

МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

УДК 616.153.915-07

СОСТОЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ ЛЕЧЕНИЯ ТУБЕРКУЛЁЗА ЛЁГКИХ У БОЛЬНЫХ С КО-ИНФЕКЦИЕЙ ВИЧ/ТУБЕРКУЛЁЗ

П.В. Макаров

ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава РФ
кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии

Цель работы – определить состояние биологических мембран на основе фосфолипидных показателей при различных режимах лечения туберкулёза лёгких у больных с ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз на фоне проведения антиретровирусной терапии (АРВТ).

Методы исследования. Липидный спектр сыворотки крови был изучен у 150 больных с ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз. Изучено относительное содержание следующих фракций общих фосфолипидов (ФЛ): суммарных лизофосфолипидов (ЛФЛ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ).

Результаты. Больные с лечением туберкулёза по первому стандартному режиму отличались от пациентов с множественной лекарственной устойчивостью более высокими цифрами коэффициента активности фосфолипаз, коэффициента вязкости биомембран и коэффициента деструкции мембран.

Оба режима лечения туберкулёза у больных с ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз на фоне антиретровирусной терапии вызывают изменение фосфолипидного спектра, отражая увеличение активности фосфолипаз и коэффициента деструкции мембран.

Выводы. Лечение туберкулёза лёгких по стандартному режиму терапии (HRZE) приводило к существенной более интенсивной деструкции мембран лёгочной ткани, обеспечивало более высокий лечебный эффект, так как происходило интенсивное уничтожение пораженных микобактериями туберкулёза тканей, по сравнению с лечением пациентов с МЛУ и АРВТ.

При отсутствии АРВТ наблюдалась низкая деструкция или отсутствие деструкции пораженных тканей, что может способствовать распространению, инфильтрации микобактериями лёгочных полей.

Ключевые слова: биомембраны, фосфолипиды, ВИЧ-инфекция, туберкулёз
DOI: 10.26456/vtchem20

Известно, что липиды являются одной из важнейших составляющих всех клеток организма [1]. Непосредственно участвуя в обеспечении целостности строения мембран, фосфолипиды

поддерживают множество клеточных функций. О состоянии биологических мембран можно судить по показателям фосфолипидных фракций сыворотки крови, так как известно, что фосфолипиды (ФЛ) входят в состав мембран клеток [2; 3], и соответственно всякое изменение содержания их на мембране приводит к изменению содержания их в крови.

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]. В связи с тем что в последнее десятилетие отмечается значительный рост сочетанной патологии – туберкулёз и ВИЧ-инфекция (ТБ/ВИЧ) – и ситуация приобретает характер эпидемии [7; 8; 9], представляет интерес изучение состояния биологических мембран лёгких при ко-инфекции ВИЧ/туберкулёз на основе изучения фосфолипидов сыворотки крови.

Цель работы – определить состояние биологических мембран при различных режимах лечения туберкулёза лёгких у больных с ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз на фоне проведения антиретровирусной терапии (АРВТ).

Материалы и методы

Работа одобрена этическим комитетом. Критериями включения больных в исследование были: наличие ВИЧ-инфекции (наблюдение, обследование и лечение в условиях СПИД центра), первичная диагностика туберкулеза, а также наличие уровня CD4 – лимфоцитов ниже 250 клеток/мм³. Фосфолипидный спектр сыворотки крови был изучен у 50 больных (группа I) ВИЧ-инфекцией в стадии 4Б с лекарственно-чувствительным инфильтративным туберкулёзом легких (отказ больных от АРВТ); группа II – 50 больных ВИЧ-инфекцией в стадии 4Б с лекарственно-чувствительным инфильтративным туберкулёзом легких, получавших лечение по стандартному режиму терапии (HRZE) + АРВТ; группа III – 50 больных ВИЧ-инфекцией в стадии 4Б с лекарственно-резистентным инфильтративным туберкулёзом легких, получавших лечение по поводу множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) + АРВТ.

Режим химиотерапии туберкулеза формировали в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями на основе сведений о лекарственной устойчивости возбудителя.

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.

Липиды выделяли по Фолчу [10] и фракционировали модифицированным методом [11] 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).

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 в абсолютных величинах.

Деструкцию мембран определяли на основе разработанного В.К. Макаровым [12] коэффициента $ФХ^2/СМ \times ЛФЛ$.

Степень проницаемости мембран определяли по коэффициенту проницаемости $[СМ]/[ФХ]$, разработанному В.И. Гуриным [13]. Понижение значений данного коэффициента указывало на уменьшение липидной «жидкости» мембран, т.е. увеличение её проницаемости.

Для определения активности эндогенных фосфолипаз использовали коэффициент активности фосфолипаз $[ФХ]/[ЛФХ]$, предложенный Н.Е. Кучаренко и соавт.[14] в нашей модификации $[ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ]$. Повышение его значений обратно пропорционально снижению активности фосфолипаз, т.е. указывает на снижение активности эндогенных фосфолипаз, что приводит к накоплению на биологических мембранах лизофосфолипидов и к их деструкции.

Степень проницаемости мембран определяли по коэффициенту проницаемости $[СМ]/[ФХ]$. Понижение значений данного коэффициента указывает на уменьшение липидной «жидкости» мембран, т.е. на увеличение ее проницаемости.

Кроме того, применяли коэффициент вязкости биомембран [11], который представляет собой отношение свободного холестерина к общим фосфолипидам, из которых и состоят мембраны клеток $[СХ/ФЛ]$. Существует оптимальное соотношение уровня свободного холестерина и общих фосфолипидов (СХ/ФЛ) в клетках макроорганизма. Каждое изменение в них этого соотношения проявляется изменением его значений в сыворотке крови.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием компьютерной программы Biostat.

Результаты и их обсуждение

Больные ВИЧ/туберкулёз, не получавшие АРВТ, отличались от здоровых лиц более низкими значениями коэффициента активности

фосфолипаз $[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]/[\text{ЛФЛ}]$, коэффициента проницаемости биомембран $[\text{СМ}/\text{ФХ}]$, коэффициента деструкции мембран $[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]^2/[\text{СМ} \times \text{ЛФЛ}]$ и высокими коэффициентами вязкости биомембран $[\text{СХ}/\text{ФЛ}]$ (см таблицу).

Т а б л и ц а

Значения соотношений фосфатидилхолина к лизофосфатидилхолину, сфингомиелина к фосфатидилхолину, свободного холестерина к фосфолипидам и коэффициента $[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]^2/[\text{СМ} \times \text{ЛФЛ}]$ у больных ВИЧ/туберкулёз по группам

Сравниваемые группы		Наименование коэффициентов			
		$[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]/[\text{ЛФЛ}]$	$[\text{СМ}/\text{ФХ}]$	$[\text{СХ}/\text{ФЛ}]$	$[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]^2/[\text{СМ} \times \text{ЛФЛ}]$
ВИЧ/туберкулёз (группа 1)	0	1,0±0,01	0,8±0,01	0,5±0,02	1,6±0,01
ВИЧ/туберкулёз (группа 2)	0	2,0±0,01	0,6±0,03	1,2±0,01	4,7±0,03
ВИЧ/туберкулёз (группа 3)	0	1,5±0,02	0,7±0,03	0,8±0,02	3,0±0,02
P ₁		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P ₂		<0,001	<0,01	<0,001	<0,001
P ₃		<0,001	<0,05	<0,001	<0,001

Примечание:

P₁ - достоверность различий показателей у больных ВИЧ/туберкулёз 1 - й и 2 - й групп;

P₂ – достоверность различий показателей у больных ВИЧ/туберкулёз 1 - й и 3 - й групп;

P₃ – достоверность различий показателей у больных ВИЧ/туберкулёз 2 - й и 3-й групп.

У больных 2-й группы цифровые значения коэффициентов $[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]/[\text{ЛФЛ}]$, $[\text{СХ}/\text{ФЛ}]$ и $[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]^2/[\text{СМ} \times \text{ЛФЛ}]$ были значительно выше, чем у здоровых лиц.

Больные 3-й группы характеризовались более высокими значениями коэффициентов $[\text{СМ}/\text{ФХ}]$, $[\text{СХ}/\text{ФЛ}]$ и $[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]^2/[\text{СМ} \times \text{ЛФЛ}]$ по сравнению со здоровыми лицами.

Больные 2-й и 3-й групп, получавшие АРВТ, имели достоверно более высокие значения коэффициентов $[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]/[\text{ЛФЛ}]$, $[\text{СХ}/\text{ФЛ}]$ и $[\text{ФХ}+\text{ФЭ}]^2/[\text{СМ} \times \text{ЛФЛ}]$ и более низкие $[\text{СМ}/\text{ФХ}]$ по сравнению с

пациентами первой группы ВИЧ/туберкулёз, которые не получали антиретровирусной терапии (см. таблицу).

Цифровые значения коэффициента проницаемости биомембран [СМ/ФХ] у больных, получавших АРВТ, были достоверно ниже, чем у пациентов 1-й группы, которые не получали данный вид лечения.

Больные 2-й группы с лечением туберкулёза по 1-му стандартному режиму на фоне АРВТ отличались от пациентов 3-й группы с МЛУ и АРВТ более высокими цифрами коэффициента активности фосфолипаз [ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ], коэффициента вязкости биомембран [СХ/ФЛ] и коэффициента деструкции мембран [ФХ+ФЭ]²/[СМ x ЛФЛ].

Таким образом, оба режима лечения туберкулёза у больных с ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз на фоне АРВТ вызывают увеличение активности фосфолипаз (обратно пропорционально увеличению цифровых значений коэффициента [ФХ+ФЭ]/[ЛФЛ]) и коэффициента деструкции мембран [ФХ+ФЭ]²/[СМ x ЛФЛ], указывают на подавление активности фосфолипаз, которая индуцирует патологические изменения в лёгочной ткани.

Это, в свою очередь, может приводить к накоплению на биологических мембранах лизофосфолипидов, их деструкции, расслоению мембранного геля на несколько фаз, изменению температуры перехода и, как результат, к существенной деструкции лёгочной ткани, поражённой микобактериями туберкулёза.

Уменьшение соотношения СМ/ФХ у больных с ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз, получавших АРВТ, по сравнению с не получавшими показывает, что АРВТ вызывает увеличение «текучести», а значит, и проницаемости, способствует проникновению туберкулоцидных препаратов в пораженные микобактериями клетки лёгочной ткани.

Значительное увеличение значений коэффициента СХ/ФЛ показывает, что в целом характерным для больных ко-инфекцией ВИЧ/туберкулёз при получении АРВТ является повышение активности фермента лецитинхолестеринэстеразы (ЛХАТ), что может приводить к увеличению микровязкости мембран, причём для группы 3 практически до нормы.

Выводы

Лечение туберкулёза лёгких по стандартному режиму терапии (HRZE) приводило к существенной более интенсивной деструкции мембран лёгочной ткани, обеспечивало более высокий лечебный эффект, так как происходило интенсивное уничтожение пораженных микобактериями туберкулёза тканей по сравнению с лечением пациентов с МЛУ и АРВТ.

При отсутствии АРВТ наблюдалась низкая деструкция или отсутствие деструкции пораженных тканей, что может способствовать распространению, инфильтрации микобактериями лёгочных полей.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

Список литературы

1. Щербакова М.Ю. Нарушения липидного обмена. // Педиатрия. 2000. №. 4. 76–80. [Scherbakova M.Yu. Violations of lipid exchange. // *Pediatrics*. 2000. №. 4: 76–80. (In Russ.).
2. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. Элиста, 1999. 249 с. [Komarov F.I., Korovkin B.F., Menshikov V.V. *Biohimicheskie issledovaniya v klinike* (Biochemical researches in clinic) Elista, 1999. 249 с. (In Russ.).
3. Crain R.C. Phospholipid transfer proteins as of membrane structure and function. *Subcell. Biochem.* 1990; 16: 45–67.
4. World Health Organization: Guidelines for National Programme. Geneva, 2003. 40 с.
5. World Health Organization: «Report of Lessons Learn» Workshop on the six ProTEST Pilot Projects in Malawi, South Africa and Zambia // WHO. Geneva, 2004. 40 с.
6. Mayer-Barber K.D., Andrade B.B., Oland S.D. et al. Host-directed therapy of tuberculosis based on interleukin-1 and type I interferon crosstalk.- *Nature*. 2014. V. 511, №. 7507. P. 99–103.
7. Васильева, И.А., Таран Д.В. Проект по сбору и изучению лучших примеров организации лечения и клинического ведения больных туберкулёзом, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя и сочетанным с ВИЧ-инфекцией // Туберкулёз и болезни лёгких. 2014. С. 3–6. [Vasileva, I.A., Taran D.V. The project for collection and learning of the best examples of organization of treatment and clinical support of the patients with tuberculosis, including persons with multiple medicinal stability of an agent and connected with HIV-infection. *Tuberkulyez i bolezni lyegkih*. 2014. С. 3–6. (In Russ.).
8. Зимина В.Н., Кошечкин В.А., Кравченко А.В. Туберкулёз и ВИЧ-инфекция у взрослых: Руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 224 с. [Zimina V.N., Koshechkin V.A., Kravchenko A.V. *TuberkulYoz i VICH-infektsiya u vzroslyih. Rukovodstvo*.(Tuberculosis and HIV- infection for the adult). М.: GEOTAR-Media, 2014. 224 p. (In Russ.).
9. Туберкулёз в Российской Федерации, 2012/2013/2014 гг.: Аналитический обзор статистических показателей, используемых в Российской Федерации и в мире. М. 2015. 312 с. [Tuberkulyez v Rossiyskoy Federatsii, 2012/2013/2014 gg. *Analiticheskiy obzor statisticheskikh pokazateley, ispolzuemyih v Rossiyskoy Federatsii i v mire*. (Tuberculosis in Russian Federation, 2012/2013/2014 гг. The state-of-the-art review of statistical metrics used in Russian Federation and in the world. М. 2015. 312 p. (In Russ.).

10. . Folch J., Lees M., Stanley G.H.G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957. №. 226. 497–509.
11. Макаров В.К., Стариков С.В. Алкоголь, ангина и состояние биологических мембран // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. 2011. №. 3. С. 52–54. [Makarov V.K., Starikov S.V. Alcohol, tonsillitis and condition of biological diaphragms. *Voprosyi biologicheskoy meditsinskoj i farmatsevticheskoy himii.* 2011. P. 52–54. (In Russ.).
12. Макаров В.К., Левенцова А.Е. Состояние биологических мембран у больных острым инфекционным и острым алкогольным гастроэнтеритами. *Токсикологический вестник.* 2013. №. 3. С. 5–7. [Makarov V.K., Leventsova A.E. State of biological diaphragms for the patients with acute infectious and acute alcoholic gastroenteritis. *Toksikologicheskij vestnik.* 2013. № 3. С. 5–7. (In Russ.).
13. Гурин В.И. Обмен липидов при гипертермии, гипотермии и лихорадке - Минск, 1986. 192 с. [Gurin V. P. Obmen lipidov pri gipertermii, gipotermii i lihoradke (Exchange of lipids at hypertermia, hypothermia and fever Minsk, 1986. 192 p. (In Russ.).
14. Кучаренко Н.Е., Васильев А.Н. Липиды. Киев. 1985. 247 с. [Kucharenco N.E., Vasiliev A.N. *Lipidiy (Lipids.* Kiev. 1985. 247 p. (In Russ.).

CONDITION OF BIOLOGICAL MEMBRANES AT VARIOUS REGIMES OF LUNG TUBERCULOSIS TREATMENT AT PATIENTS WITH CO - INFECTION HIV/TUBERCULOSIS

Makarov P.V.

Tver state medical university, Russia

The purpose. The purpose of operation - to detect of biological membranes condition at various modes of treatment lung tuberculosis at the patients with co-infection HIV/tuberculosis on the background of carrying out antiretroviral therapy (ARVT).

Research techniques. Blood lipid spectrum for 150 patients with co-infection HIV/tuberculosis was investigated . The abundance of the following fractions of common phospholipids (PL) - lisophospholipids (LPL), sphingomielin (SM), phosphatidilholin (PH), phosphatidiletanolamin (PA) was investigated.

Results. The patients with treatment of a tuberculosis on the first reference mode differed from the patients with multiple medicinal resistance with higher-level phospholipas activity, coefficient of viscosity of biomembranes and with coefficient of membrane destruction.

Both modes of treatment of a tuberculosis for the patients with co-infection HIV/tuberculosis on a background antiretroviral therapy cause increase of phospholipas activity and coefficient membrane destruction.

Conclusions. The treatment of lung tuberculosis on the first therapy (HRZE) regime was differed from treatment of the patients with multiple medicinal stability by much more intensive destruction of lung membranes, provided higher medical effect, as there was an intensive erasure hit tuberculosis micobactrium of a lung tissues. It allows to be recommending for treatment of co-infection HIV/TUBERCULOSIS the first reference of a tuberculosis treatment (HRZE).

Key words: *HIV-infection, tuberculosis, lipids, and biomembranes.*

Об авторе:

МАКАРОВ Павел Викторович – ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет». E-mail: global-create@yandex.ru