення активних форм кисню [2]. В умовах окисного стресу й неконтрольованої реакції активних форм кисню переважають процеси нерегульованої модифікації білків, що в кінцевому підсумку призводить до втрати їх біологічної активності, при цьому окисно модифіковані білки генерують нові антигени й негативно впливають на імунну відповідь [3]. У зв'язку із цим становить інтерес вивчення окисної модифікації білків у пацієнтів з гострими вірусними гепатитами й впливу на ці показники терапії сучасними препаратами, що володіють антиоксидантними й імуномодулювальними властивостями.

Мета роботи – вивчити інтенсивність окислювальної модифікації білків сироватки крові у хворих на гострий гепатит В і вплив терапії імунофаном на ці показники.

Матеріали і методи

Під спостереженням у відділенні вірусних гепатитів перебувало 44 хворих з жовтяничною формою ГГВ віком від 15 до 46 років (23 чоловіки й 21 жінка). ГГВ діагностували на

підставі клініко-епідеміологічних даних, біохімічних показників функціонального стану печінки, даних ультразвукового дослідження. Етіологічно діагноз підтверджено виявленням у крові HBsAg, HBeAg, anti-HBcor IgM методом імуноферментного аналізу. Всі пацієнти одержували традиційну базисну терапію (дієта 5, мезим-форте, силікс, за необхідності інфузійно-дезінтоксикаційну терапію глюкозо-сольовими розчинами). Як препарат, що діє на антиоксидантну та імунну системи організму, був обраний імунофан («Бионокс», Росія) – імунорегуляторний пептид четвертого покоління (гексапептид з молекулярною масою 836 D). Спостережувані хворі були розділені на групи: 1-а – 20 осіб, які в період ранньої реконвалесценції (з 2-3-го тижня лікування) одержали імунофан по 1,0 мл 0,005 % розчину внутрішньом'язово кожні 3 дні, на курс 10 ін'єкцій; 2-а група – 24 пацієнти, які отримували тільки базисну терапію.

Продукти окисної модифікації білків (ОМБ) у сироватці крові досліджували методом В. Halliwell, 1999 [4], заснованому на тому, що кінцеві продукти вільно-радикального окислювання білків можуть кількісно реагувати з 2,4-динітрофенілгідразиним з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів. Пробі спектрофотометрували при довжині хвиль 270 нм (аліфатичні альдегіди основних амінокислотних залишків) і 363 нм (карбонільні групи основних амінокислотних залишків). Визначали відповідно альдегідфенілгідразони (АФГ) і кетондинітрофенілгідразони (КФГ), які характеризують у випадку спонтанної ОМБ ступінь окисної деструкції білкової молекули, а при індукованій ОМБ свідчать про виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму [4, 5]. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб.

Отримані дані обробляли методом варіаційної статистики в програмі «Statistica 6.0 for Windows». Вірогідність розбіжностей середніх величин оцінювали за допомогою непараметричних критеріїв Манна-Уїтні (для незалежних вибірок) і Вілкоксона (для залежних вибірок).

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати досліджень та їх обговорення

Пацієнти досліджуваних груп були госпіталізовані у розпал недуги, в середньому на (5,7±0,9)-й день (1-а група) і (6,2±0,8)-й день хвороби (2-а група). Переважали пацієнти із середньотяжким ступенем захворювання: 18 (90,0 %) у 1-й і 22 (91,6 %) у 2-й групі. Легкий ступінь хвороби зареєстровано відповідно у 2 (10,0 %) і 2 (8,4 %) хворих. Захворювання починалося, як правило, поступово: тривалість переджовтяничного періоду складала від 1 до 12 днів – у середньому (5,7±0,7) дня у пацієнтів 1-ї групи й (5,1±0,8) – 2-ї групи. У більшості пацієнтів варіант перебігу продрому був змішаним (80,0 і 79,2 % відповідно), переважали диспепсичний (95,0 і 87,5 %) та астено-вегетативний варіанти (55,0 і 62,5 %), рідше реєстрували катаральний (35,0 і 41,7 %) і артралгічний (20,0 і 16,7 %). При ушпиталенні пацієнти скаржилися на слабкість (80,0 і 83,3 %), зниження апетиту (70,0 і 75,0 %), нудоту (35,0 і 41,7 %), тяжкість у правому підребер'ї (55,0 і 54,1 %), свербіж шкіри (10,0 і 12,5 %). Гіпербілірубінемія відповідала тяжкості хвороби, при цьому середній її рівень у розпал захворювання у пацієнтів 1-ї групи склав (129,8±13,2) мкмоль/л, у представників 2-ї групи (136,0±15,6) мкмоль/л. У всіх спостережуваних осіб відзначено високий цитоліз – активність АлАТ у цільній сироватці крові в період розпаду хвороби становила (8,4±0,4) ммоль/(лхгод) у пацієнтів 1-ї групи й (8,2±0,3) ммоль/(лхгод) у хворих 2-ї групи, при цьому у всіх осіб спостерігався ефект розведення (активність АлАТ в розведеній в 10 разів сироватці була вища, ніж у цільній, в 4,5-6,8 разу). Гепатомегалія, підтверджена результатами ультразвукового дослідження, зареєстрована у 16 (80,0 %) і 19 (79,1 %) пацієнтів, спленомегалія – у 9 (45,0 %) і 12 (50,0 %) відповідно. Аналіз результатів специфічної лабораторної діагностики показав, що у всіх хворих на ГГВ крім НВsAg у крові виявляли маркер реплікативної активності вірусу anti-HBcor IgM, при цьому НВeAg зареєстровано у 14 (70,0 %) хворих 1-ї й у 16 (66,7 %) пацієнтів 2-ї групи.

У хворих на ГГВ обох досліджуваних груп до початку лікування зареєстровано статистично достовірне, порівняно з відповідними показниками групи контролю, підвищення всіх досліджуваних параметрів, які відображають деструкцію білкових молекул (табл. 1). Так, показники спонтанної ОМБ були підвищені: АФГ – на 106,0 % і КФГ – на 93,0 % у пацієнтів 1-ї групи, на 98,0 % і на 100 % – у хворих 2-ї групи відповідно. При цьому показники індукованої ОМБ, що свідчать про виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму, у пацієнтів 1-ї групи перевищували показники контролю на 107,4 і 117,8 %, у хворих 2-ї групи – на 115,8 і 108,9 % відповідно.

Таблиця 1

Показники окислювальної модифікації білків сироватки крові у хворих на ГГВ (M±m)

Група		ОМБ спонтанна, ум. од./г білка		ОМБ індукована, ум. од./г білка	
		АФГ	КФГ	АФГ	КФГ
Контроль (n=20)		0,065±0,007	0,043±0,005	0,095±0,010	0,045±0,004
1-а група (n=20)	до лікування	0,134±0,009 P _{M-W} <0,001	0,083±0,006 P _{M-W} <0,002	0,197±0,013 P _{M-W} <0,0002	0,098±0,005 P _{M-W} <0,0001
	після лікування	0,064±0,006 P _{M-W} >0,05 P _W <0,003	0,044±0,004 P _{M-W} >0,05 P _W <0,002	0,102±0,007 P _{M-W} >0,05 P _W <0,001	0,056±0,002 P _{M-W} >0,05 P _W <0,001
2-а група (n=24)	до лікування	0,129±0,010 P _{M-W} <0,002	0,086±0,007 P _{M-W} <0,001	0,205±0,011 P _{M-W} <0,0001	0,094±0,006 P _{M-W} <0,001
	після лікування	0,092±0,011 P _{M-W} <0,05 P _W >0,05	0,060±0,006 P _{M-W} <0,05 P _W >0,05	0,174±0,019 P _{M-W} <0,04 P _W >0,05	0,080±0,005 P _{M-W} <0,004 P _W >0,05

Примітки: P_{M-W} – достовірність різниці порівняно з контролем; P_W – з показниками до лікування.

Аналіз динаміки показників ОМБ у пацієнтів, що одержували терапію імунофаном, показав вірогідне, порівняно з відповідними показниками до початку лікування, зниження параметрів як спонтанної (АФГ

на 52,2 % і КФГ на 46,9 %), так й індукованої (АФГ на 48,2 % і КФГ на 42,9 %) ОМБ. На момент завершення терапії імунофаном показники ступеня окислювальної деструкції білкових молекул у хворих на ГГВ віро-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

гідно не відрізнялися від аналогічних у контролі. У той же час у представників 2-ї групи на фоні базисної терапії зареєстровано лише тенденцію до зниження досліджуваних показників ОМБ, які залишалися вірогідно вище від параметрів контролю.

До того ж у пацієнтів 1-ї групи зареєстровано значнішу позитивну динаміку активності АлАТ, порівняно з відповідними показниками пацієнтів 2-ї групи. Так, нормалізація активності АлАТ у хворих на ГГВ, що одержали лікування імунофаном, зареєстрована в середньому на (38,8±3,6)-й день лікування проти (50,4±4,1) ($P_{M-W} < 0,05$) у хворих 2-ї групи. При повторному дослідженні маркерів гепатиту В (на 6-7-му тижні лікування) виявлено, що у 13 (65,0 %) осіб 1-ї групи HBsAg не виділяли. При цьому у пацієнтів 2-ї групи відсутність HBsAg у крові в зазначений термін зареєстровано лише у 6 (25,0 %), до того ж в 1 (4,2 %) представника даної групи зберігався й HBeAg.

Виявлене у хворих на ГГВ посилення ступеня окислювальної деструкції білкових молекул, на нашу думку, вказує на вихід з-під контролю захисно-протосувальних реакцій організму на клітинному рівні, свідчить про порушення механізмів регуляції ферментних систем, що забезпечують клітинний гомеостаз. Відомо, що в умовах окисного стресу, що розвивається при будь-якому патологічному стані, активні форми кисню впливають передусім на білки плазматичних мембран [6] та мають сильну гістодеструктивну дію [7].

Отримана позитивна динаміка показників окисної деструкції білкових молекул при лікуванні хворих на ГГВ імунофаном свідчить про підвищення резервної можливості організму до інактивації вільнорадикальних і перекисних сполук. Крім того, найшвидші темпи нормалізації цитолізу й динаміка маркерного профілю пацієнтів на ГГВ на фоні терапії імунофаном свідчать і про позитивний імуномодулювальний вплив препарату, що, на нашу думку, багато в чому обумовлено зниженням негативного впливу активних метаболітів кисню на імунокомпетентні клітини. Відомо, що результат патологічного процесу багато в чому визначається взаємовідносинами антиоксидантних і переоксидантних механізмів, іншими словами, здатністю антиоксидантної системи захищати клітину від вільних радикалів і перекисів [8]. Імунофан викликає посилення активності каталази, що є одним з основних ферментів антиоксидантної системи, а також церулоплазмину – активного учасника й регулятора вільно-радикальних процесів, дефіцит якого змінює гострофазову білкову відповідь на вірусну інфекцію й впливає на реактивність лімфоцитів [9, 10].

Висновки

1. При ГГВ підвищений рівень як спонтанної окислювальної модифікації білків сироватки крові, так і індукованої відображає виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму.

2. Застосування імунофану у хворих на ГГВ сприяє швидшому відновленню параметрів окислювальної модифікації білків, нормалізації цитолізу й елімінації вірусу.

3. Процеси окислювальної модифікації білків відіграють важливу роль у патогенезі ГГВ.

Література

1. Андрейчин М.А. Вірусні гепатити: Лекція. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 52 с.
2. Рябов А.Г., Азидов Ю.М., Пасечник И.Н. и др. Окислительный стресс и эндогенная интоксикация у больных в критических состояниях // Вестник интенсивной терапии. – 2002. – № 4. – С. 4-7.
3. Wuttge D.M., Bruzelius M., Stemme S. T-cell recognition of lipid peroxidation products breacs tolerance to self proteins // Immunology. – 1999. – V. 98, № 2. – P. 273-279.
4. Hallivel B., Packer L., Prilipko L. Neurological and Mental Disorders. – Berlin: Springer Verlag, 1992. – P. 21-40.
5. Вьюшина А.В., Герасимова И.Г., Флеров М.А. Перекисное окисление белков сыворотки крови у крыс, селектированных по скорости выработки условного рефлекса активного избегания, в норме и при стрессе // Булл. эксперим. биологии и медицины. – 2002. – Т. 133, № 3. – С. 286-288.
6. Bhattacharyya J., Chowdhury T.D., Datta A.G. Effect of endotoxin on protein degradation and lipid peroxidation of erythrocytes // J. Physiol. Pharmacol. – 1999. – V. 50. – P. 321-326.
7. Романова Н.В., Шишкина Н.П., Романов В.А. Оксидативный стресс фагоцитов и склеродермия // Иммунология. – 2004. – № 4. – С. 219-222.
8. Frei B., Stocker R., Ames B.N. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1988. – V. 85. – P. 9784-9792.
9. Имунофан – регуляторный пептид в терапии инфекционных и неинфекционных болезней / Лебедев В.В., Шелепов Т.М., Степанов О.Г. и др. / Под ред. В.И. Покровского. – М.: ПРАМИНКО, 1998. – 120 с.
10. Arthington J.D., Corah L.R., Blera F. The effect of molybdenum induced copper deficiency on acute-phase protein concentration, superoxide dismutase activity, leukocyte numbers, and lymphocyte proliferation in beef heifers inoculated with bovine herpesvirus-1 // J. Anim. Sci. – 1996. – V. 74, N 1. – P. 211-217.

**PARAMETERS OF OXIDATIVE
MODIFICATION OF SERUM PROTEINS
AND THEIR DYNAMICS AGAINST A
BACKGROUND OF TREATMENT BY
IMUNOFAN AT PATIENTS WITH ACUTE
HEPATITIS B**

M.A. Andreychyn, Yu.Yu. Ryabokon

SUMMARY. In this work we studied the parameters of oxidative modification of serum proteins at patients with acute hepatitis B. We showed the rising of a

level of aldehydphenylhydrazones and ketodinitrophenylhydrazones which characterize the degree of oxidative destruction of protein molecule in case of oxidative modification of proteins and at induced modification they testify to decrease of reserve-adaptative possibilities of the organism. Application of imunofan at patients with acute hepatitis B promotes faster regeneration of parameters of oxidative modification of proteins, normalization of cytolysis and elimination of virus of hepatitis B.

© Ковелєнов О.Ю., Лобзін Ю.В., 2006
УДК 616.36.-002.14-022-085.384]-036.8

О.Ю. Ковелєнов, Ю.В. Лобзін

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КРОВОЗАМІННИКА
«ПЕРФТОРАН» ЯК ЗАСОБУ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ
ТЯЖКИХ ФОРМ ГЕПАТИТУ В**

Військово-медична академія ім. С.М. Кірова (м. Санкт-Петербург, Росія)

Перфторвуглецевий кровозамінник «Перфторан» застосований у комплексній інтенсивній терапії 79 хворих з тяжкою формою гепатиту В (ГВ) як поліфункціональний патогенетичний засіб. Встановлені імунотулювальні, антиоксидантні, мембраностабілізуючі і дезінтоксикаційні властивості «Перфторану». Препарат мав істотний вплив на динаміку основних клініко-біохімічних показників у хворих з тяжким ступенем ГВ, а також перебіг і наслідки захворювання. У результаті під впливом перфторану відзначено значне скорочення термінів лікування хворих на тяжку форму ГВ у ВРІТ і стаціонарі.

Як відомо, імунна відповідь на укорінення інфекційного патогену може бути адекватною, надмірною або недостатньою. При адекватній реакції організму на укорінення збудника хвороба, навіть якщо вона розвивається, має циклічний характер і закінчується природним одужанням. При надмірній реакції можливі автоагресія і пошкодження здорових тканин. Це особливо характерно для інфекцій з внутрішньоклітинною локалізацією збудника. Так, при

гострому ГВ надмірна активність імунної відповіді здатна призвести до масивного цитолізу як інфікованих, так і неінфікованих гепатоцитів з можливим розвитком печінкової недостатності [1].

Центральною ланкою імунорегуляції є клітини системи мононуклеарних фагоцитів. Макрофаг першим з усіх елементів імунної системи стикається з інфекційним агентом або інфікованою клітиною, поглинаючи і перетравлюючи їх, презентує антигени Т- і В-лімфоцитам та ініціює тим самим розвиток клітинної і гуморальної відповіді. Контакт макрофагів з чужорідними субстанціями веде до стимуляції їх функціональної активності. У результаті вони виділяють десятки біологічно активних сполук, таких як фактор некрозу пухлин, інтерферон, інтерлейкіни 1, 6, 8, кисневі радикали, нітросполуки та ін. [2]. Надмірний викид цих прозапальних сполук гіперактивованими макрофагами індукує метаболічні порушення в клітинах вогнища запалення, місцеві та генералізовані порушення мікроциркуляції, посилення агрегації тромбоцитів з мож-