

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

EPIDEMIOLOGIC MONITORING OF MORBIDITY BY SHIGELLOSIS IN DIFFERENT REGIONS OF UKRAINE

V.S. Kopcha, S.A. Derkach, I.H. Yovko, I.V. Bench, T.Yu. Ivanova, I.A. Voronkina

SUMMARY. The dynamics of morbidity by shigellosis in different regions of Ukraine has been analyzed. The contemporary level of morbidity by shigellosis

in the Eastern region of Ukraine (on the example of Kharkiv region) was fixed to be 6,9-12,5 times higher than in the Western one (Ternopil region) and it doesn't trend to lowering. The correlation between Flexneri and Sonne shigellosis in these regions during 1999-2004 also differed and was characterized by prevailing of Flexneri shigellosis in Ternopil region and predomination of Sonne shigellosis in Kharkiv region.

© Андрейчин М.А., Карімов І.З., 2005
УДК 616.34-008.314.4+616.092+616-008.6:577.1

М.А. Андрейчин, І.З. Карімов

ЗМІНА ВМІСТУ КАРБОНІЛЬНИХ ГРУП БІЛКІВ МАЛОНООВОГО ДИАЛЬДЕГІДУ В КРОВІ ХВОРИХ НА ГОСТРІ КИШКОВІ ІНФЕКЦІЇ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського,
Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського

Досліджено вміст карбонільних груп, що відбиває рівень окисної модифікації білків (ОМБ), і малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові 276 хворих на гострі кишкові інфекції (ГКІ): сальмонельоз – 48, шигельоз – 57, ГКІ, спричинені умовно-патогенними бактеріями (ГКІ-УПБ) – 74 та ГКІ нез'ясованої етіології (ГКІ-НЕ) – 97. Показано істотне підвищення рівня ОМБ і МДА в крові залежно від тяжкості захворювання. При сальмонельозі та шигельозі збільшення рівня ОМБ і МДА в крові значніше, ніж у хворих з ГКІ-УПБ і ГКІ-НЕ. Визначення індексу метаболічної інтоксикації (ОМБ/МДА) може служити корисним тестом для оцінки ступеня метаболічної інтоксикації, прогнозу захворювання і повноти видужання.

Бактерійні діареї належать до розповсюджених інфекційних захворювань, що негативно впливають на здоров'я населення України. У структурі захворюваності переважають такі кишкові інфекції, як сальмонельоз, шигельоз і велика група діарей, зумовлених умовно-патогенними бактеріями [1]. Значно поглиблені уявлення про патогенез дегідратаційного та інфекційно-токсичного шоку, що ускладнюють тяжкий перебіг ряду кишкових інфекцій. Описані численні токсичні ефекти ендо- та екзо-

токсинів мікроорганізмів, продуктів вільнорадикального окислення (ВРО). Разом з тим багато аспектів патогенезу цього клінічного синдрому вивчені недостатньо повно і глибоко [2].

Останнім часом накопичуються результати досліджень, що свідчать про міцний зв'язок процесів ОМБ і перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) при патологічних станах, старінні, психічних розладах [3, 4]. Альдегіди, будучи кінцевим продуктом ПОЛ, мало активні, але здатні до реакцій з різними біомолекулами, включаючи білки, фосфоліпіди, з утворенням стабільних продуктів наприкінці серій реакцій переокислювання. Показано, що МДА знаходиться в біологічних матеріалах у різних ковалентно зв'язаних формах – у вигляді адуктів МДА із залишками лізину, білків або з амінами, що складають головну частину фосфоліпідів [5]. Вважають, що важливим механізмом у модифікації білків при окисному стресі є утворення адуктів ПОЛ з ензиматичним комплексом [6]. Відзначена присутність в атеросклеротичних бляшках людини пероксид-ліпід-модифікованих білків, що утворюються шляхом прямої взаємодії залишків лізину з продуктами ПОЛ [3]. Передбачається ймовірність утворення до різних типів адуктів і окисно модифікованих білків автоантитіл, що мають патогенетич-

не значення при атеросклерозі, різних запальних та інфекційних захворюваннях [7,8]. Продукти такої модифікації можуть не тільки впливати на розвиток синдрому метаболічної інтоксикації, але й служити причиною вторинного ушкодження інших біомолекул.

Грізним ушкоджуючим фактором у хворих з гострою інфекційною патологією є ендогенна метаболічна інтоксикація, спричинена різними продуктами зміненого метаболізму. При цьому в рідинах і тканинах організму в нефізіологічних концентраціях накопичуються проміжні та кінцеві продукти обміну, у тому числі – ОМБ і ПОЛ, що мають токсичну дію і можуть поглиблювати дисфункцію різних органів і систем.

Тому метою дослідження стало виявлення динаміки та взаємозв'язку ОМБ і ПОЛ (МДА) у хворих на ГКІ залежно від етіології і ступеня тяжкості захворювання, а також ролі карбонільних груп, МДА в розвитку метаболічної інтоксикації в досліджених хворих.

Матеріали і методи

Під спостереженням перебувало 276 хворих на ГКІ віком 16-60 років, що знаходилися на стаціонарному лікуванні, з них хворі на сальмонельоз – 48, шигельоз – 57, ГКІ-УПБ – 74 і ГКІ-НЕ – 97. Чоловіків було 127, жінок – 149. Досліджувані групи порівняння були розділені за етіологією та ступенем тяжкості недуги. Хворі за статтю і віком були розподілені рівномірно у всіх досліджуваних групах. Контролем служили практично здорові люди віком від 17 до 58 років (50 осіб). Етіологічна ідентифікація збудника проводилася загальноприйнятими бактеріологічними методами. Забір крові у хворих здійснювали в гострому періоді недуги (1-а доба перебування в стаціонарі), на 3-4-у добу й у період ранньої реконвалесценції (6-10-а доба). Інтенсивність ОМБ сироватки крові визначали за концентрацією карбонільних груп на підставі реакції взаємодії окислених амінокислотних залишків білків з 2,4-динітро-фенілгідразом (2,4-ДНФГ) [9]. Оптичну щільність нейтрального ДНФГ реєстрували на СФ-46 при довжині хвилі 370 нм. Вміст карбонільних груп розраховували, використовуючи коефіцієнт молярної абсорбції, рівний $21\ 000\ \text{M}^{-1}\ \text{див}^{-1}$ для ДНФГ-похідних. Результати виражали в нанолях на 1 мол сироватки крові. При вимірі оптичної щільності в дослідній пробі використовували контрольну пробу того ж індивідууму. Визначення в сироватці крові МДА – кінцевого продукту ПОЛ – проводили за допомогою реакції з тіобарбітуровою кислотою спектрофотометрично [9].

Для математичної обробки отриманих даних використовували методи описової статистики, Т-критерій Стьюдента для парних порівнянь і деякі методи непараметричної статистики [10].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень показали (табл. 1), що порівняно зі здоровими людьми вміст карбонільних груп похідних амінокислот білків у сироватці крові хворих на ГКІ легкого ступеня в гострому періоді зростає у всіх групах на 20-48 %, найзначніше підвищення відзначається при сальмонельозі (на 48 %, $P < 0,05$) і шигельозі (на 30 %, $P < 0,05$). Рівень ОМБ крові хворих на ГКІ середнього ступеня тяжкості в гострому періоді підвищується в 2,1 разу при сальмонельозі ($P < 0,01$), в 1,9 і 1,6 разу – при шигельозі ($P < 0,01$) і ГКІ-УПБ ($P < 0,05$), у хворих на ГКІ-НЕ – на 30 % ($P < 0,05$). Примітно, що у хворих на сальмонельоз, шигельоз і ГКІ-НЕ середнього ступеня тяжкості в період реконвалесценції рівень ОМБ у крові все таки залишається підвищеним на 15 і 11 % відповідно.

При легкому ступеню недуги (табл. 1) концентрація МДА у крові хворих на ГКІ в гострому періоді у всіх групах була практично однаковою і перевищувала рівень контролю в 1,4 разу ($P < 0,05$), але в динаміці у хворих на сальмонельоз і шигельоз трохи зростала ($P < 0,05-0,01$), а при ГКІ-УПБ, ГКІ-НЕ – знижувалася. У стадії реконвалесценції у всіх групах порівняння рівень МДА в крові знижувався до нормальних величин.

У хворих середнього ступеня тяжкості в гострому періоді відзначається підвищення рівня МДА у крові в більшому ступеню при сальмонельозі – в 1,9 разу ($P < 0,01$), шигельозі – в 1,8 разу ($P < 0,01$) і меншою мірою при ГКІ-УПБ – в 1,6 разу ($P < 0,01$) і ГКІ-НЕ – в 1,5 разу ($P < 0,05$). У період ранньої реконвалесценції рівень МДА в крові знижується, але залишається недостовірно вище норми на 10 % у всіх групах хворих на ГКІ, крім ГКІ-НЕ.

Слід зазначити, що при легкому ступеню ГКІ у хворих на сальмонельоз і шигельоз протягом захворювання, коли клінічно відзначалася позитивна динаміка, рівень МДА трохи зростав ($P < 0,05$), а при середньотяжкому – знижувався ($P < 0,05$), однак не так стрімко, як рівень карбонільних груп. Цілком ймовірно, що подібна динаміка МДА, відмінна від ОМБ, обумовлена не тільки ступенем інтоксикації, але й іншими факторами (запалення та ін.).

Проведений аналіз результатів досліджень дозволяє зробити висновок про значний внесок процесів ОМБ і ПОЛ у загальну пошкоджуючу дію в умовах окисного стресу при ГКІ. У той же час варто визнати, що роль цих процесів у формуванні патологічних станів, що супроводжуються інтоксикацією, вивчена недостатньо.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 1

Показники ОМБ, МДА та ІМІ у сироватці крові хворих на ГКІ (M±m)

Хвороба	Період хвороби	ОМБ (нмоль/мл)		МДА (мкмоль/мл)		ІМІ×10 ³	
		Ступінь тяжкості		Ступінь тяжкості		Ступінь тяжкості	
		легкий	середній	легкий	середній	легкий	середній
Контроль (n=50)		115,36±9,85		10,54±1,06		11,15±0,06	
Сальмонельоз (n=48)	I**	171,38±14,52*	243,25±15,37**	14,25±1,37*	19,68±1,25**	12,03±0,61*	12,36±0,55*
	II*	144,28±11,05	188,45±12,72**	15,04±1,02**	16,25±1,23**	9,59±0,52	11,60±0,69
	III	121,65±10,46	132,06±11,57	11,52±1,05	11,38±1,12	10,56±0,38	11,61±0,52
Шигельоз (n=57)	I**	151,04±13,58*	220,68±18,60**	14,11±1,42*	18,56±1,18**	10,70±0,74	11,89±0,38*
	II*	127,46±10,22	164,04±12,76*	15,18±1,23*	16,81±1,36**	8,39±0,09	9,76±0,08
	III	119,32±11,02	128,95±11,32	11,45±1,24	11,54±1,17	10,42±0,11	11,17±0,46
ГКІ-УПБ (n=74)	I*	144,02±12,67	189,42±15,47*	14,16±1,62*	16,14±1,06**	10,17±0,53	11,74±0,61
	II	129,22±10,35	135,82±11,25	13,93±1,25	13,05±1,22	9,28±0,08	10,41±0,09
	III	114,95±11,02	118,56±10,07	10,78±1,07	11,52±1,04	10,66±0,72	0,29±0,08
ГКІ-НЕ (n=97)	I	140,34±12,26	150,48±14,73*	15,08±1,76*	15,19±1,21*	9,31±0,64	9,91±0,72
	II	127,56±11,07	142,46±8,23*	12,43±1,15	13,02±1,17	10,25±0,45	10,94±0,58
	III	112,35±10,24	114,92±14,46	10,95±1,12	10,85±0,94	10,26±0,62	10,59±0,82

Примітки (тут і далі): I – при госпіталізації; II – 3-4-а доба госпіталізації; III – при виписці зі стаціонару; * – вірогідність різниці між показниками у хворих і контролем на рівні P<0,05; ** – P<0,01; I*, II*, III* – вірогідність різниці між групами на рівні P<0,05 за критерієм Уайта.

При гострій інфекційній патології, коли досить швидко може розвинути стан, що загрожує життю хворого, особливої уваги вимагають не тільки абсолютні величини рівнів ОМБ і МДА, але і їх співвідношення, що дозволить виявити порушення метаболізму при відносно низьких абсолютних значеннях ОМБ і МДА.

Враховуючи те, що абсолютні величини вмісту в крові карбонільних груп і МДА, що є кінцевими продуктами ВРО, можуть мати високу індивідуальну варіабельність і залежати від ряду факторів (ступінь зневоднення, маса тіла, вік, індивідуальні

особливості макроорганізму й ін.), можна припустити, що співвідношення концентрацій карбонільних груп (довжина хвилі 370 нм) і МДА більш адекватно відображає метаболічні порушення і, отже, може бути використане як орієнтовний критерій у комплексі симптомів, що визначають тяжкість і прогноз захворювання. На наш погляд, цей коефіцієнт має самостійне значення як показник метаболічних порушень при окисному стресі.

Для успішного розвитку уявлення в цьому напрямку показники вмісту МДА у крові (мкмоль/мл) були приведені до однієї шкали одиниць з карбо-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

нільними групами, тобто до нмоль/мл. Потім склали відношення середніх величин цих метаболітів залежно від етіології і ступеня тяжкості ГКІ. Для такого співвідношення (рівень ОМБ/МДА в крові) ми ввели визначення – індекс метаболічної інтоксикації (ІМІ).

Отримані результати (табл. 1) свідчать про те, що ІМІ зростає залежно від ступеня тяжкості захворювання ГКІ. Ці дані дають підставу вважати, що при ІМІ, що перевищує $(11,15 \pm 0,06) \times 10^3$, можна говорити про виражений дисбаланс метаболічних процесів в організмі, у той час як клінічно в хворих можуть відзначатися неясні ознаки загальної інтоксикації і/чи швидка їх регресія. Важливо оцінити ІМІ з погляду етіології інфекційного захворювання. Так, найвищий ІМІ був у хворих на сальмонельоз і шигельоз. Важливо відзначити, що при середньому ступеню ГКІ тільки в реконвалесцентів сальмонельозу і шигельозу середньої тяжкості ІМІ залишається трохи вищим норми – відповідно $(11,61 \pm 0,52) \times 10^3$ і $(11,17 \pm 0,46) \times 10^3$.

Таким чином, на початковому етапі та у період розпалу ГКІ, що супроводжуються клінічно вираженим інтоксикаційним синдромом, ІМІ відповідає загальноклінічним проявам. Але в період ранньої реконвалесценції, коли клінічно і лабораторно у хворих настає відносна нормалізація показників, підвищений ІМІ свідчить про зберігання метаболічних порушень в організмі. Цю обставину, безумовно, необхідно враховувати під час реконвалесценції, тому що прогностично, ймовірно, зберігаються «приховані» метаболічні порушення, які можуть несприятливо позначитися на здоров'ї осіб, які вибули зі стаціонару.

Особливий інтерес становить кореляційний аналіз між рівнем ОМБ і МДА в крові хворих залежно від тяжкості і періоду захворювання.

Встановлено (табл. 2), що максимальний кореляційний взаємозв'язок при всіх досліджених ГКІ, крім ГКІ-НЕ, відзначався в гострий період (при госпіталізації) і період реконвалесценції ($r=0,54-0,82$), тобто при максимально і мінімально вираженому синдромі інтоксикації. При легкому ступеню тяжкості кореляція між ОМБ і МДА мала низькі й середні коефіцієнти ($r=0,36-0,67$), при середньому ступеню – середні і високі ($r=0,38-0,82$), при цьому у хворих на сальмонельоз ($r=0,71-0,82$) і шигельоз ($r=0,51-0,75$) кореляція була найбільшою порівняно з ГКІ-УПБ ($r=0,45-0,63$) і ГКІ-НЕ ($r=0,38-0,69$). Слід зазначити, що при сальмонельозі і шигельозі на 3-4-у добу після госпіталізації при середній тяжкості ступінь кореляції знижується, а при легкому ступеню – стає зворотним, що обумовлено деяким зростанням рівня МДА і зниженням ОМБ у крові хворих на сальмонельоз і шигельоз.

Висновки

1. У хворих на шигельоз і сальмонельоз рівень ОМБ у крові збільшувався при легкому ступеню тяжкості на 25 і 40 %, при середньому – в 1,9 і 2,1 разу відповідно, при цьому підвищення рівня ОМБ значніше, ніж у хворих на ГКІ-УПБ і ГКІ-НЕ. У хворих на сальмонельоз і ГКІ-НЕ середнього ступеня тяжкості в період реконвалесценції рівень карбонільних груп у крові залишається підвищеним на 10 і 30 % відповідно.

Таблиця 2

Кореляційна залежність (r) між рівнем карбонільних груп і МДА у крові хворих на ГКІ

Хвороба	Період недуги	Ступінь тяжкості	
		легкий	середній
Сальмонельоз (n=48)	I	0,57	0,82
	II	-0,35	0,73
	III	0,61	0,71
Шигельоз (n=57)	I	0,54	0,75
	II	-0,38	0,51
	III	0,62	0,68
ГКІ-УПБ (n=74)	I	0,62	0,61
	II	0,48	0,45
	III	0,45	0,63
ГКІ-НЕ (n=97)	I	0,36	0,69
	II	0,58	0,38
	III	0,67	0,59

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

2. Рівень МДА у крові хворих на ГКІ зростає залежно від ступеня тяжкості недуги, причому більше при сальмонельозі і шигельозі – при легкому ступеню на 40 %, при середньому – в 1,8 і 1,9 разу.

3. Рівень ОМБ значнішою мірою, ніж концентрація МДА, відображає клінічний синдром інтоксикації. Визначення ІМІ (ОМБ/МДА) і вмісту карбонільних груп білків у крові хворих на ГКІ може бути корисним тестом для оцінки ступеня ендогенної метаболічної інтоксикації, прогнозу захворювання і повноти видужання. Величина ІМІ, що перевищує $11,15 \times 10^3$ (середнє значення контрольної групи), свідчить про виражений дисбаланс метаболічних процесів в організмі хворих.

4. У гострому періоді хвороби в пацієнтів з ГКІ величина ІМІ відповідає загальноклінічним проявам, а найвищі значення ІМІ відзначаються у хворих на сальмонельоз, шигельоз.

5. У період ранньої реконвалесценції при клінічній і лабораторній нормалізації показників у хворих на сальмонельоз, шигельоз зберігається трохи підвищений ІМІ, що свідчить про «приховані» метаболічні порушення.

6. Найбільший ступінь кореляції між вмістом у крові карбонільних груп і МДА відзначається при сальмонельозі і шигельозі.

Література

1. Андрейчин М.А. Досягнення в терапії бактерійних діарей і шляхи її оптимізації // Інфекційні хвороби. – 2000. – № 1. – С. 5-11.

2. Андрейчин М.А., Ивахив О.Л. Бактериальные диареи. – К.: Здоров'я, 1998. – 412 с.

3. Kim J.G., Taylor W.R., Parthasarathy S. Demonstration of the presence of lipid peroxide-modified proteins in human atherosclerotic lesions using a novel lipid peroxide-modified anti-peptide antibody // Atherosclerosis. – 1999. – V. 143, N 2. – P. 335-340.

4. Griffiths H.R. Antioxidants and protein oxidation // Free Radic. Res. – 2000. – V. 33. – P. 47-58.

5. Uchida K. Histidine and lysine as targets of oxidative modification // Amino Acids. – 2003. – V. 25, N 3-4. – P. 249-257.

6. Chen J., Robinson N.C., Schenker S. et al. Formation of 4-hydroxynonenal adducts with cytochrome C oxidase in rats following short-term ethanol intake // Hepatology. – 1999. – V. 29, N 6. – P. 1792-1798.

7. Wuttge D.M., Bruzelius M., Stemme S. T-cell recognition of lipid peroxidation products breacs tolerance to self proteins // Immunology. – 1999. – V. 98, N 2. – P. 273-279.

8. Oliver C.N., Starke-Reed P.E., Stadtman E.R. et al. Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ischemia/reperfusion-induced injury to gerbil brain // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1990. – V. 87. – P. 5144-5147.

9. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободно-радикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лабор. дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.

10. Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам. – М.: Медицина, 1990. – 224 с.

CHANGE OF THE CONTENT OF CARBONYL GROUPS OF PROTEINS AND MALONIC DIALDEHYDE IN BLOOD OF PATIENTS WITH ACUTE INTESTINAL INFECTIONS

M.A. Andreychyn, I.Z. Karimov

SUMMARY. The content of carbonyl groups reflecting a level of oxidative modification of proteins (OMP) and malonic dialdehyde (MDA) in blood serum of 276 patients with acute intestinal infections (AII) in dynamics of disease was investigated: salmonellosis – 48, shigellosis – 57, AII, caused by conditionally pathogenic bacteria (AII-CPB) – 74; and AII of the obscure etiology (AII-OE) – 97. It was shown significant rising of OMP and MDA level in blood depending on severity of disease. At patients with salmonellosis and shigellosis the increasing of OMP and MDA level in blood is more expressed than at the patients with AII-CPB and AII-OE. The determination of metabolic intoxication index (OMP/MDA) can serve the useful marker for estimation of metabolic intoxication degree, disease prognosis and convalescence completeness.