

## МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

УДК 616.153.915-07

### ИЗМЕНЕНИЕ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ КО-ИНФЕКЦИЕЙ ТУБЕРКУЛЁЗ/ВИЧ ПОД ВЛИЯНИЕМ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

**П.В. Макаров, А.В. Асеев, В.К. Макаров**

Тверской государственный медицинский университет

Исследовали показатели фосфолипидных фракций сыворотки крови у 50 здоровых лиц, 50 больных ко-инфекцией туберкулёз/ВИЧ без антиретровирусной терапии и 50 больных ко-инфекцией туберкулёз/ВИЧ, получавших антиретровирусную терапию. Изучено относительное содержание следующих фракций общих фосфолипидов: суммарных лизофосфолипидов, сфингомиелина, фосфатидилхолина, фосфатидилэтанолamina. У больных ко-инфекцией туберкулёз/ВИЧ антиретровирусная терапия приводила к восстановлению почти до нормы метаболизма фосфолипидов, что проявлялось существенно более низким уровнем общих фосфолипидов, содержанием суммарных лизофосфолипидов, сфингомиелина, фосфатидилхолина и фосфатидилэтанолamina по сравнению с пациентами без данной терапии. Это может служить доказательством обоснованной эффективности применения антиретровирусной терапии у больных туберкулёзом и ВИЧ-инфекцией. Процентное содержание фосфатидилэтанолamina у больных ко-инфекцией туберкулёз/ВИЧ было в два раза выше, чем у пациентов, не получавших АРВТ.

**Ключевые слова:** ко-инфекция, ВИЧ-инфекция, туберкулёз, антиретровирусная терапия.

В последние десятилетие отмечается значительный рост сочетанной патологии – туберкулёз и ВИЧ-инфекция (ТБ/ВИЧ). Это приводит к формированию нового эпидемического процесса – ВИЧ ассоциированного туберкулёза. Ситуация приобретает характер эпидемии [1–3]. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) прогнозирует, что при повышении уровня распространенности ВИЧ-инфекции среди населения будет увеличиваться и заболеваемость туберкулёзом [4; 5]. Туберкулёз остаётся второй ведущей причиной смертности при ВИЧ-инфекции [6]. Российская Федерация относится к числу стран с высоким уровнем туберкулеза и ухудшающейся эпидемиологической ситуацией по ВИЧ-инфекции. Заболеваемость туберкулёзом у пациентов с ВИЧ-инфекцией в 21–37 раз выше, чем у людей без ВИЧ-инфекции, а в отдельных исследованиях приведены

данные о риске развития туберкулеза на ранних стадиях ВИЧ-инфекции в 113 раз [7]. У больных ВИЧ-инфекцией смертность от туберкулёза (ТБ) достигает 43–89% [8]. Среди умерших пациентов с туберкулёзом больные сочетанной инфекцией ТБ/ВИЧ составляют более четверти, и доля их растёт. В 2014 г. заболеваемость ТБ у больных ВИЧ-инфекцией в 35 раз, а смертность от ТБ в 28 раз превысили эти показатели среди всего населения России [9].

Липиды являются одной из важнейших составляющих всех клеток организма [10]. Входя в состав клеточных мембран, фосфолипиды обуславливают их проницаемость, при этом обеспечивая нормальные процессы обмена в органах и тканях [11; 12]. Непосредственно участвуя в обеспечении целостности строения мембран, фосфолипиды поддерживают множество клеточных функций.

Цель работы состояла в том, чтобы определить изменения спектра сывороточных фосфолипидов под влиянием антиретровирусной терапии у больных ко-инфекцией туберкулёз/ВИЧ.

### **Экспериментальная часть**

Проведение работы одобрено этическим комитетом. В обозначении диагнозов заболеваний мы пользовались Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятый пересмотр [МКБ 10]. Согласно данной классификации рубрике В 20.0 соответствует болезнь, вызванная ВИЧ, с проявлениями микобактериальной инфекции.

Изучение клинико-лабораторных показателей производилось на базе Тверского областного центра по борьбе со СПИД и другими инфекционными заболеваниями (ТОЦ СПИД) и ЦНИЛ ГБОУ ВПО Тверской ГМУ Минздрава России в 2016-2017 гг. В работу вошли данные по 150 обследованным. Критериями включения в исследование больных ко-инфекцией с множественно лекарственно-устойчивым инфильтративным туберкулёзом и ВИЧ-инфекции в стадии 4А, явилось добровольное согласие пациентов на участие и использование результатов их обследования. Из исследования исключались больные с ВИЧ-инфекцией в стадии 4Б и диссеминированным туберкулёзом, а также пациенты с тяжелой сопутствующей патологией (сахарный диабет, нарушение функции печени, почек, онкологические процессы) и хроническими воспалительными заболеваниями в фазе обострения. У всех больных ВИЧ-инфекцией в стадии 4А была проанализирована клиническая картина, биохимические показатели, данные общеклинического исследования крови. Использовались методы определения иммунного статуса больных путем определения количества CD4 Т-лимфоцитов, количественное определение концентрации вируса ВИЧ в крови методом полимеразной цепной

реакции. Липидный спектр сыворотки крови был изучен у 150 человек. Уровень общих липидов, отдельных фракций фосфолипидного спектра сыворотки крови был исследован у 50 здоровых лиц, 50 больных с ко-инфекцией лекарственно чувствительного инфильтративного туберкулёза и ВИЧ-инфекции в стадии 4А у лиц, не получавших антиретровирусную терапию (группа 1), 50 больных с ко-инфекцией лекарственно-чувствительного инфильтративного туберкулёза и ВИЧ-инфекции в стадии 4А у лиц, получавших антиретровирусную терапию (группа 2). Диагноз ВИЧ-инфекция и инфильтративный туберкулёз был подтвержден у всех пациентов на основании эпидемиологических, клинических и лабораторных методов обследования. Эпидемиологическими критериями высокой вероятности инфицирования являются обнаружение у обследуемого таких факторов заражения, как половые контакты с ВИЧ-инфицированным лицом, совместный парентеральный прием наркотиков с ВИЧ-инфицированным, переливание донорской крови, полученной от ВИЧ-инфицированного лица. О заметном риске заражения речь может идти в тех случаях, когда обследуемый сообщает о половых связях или о парентеральном приеме наркотиков на территориях, где ВИЧ-инфекция значительно распространена среди той группы населения, к которой принадлежит обследуемый. Для постановки диагноза использовалась Российская классификация ВИЧ-инфекции, предложенная академиком РАМН В.В. Покровским (версия 2001 г.) [8]. Она позволяет осуществлять клиническое и диспансерное наблюдение за ВИЧ-инфицированными лицами, прогнозировать течение заболевания и определять тактику ведения больного, показания к назначению лекарственных препаратов.

Иммунологические исследования определения абсолютного количества CD4-лимфоцитов проводились методом проточной цитометрии на анализаторе Cytomic FC 500 с применением моноклональных антител. Вирусная нагрузка определялась методом полимеразной цепной реакции на приборе Abbot m2000rt.

Средний возраст больных сравниваемых групп был близким. Средний возраст группы сравнения здоровых лиц составил  $28.5 \pm 5.3$  года, у больных ТБ/ВИЧ группы 1 –  $30.1 \pm 4.8$  года, у больных ТБ/ВИЧ группы 2 –  $30.3 \pm 8.2$  года. Количество мужчин и женщин в сравниваемых группах было приблизительно одинаковым.

Липиды выделяли по Фолчу [13] и фракционировали модифицированным методом [14] с определением процентного содержания минорных липидных компонентов сыворотки крови одновременно с основными липидными фракциями с применением метода денситометрии и современного высокоточного денситометра Shimadzu CS-9000 (Япония).

Общие липиды определяли по Маршу [15]. Изучено относительное содержание следующих фракций общих фосфолипидов (ФЛ): суммарных лизофосфолипидов (ЛФЛ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ). Результаты содержания каждого липида выражались в процентах относительно уровня общих фосфолипидов и абсолютных величинах.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием компьютерных программ Excel и Biostat.

### Результаты и обсуждение

Содержание общих липидов у больных 1-й группы ВИЧ-инфекцией в стадии 4А было выше ( $430.4 \pm 8,4$  мг%) по сравнению со здоровыми лицами ( $353.1 \pm 13.1$  мг%). Разница достоверна ( $P < 0.001$ ). Содержание общих липидов у больных 2-й группы было ниже, чем у здоровых лиц, и составило  $301.5 \pm 27.4$  мг% соответственно. Разница достоверна ( $P < 0.05$ ). Сравнение относительного содержания фракций фосфолипидов сыворотки крови (табл. 1) показало, что у больных ТБ/ВИЧ, не получавших антиретровирусную терапию (АРВТ), относительное содержание суммарных ЛФЛ было выше, а ФЭ и ФХ – ниже, чем у здоровых лиц. Показатели сфингомиелина практически не отличались от нормы.

Больные 2-й группы (лечение туберкулёза + АРВТ) характеризовались более низким уровнем ЛФЛ и СМ и более высоким ФЭ по сравнению со здоровыми лицами. Содержание фосфатидилхолина было близким к норме. Больные инфильтративным туберкулёзом и ВИЧ-инфекцией, получавшие лечение туберкулёза и АРВТ (табл. 2), отличались от пациентов первой группы более низким относительным содержанием ЛФЛ, СМ. Процентное содержание ФХ у больных, получавших лечение, было выше, а ФЭ существенно, практически в два раза выше, чем у пациентов, не получавших АРВТ.

Абсолютные значения всех фракций фосфолипидов у больных ТБ/ВИЧ без АРВТ (группа 1) были выше (табл. 3), чем у здоровых лиц в других группах пациентов с туберкулёзом. Это связано с тем, что в данной группе 1 уровень общих фосфолипидов был значительно выше по сравнению с другими сравниваемыми группами. Последнее уменьшает диагностическое значение исследования только абсолютного уровня липидных и фосфолипидных фракций, так как не демонстрирует изменения соотношений между ними в динамическом процессе метаболизма липидов в организме при различных патологических процессах.

Больные с ко-инфекцией ТБ/ВИЧ отличались от здоровых лиц достоверно более низким уровнем суммарных лизофосфолипидов, сфингомиелина, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина,

вероятно, за счёт исходно более низкого содержания сывороточных общих фосфолипидов.

Таблица 1

Фосфолипидный состав сыворотки крови  
у здоровых лиц и больных ТБ/ВИЧ по группам

Фосфолипиды	Показатели фосфолипидов ( $M \pm m$ ) в отн. %		
	Здоровые лица (n=50)	ТБ/ВИЧ/ группа 1 (n=50)	ТБ/ВИЧ группа 2 (n=50)
ЛФЛ	27.5±0.6	34.3±1.2 <sup>3</sup>	25.3±0.9 <sup>1</sup>
СМ	24.0±0.4	25.2±0.5	22.5±0.7 <sup>1</sup>
ФХ	36.2±0.7	29.3±0.9 <sup>3</sup>	35.4±1.0
ФЭ	10.2±0.4	8.2±0.3 <sup>3</sup>	16.8±0.6 <sup>3</sup>

Примечание: 1, 2, 3 – достоверность различий показателей у больных ТБ/ВИЧ и здоровых лиц (<sup>1</sup>- p<0,05, <sup>2</sup>- p<0,01, <sup>3</sup>- p<0,001)

Таблица 2

Фосфолипидный состав сыворотки крови  
у больных ТБ/ВИЧ по группам

Фосфолипиды	Показатели фосфолипидов ( $M \pm m$ ), %		P
	ТБ/ВИЧ группа 1 (n=50)	ТБ/ВИЧ группа 2 (n=50)	
Лизофосфолипиды	34.3±1.2	25.3±0.9	<0.001
Сфингомиелин	25.2±0.5	22.5±0.7	<0.01
Фосфатидилхолин	29.3±0.9	35.4±1.0	<0.001
Фосфатидилэтаноламин	8.2±0.3	16.8±0.6	<0.001

Примечание: P - достоверность различий показателей у больных ТБ/ВИЧ 1- й и 2-й групп

Таблица 3

Фосфолипидный состав сыворотки крови  
у здоровых лиц и больных ТБ/ВИЧ по группам

Фосфолипиды	Показатели фосфолипидов ( $M \pm m$ ) в мг %		
	Здоровые лица (n=50)	ТБ/ВИЧ группа 1 (n=50)	ТБ/ВИЧ группа 2 (n=50)
Общие ФЛ	64.9±2.1	137.5±19.5	53.2±4.3
ЛФЛ	17.6±0.6	46.9±2.6 <sup>3</sup>	13.4±0.4 <sup>3</sup>
СМ	15.5±0.2	34.5±0.7 <sup>3</sup>	11.9±0.2 <sup>3</sup>
ФХ	23.5±0.4	40.1±1.0 <sup>3</sup>	18.7±0.3 <sup>3</sup>
ФЭ	6.6±0.2	11.2±0.3 <sup>3</sup>	8.9±0.2 <sup>3</sup>

Примечание: 1, 2, 3 – достоверность различий показателей у больных ТБ/ВИЧ и здоровых лиц (1- p<0,05, 2- p<0,01, 3- p<0,001).

Пациенты с ко-инфекцией ТБ/ВИЧ, получавшие антиретровирусную терапию, отличались от больных без АРВТ (табл. 4) существенно более низким содержанием суммарных лизофосфолипидов, сфингомиелина, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, что может служить доказательством обоснованной эффективности применения антиретровирусной терапии у больных туберкулёзом и ВИЧ-инфекцией.

Т а б л и ц а 4

Фосфолипидный состав сыворотки крови у больных ВИЧ/туберкулёз по группам

Фосфолипиды	Показатели фосфолипидов ( $M \pm m$ ), мг%		P
	ТБ/ВИЧ группа 1 (n =50)	ТБ/ВИЧ группа 2 (n =50)	
Общие ФЛ	137.5±19.5	53.2±4.3	<0.001
Лизофосфолипиды	46.9±2.6	13.4±0.4	<0.001
Сфингомиелин	34.5±0.7	11.9±0.2	<0.001
Фосфатидилхолин	40.1±1.0	18.7±0.3	<0.001
Фосфатидилэтаноламин	11.2±0.3	8.9±0.2	<0.001

Примечание: P - достоверность различий показателей у больных ТБ/ВИЧ, не получавших АРВТ (группа 1), и получавших АРВТ (группа 2)

Пониженное относительное содержание ЛФЛ и СМ в сыворотке крови у больных ко-инфекцией ТБ/ВИЧ под влияние АРВТ может быть следствием ингибирования активности эндогенных фосфолипаз, нарушений процессов рецилирования, что ведёт к накоплению этих липидов на мембранах. Увеличение относительного уровня ЛФЛ сыворотки крови у больных ко-инфекцией ТБ/ВИЧ, которые не получали АРВТ можно объяснить активацией фосфолипазы  $A_2$ , которая катализирует гидролиз эфирной связи глицерофосфолипидов, в результате чего и образуются лизофосфолипиды [16].

Выявленное у больных ко-инфекцией ТБ/ВИЧ без АРВТ сравнительно низкое относительное содержание ФХ может быть связано с тем, что под воздействием микобактерий туберкулёза снижается активность фермента фосфатидилэтаноламин-метилтрансферазы. Это, в свою очередь, приводит к снижению относительного содержания фосфатидилхолина [17]. Результаты нашего исследования подтверждают, что повышение уровня фосфатидилэтаноламина можно рассматривать в качестве доказанного маркера эффективности применения АРВТ у больных ко-инфекцией ТБ/ВИЧ.

### Выводы

У больных ко-инфекцией ТБ/ВИЧ антиретровирусная терапия приводила к восстановлению почти до нормы метаболизма фосфолипидов, что проявлялось существенно более низким уровнем общих фосфолипидов, содержанием суммарных лизофосфолипидов, сфингомиелина, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина. Это может служить доказательством обоснованной эффективности применения антиретровирусной терапии у больных туберкулёзом и ВИЧ-инфекцией.

Процентное содержание фосфатидилэтанола (ФЭ) у больных ко-инфекцией ТБ/ВИЧ было в два раза выше, чем у пациентов, не получавших АРВТ, что можно использовать в клинической практике.

### Список литературы

1. Васильева И.А., Таран Д.В. // Туберкулёз и болезни лёгких. 2014. № 15. С. 3–6.
2. Зимина В.Н., Кошечкин В.А., Кравченко А.В. Туберкулёз и ВИЧ-инфекция у взрослых. Руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 224 с.
3. Туберкулёз в Российской Федерации, 2012/2013/2014 гг. Аналитический обзор статистических показателей, используемых в Российской Федерации и в мире. М., 2015. 312 с.
4. World Health Organization: Guidelines for National Programme. Geneva, 2003. P. 40.
5. World Health Organization: «Report of Lessons Learn» Workshop on the six ProTEST Pilot Projects in Malawi, South Africa and Zambia // WHO. Geneva, 2004. P. 40.
6. Mayer-Barber K.D., Andrade B.B., Oland S.D., et al. // Nature. 2014. V. 511, № 7507. P. 99–103.
7. Чумаченко Г.В., Бабаева И.Ю., Авдеева М.Г. // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016. № 6. С. 304–312.
8. Покровский В.В. ВИЧ-инфекция и СПИД: (Национальное руководство). М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 608 с.
9. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 году: Государственный доклад. № 4: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2016. 220 с.
10. Щербакова М.Ю. // Педиатрия. 2000. № 4. С. 76–80.
11. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. Элиста: Джангар, 1999. 254 с.
12. Crain R.C. // Subcell. Biochem. 1990. V. 16. P. 45-67.
13. Folch J., Lees M., Stanley G.H.G. // J. Biol. Chem. 1957. V. 226. P. 497–509.
14. Макаров В.К. // Биомед. химия. 2004. Т. 50. С. 498–501.
15. Marsh J.B., Weinstein P.V. // J. Lip. 1966. V.7. P. 574–576.
16. Марри Р., Греннер Д., Мейерс П., Родуэлл В. Биохимия человека /пер. англ / М: Медицина; 1993. Т.1, разд. II: 111–298.
17. Султанова У.К., Борщёва Л.И., Мансурова И.Д. // Вопросы мед. химии. 1992. Т.38, № 1. С. 50–52.

## INFLUENCE OF ANTIRETROVIRAL THERAPY ON BLOOD PHOSPHOLIPIDS SPECTRUM FOR PATIENTS WITH HIV-INFECTION AND TUBERCULOSIS

P.V. Makarov, A.V. Aseev, V.K. Makarov

Tver State Medical University, Tver

The purpose of investigation was definition of features of blood phospholipid spectrum under influence of antiretroviral therapy (ARVT) for the patients with HIV/tuberculosis by a to - infection a HIV/tuberculosis. The blood phospholipid spectrum was investigated for 150 men. The level of total lipids, separate blood phospholipids fractions фосфолипидного was researched for 50 healthy persons, 50 patients with co-infection HIV/tuberculosis without antiretroviral of therapy, 50 patients with HIV/tuberculosis receiving antiretroviral therapy was researched. The abundance of the following fractions of common phospholipids - total lisophospholipids, sphingomieline, phosphatidilholine, phosphatidiletanolamine was investigated. Antiretroviral therapy for the patients with co - infection the ВИЧ/tuberculosis causes significant changes of phospholipids metabolism that appeared in essentially by more low level of total phospholipids, contents total lisophospholipids, sphingomietine, phosphatidilholine and phosphstidiletanolamine , that can be proof of the justified efficiency of application antiretroviral of therapy for patients with tuberculosis and HIV-infection. The percentage of phosphatidiletanolamune for patients with co-infection HIV/tuberculosis in 2 times was higher, than for the patients who were not receiving ARVT, that it is possible to utilize in clinical practice.

**Keywords:** *co-infection, HIV-infection, tuberculosis, antiretroviral therapy.*

*Об авторах:*

МАКАРОВ Павел Викторович – ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, Тверской государственной медицинский университет (ТГМУ). e-mail: global-create@yandex.ru

АСЕЕВ Александр Владимирович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой фтизиопульмоналогии, ТГМУ. e-mail: aseev-alex@mail.ru

МАКАРОВ Виктор Константинович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии, ТГМУ. e-mail: makarov.tver@mail.ru

Поступила в редакцию 26 сентября 2017 г.