

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ В ОЦЕНКЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ*

Целью исследования явилось комплексное изучение процессов перекисного окисления липидов, состояния антиоксидантной системы и содержания молекул средней массы в плазме крови (СМП) у 74 больных ВИЧ-инфекцией в возрасте от 16 до 43 лет. Группа контроля состояла из 50 здоровых людей. Анализ полученных результатов выявил, что максимальные уровни СМП наблюдались в период вторичных проявлений, т.е. в стадию СПИДа. На фоне накопления в плазме крови конечных продуктов ПОЛ при ВИЧ-инфекции обнаружено резкое угнетение общей антиокислительной активности. В ходе проводимого лечения наблюдаются положительные сдвиги в свободнорадикальном статусе, не приводящие, однако, к нормализации исследуемых систем.

Неуклонный рост заболеваемости СПИДом выдвигает изучение этого заболевания в ряд важнейших медико-социальных проблем [1]. По данным ВОЗ на 01.06.2005 г. в мире зарегистрировано 33,6 млн больных СПИДом. Наряду с этим есть вероятность, что еще более 20 млн человек являются носителями вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Таким образом, существует необходимость активных клинико-эпидемиологических, иммунологических исследований ВИЧ-инфицированных и наблюдение за ними. Несмотря на успехи, достигнутые в лечении больных СПИДом на протяжении десяти лет, они не позволили получить существенного прогресса сокращения заболеваемости. Немаловажное значение для благоприятного течения заболевания имеет и своевременная диагностика, и предвидение возможных осложнений у больных ВИЧ-инфекцией с целью проведения или дополнения лечения адекватной терапией. Все это говорит о необходимости поиска диагностических и прогностических критериев, способных определить основные пути осложнения и лечения этого заболевания.

В целях диагностики и оценки лечебного эффекта при лечении ВИЧ-инфицированных большая роль отводится определению уровня эндогенной интоксикации. В последние два десятилетия значительное распространение получили методы определения веществ средней и низкой молекулярной массы (ВН и СММ) как общепринятого критерия эндогенной интоксикации [2]. Для суждения об этой интоксикации использовали метод, разработанный М. Я. Малаховой и соавт. (1989). Он позволяет определить наличие веществ средней и низкой молекулярной массы и олигопептидов в плазме крови, эритроцитах, моче, а также оценить интоксикацию цельной крови, установить ее степень и фазу. На основе данной методики мы определяли средние молекулы плазмы крови. Для суждения о результатах использовалась следующая классификация фаз эндогенной интоксикации:

* Настоящая работа выполнена по программе «Фундаментальные исследования. Университеты России» и по научной программе Кабардино-Балкарского государственного университета «Состояние прооксидантной и антиоксидантной системы организма при инфекционных заболеваниях различной этиологии и методы ее коррекции» (№ гос. регистрации 01 50003849).

1 фаза: наблюдается увеличение сорбционной емкости эритроцитов без подъема концентрации СМП – «компенсаторная» фаза (1,2–1,49 ОЕ);

2 фаза: умеренное увеличение концентрации средних молекул (СМ) как в плазме крови, так и в эритроцитах – фаза накопления продуктов из очага агрессии (1,7–1,89 ОЕ);

3 фаза: концентрация СМ в плазме крови продолжает нарастать, достигая значительных величин, – фаза обратимой декомпенсации органов детоксикации (свыше 1,9 ОЕ);

4 фаза: рост СМ в плазме крови – фаза несостоятельности систем гомеостаза и необратимой декомпенсации органов детоксикации;

5 фаза – снижение концентрации СМ в плазме крови, поступление продуктов внутриклеточного катаболизма – фаза полной дезинтеграции систем и органов, терминальная.

Необходимо отметить, что важную роль играет активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Процессы ПОЛ могут служить иницирующим моментом в патогенезе функциональной неполноценности иммунокомпетентных клеток прежде всего СД4 лимфоцитов, что в дальнейшем может приводить к развитию иммунодефицитного состояния, особенно при снижении активности антиоксидантных систем, в частности супероксиддисмутазы (СОД), что отмечается на III–IV стадиях болезни [3].

Близкие соответствия изменения содержания веществ средней и низкой молекулярной массы и активности ПОЛ при различных патологиях могут говорить об общности механизмов увеличения СМП и ПОЛ при воспалительных процессах. Поэтому предложенная Ю. А. Майоровым (1998) оценка концентрации продуктов ПОЛ в сравнении с уровнем СМП более адекватно отражает уровень эндогенной интоксикации [4].

Материал и методы исследования

Под наблюдением находилось 76 больных в возрасте от 16 до 43 лет (18 женщин и 58 мужчин). Диагноз во всех случаях не вызывал сомнения и был верифицирован на основании результатов эпидемиологических, клинико-лабораторных данных (положительный иммунный блотинг). Исследования биохимических параметров проводили в динамике заболевания: в период первичных проявлений (соответственно в стадиях ПБ, ПВ по классификации В. И. Покровского и В. В. Покровского [1] и в стадию СПИДа, т.е. при присоединении вторичных заболеваний (соответственно в стадиях IIIА, IIIБ, IIIВ) и в стадию вторичных проявлений после проведенного лечения. На фоне базисной терапии (противовирусных препаратов) больным проводилась сочетанная дезинтоксикационная и иммунокорректирующая терапия. Для определения процессов ПОЛ и общей антиоксидантной активности (ОАА) в плазме крови мы использовали метод *Ushima et al.* [5] и Чевари с соавт. [6]. Содержание СМ в плазме крови определяли скрининговым методом [7] в модификации М. И. Габриловича [8]. У всех обследуемых пациентов изучали иммунный статус: определяли CD3, CD4, CD8, CD16, CD95. Исследовали также содержание IgA, IgM, IgG, циркулирующие иммунные комплексы, СОЭ, общий белок и белковые фракции. Статистическую обработку проводили общепринятыми методами [9] с использованием программы «Полный корреляционный анализ» [10]. Полученные результаты сравнивали с лабораторной нормой, которую определяли путем исследования крови у 50 здоровых людей.

Результаты исследования

Установлено закономерное возрастание содержания молекул средней массы в плазме крови с максимальным значением в стадию СПИДа. По мере угасания клинических симптомов на фоне проводимых лечебных мероприятий отмечалось снижение концентрации СМП. У больных, получивших противовирусные препараты, через месяц после начала лечения также отмечалось снижение уровня молекул средней массы, однако восстановление не наступало, что, возможно, вызвано непрерывным патологическим процессом в организме, а также усилением интоксикации ввиду токсичности противовирусных препаратов (азидотимидина) (таблица 1).

Таблица 1

Уровень молекул средней массы у больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от стадии заболевания и проводимого лечения ($X \pm m$)

Группа обследуемых	<i>n</i>	$X \pm m$	<i>P</i>	P_1
Здоровые	50	$1,18 \pm 0,02$		–
I – первичные проявления	74	$1,53 \pm 0,02$	< 0,001	–
II – стадия СПИДа до лечения	72	$1,84 \pm 0,03$	< 0,001	–
III – стадия СПИДа после лечения	73	$1,35 \pm 0,04$	< 0,001	< 0,001

Примечание (здесь и в таблицах 2, 3): I – стадия первичных проявлений; II – стадия вторичных проявлений до лечения; III – стадия вторичных проявлений после лечения; *P* – достоверность различия по отношению к группе здоровых; P_1 – достоверность различия по отношению к предыдущему периоду.

При исследовании показателей оксидантного статуса у больных ВИЧ-инфекцией выявлены следующие изменения. На стадиях первичных проявлений отмечалась достоверная тенденция к росту перекисного окисления липидов, на стадиях манифестации заболевания исследуемый показатель продолжал возрастать. На фоне проводимого лечения, сопровождающегося уменьшением клинических проявлений болезни, была выявлена тенденция к снижению концентрации ПОЛ в плазме крови.

Антиоксидантная активность у больных ВИЧ-инфекцией зависела от стадии заболевания. Так, при прогрессировании клинико-иммунологических показателей отмечалось более выраженное угнетение антиокислительной активности плазмы (таблица 2). В период угасания клинических симптомов наблюдалось постепенное повышение уровня АОА, однако данный показатель оставался низким, несмотря на клиническую реконвалесценцию. Полученные результаты о состоянии процессов ПОЛ и ферментативного звена антиоксидантной системы убеждают, что у больных ВИЧ-инфекцией в фазе обострения болезни имеет место развитие процессов, называемых «оксидантным стрессом».

Таблица 2

ПОЛ и АОА в плазме крови у больных ВИЧ-инфекцией ($X \pm m$)

Группа больных	<i>n</i>	ПОЛ	<i>P</i>	P_1	ОАА	<i>P</i>	P_1
Здоровые	50	$3,7 \pm 0,1$	–	–	$59,1 \pm 1,4$	–	–
I	74	$5,2 \pm 0,4$	< 0,001	–	$32,6 \pm 0,02$	< 0,001	–
II:							
– до лечения	72	$6,7 \pm 0,2$	< 0,001	< 0,001	$30,2 \pm 0,06$	< 0,001	< 0,001
– после лечения	73	$4,8 \pm 0,3$	< 0,001	< 0,001	$39,5 \pm 0,02$	< 0,001	< 0,001

Проведенные исследования выявили наличие тесной взаимосвязи между тяжестью состояния больного и характером изменений показателей свободнорадикального окисления. Рост содержания токсических субстратов и промежуточных продуктов обмена веществ в крови сопровождался усилением ПОЛ и уменьшением АОА (таблица 2).

В зависимости от течения и тяжести заболевания наблюдали следующие результаты. Так, у четырех больных ВИЧ-инфекцией с сопутствующей наркоманией и вирусным гепатитом В и С, закончившейся летальным исходом, прогрессирование процесса происходило быстро; несмотря на проводимые лечебные мероприятия, уровень эндогенной интоксикации повышался до четвертой фазы и оставался повышенным (таблица 3). Процессы ПОЛ у этой группы больных также достигали максимальных значений в стадию СПИДа, одновременно наблюдалось значительное снижение процессов АОА.

Таблица 3

СМП в плазме крови в зависимости от фазы интоксикации

Группа больных		Фазы				
		первая	вторая	третья	четвертая	пятая
I	IIA	1,2	–	–	–	–
	IIB	1,24	1,5	–	–	–
	IIC	1,27	1,52	–	–	–
II	IIIA	1,29	1,51	1,72	–	–
	IIIB	1,36	1,56	1,85	–	–
	IIIC	1,4	1,58	1,89	1,9	–
Терминальная стадия		1,49	1,69	1,87	2,0	–

Из таблицы 4 видна прямая зависимость биохимических и иммунологических показателей от степени эндотоксемии. Таким образом, установлено, что выраженность клинических проявлений и биохимических сдвигов у больных ВИЧ-инфекцией в значительной степени определяется степенью эндотоксемии, а наиболее четко – уровнем СМП.

Таблица 4

Уровни биохимических показателей в плазме крови в зависимости от фазы интоксикации

Показатели	Фазы				
	норма	первая	вторая	третья	четвертая
CD4, %	31–46	33,0	28,1	26,7	24,0
CD8, %	23–40	40,7	43,2	43,9	49,6
IgA, г/л	1,4	1,76	2,15	2,36	2,32
IgM, г/л	9,6	11,33	15,84	20,83	20,5
IgG, г/л	1,6	1,7	2,1	2,85	2,57
CD4/CD8	1,0–1,7	0,87	0,65	0,6	0,5
ЦИК, ед.	58,0 ± 4,8	126	245	304	391
Креатинин, мкмоль/л	1,1 ± 0,08	1,8	2,1	2,1	2,5
Мочевина, моль/л	3,4 ± 0,8	5,4	4,8	4,7	4,6
Общий белок, г/л	11,3 ± 0,7	12,0	17,2	24,0	17,8

Перекисное окисление липидов является физиологическим процессом, необходимым для устранения изношенных или поврежденных структур, т.к.

целостность организма поддерживается за счет равновесия между притоком вновь синтезированных молекул и элиминацией окислительно поврежденных белков и липидов. Умеренная активация ПОЛ (не более чем в 10–15 раз) оказывает положительное воздействие на энергетический баланс клетки, т.к. через ряд внутриклеточных мессенджеров усиливает каталитическую активность внутриклеточных ферментов, ускоряя гликолиз и активируя окисление глюкозы в «пентозофосфатном шунте». Избыточное усиление процессов ПОЛ нивелируется активацией системы антиоксидантной защиты (АОЗ), что имеет большее значение для предупреждения свободнорадикального повреждения клеточных мембран. Но при длительно текущих воспалительных процессах происходит истощение системы АОЗ и усиление процессов ПОЛ [11]. При длительном течении болезни неадекватно слабая реакция АОЗ приводит к срыву компенсации.

Таким образом, анализ полученных данных позволяет рекомендовать использование данных методов в качестве еще одного показателя степени выраженности эндогенной интоксикации.

Выводы

1. При ВИЧ-инфекции наблюдается закономерные однонаправленные изменения содержания СМП с максимумом в стадии СПИДа.

2. При ВИЧ-инфекции наблюдается резкое угнетение общей антиоксидантной активности на фоне накопления в плазме крови конечных продуктов ПОЛ. В ходе проводимого лечения наблюдаются положительные сдвиги в свободнорадикальном статусе, не приводящие, однако, к нормализации исследуемых систем.

3. Уровень СМП может служить маркером интоксикационного синдрома при ВИЧ-инфекции. Имеется корреляционная связь между выраженностью ведущих клинических синдромов данной патологии и содержанием в крови СМП.

Список литературы

1. **Покровский, В. И.** СПИД / В. И. Покровский, В. В. Покровский. – М., 1989. – С. 46.
2. **Нагоев, Б. С.** Значение определения средних молекул в плазме крови при инфекционных заболеваниях вирусной и бактериальной этиологии / Б. С. Нагоев, М. И. Габрилович // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 1. – С. 9–11.
3. **Митин, Ю. А.** Иммунологические аспекты патогенеза и диагностики ВИЧ-инфекции : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ю. А. Митин. – Новосибирск, 1997. – С. 21.
4. **Майоров, Ю. А.** Определение уровня перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности в оценке эндогенной интоксикации при остром панкреонекрозе / Ю. А. Майоров // Нижегородский медицинский журнал. – 1998. – № 1. – С. 83–87.
5. **Ushiyama, M.** Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test / M. Ushiyama, M. Michara // J. Immunology. – 1983. – V. 130. – P. 17–74.
6. **Чевари, С.** Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
7. **Николайчик, В. В.** Способ определения «Средних молекул» / В. В. Николайчик, В. В. Кирковский [и др.] // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 13–18.

8. **Габрилович, М. И.** Определение концентрации молекул средней массы плазмы крови скрининговым методом : методические указания / М. И. Габрилович. – Нальчик, 1998. – С. 23.
9. **Лакин, Г. Ф.** Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М., 1990. – С. 352.
10. **Бозиев, В. Б.** Достижение медицинской науки – практическому здравоохранению / В. Б. Бозиев, А. Б. Бозиев. – Нальчик, 1995. – С. 19.
11. **Стальная, И. Д.** Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили ; под ред. В. Н. Ореховича. – М., 1997. – С. 69.