

птоза нейтрофилов при действии липополисахаридов // Биол. мембраны. — 2010. — Т. 27, №1. — С. 18–27.

3. Самсыгина Г.А. О предрасполагающих факторах и факторах риска развития неонатального сепсиса и о современных подходах его лечения // Педиатрия. — 2012. — Т. 91, №3. — С. 32–37.

4. Широкова А.В. Апоптоз. Сигнальные пути и изменение водного и ионного баланса клетки // Цитология. — 2007. — Т. 49, №5. — С. 385–394.

5. Bochud P.Y., Calandra Th. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implication for future treatment // BMJ. — 2003. — Vol. 326, N 738. — P. 262–265.

6. Castedo M., Hirsch T., Susi S.A. et al. Sequential acquisition of mitochondrial and plasma membrane alterations during early lymphocyte apoptosis // J. Immunol. — 1996. — Vol. 157, N 2. — P. 512–521.

7. Coopersmith C.M., Stromberg P.E., Dunne W.M. et al. Inhibition of intestinal epithelial apoptosis and survival in a murine model of pneumonia-induced sepsis // JAMA. — 2002. — Vol. 287. — P. 1716.

8. Hacker G. The morphology of apoptosis // Cell Tissue Res. — 2000. — Vol. 301. — P. 5–17.

9. Hotchkiss R.S., Swanson P.E., Freeman B.D. et al. Apop-

totic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction // Crit. Care Med. — 1999. — Vol. 27. — P. 1230–1251.

10. Hotchkiss R.S., Tinsley K.W., Swanson P.E. et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4⁺ T lymphocytes in humans // J. Immunol. — 2001. — Vol. 166. — P. 6952–6963.

11. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death // Toxicol. Pathol. — 2007. — Vol. 35, issue 4. — P. 495–516.

12. Kasten K.R., Tschup J., Adediran S.G. et al. T cells are potent early mediators of the host response to sepsis // Shock. — 2010. — Vol. 34, N 4. — P. 327–336.

13. Milot E., Fotouhi-Ardakani N., Filep J.G. Myeloid nuclear differentiation antigen, neutrophil apoptosis and sepsis // Front Immunol. — 2012. — Vol. 3. — P. 397.

14. Richard S.H., Irene E.K. The pathophysiology and treatment of sepsis // New Engl. J. Med. — 2003. — Vol. 348, N 2. — P. 138–150.

15. Sarah F., Leitch A.E., Duffin R. et al. Neutrophil Apoptosis: Relevance to the Innate Immune Response and Inflammatory Disease // J. Innate Immun. — 2010. — Vol. 2, N 3. — P. 216–227.

УДК 577.121.7: 578.891: 578.828.6: 616.89-008.441.13-008.1: 616.36-002: 616.153.1

НО34

ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛЬНЫМ ДЕЛИРИЕМ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСАМИ ГЕПАТИТА С И ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА

Вадим Эдуардович Цейликман¹*, Константин Александрович Бабин²,
Дмитрий Борисович Виноградов², Юлия Михайловна Шатрова¹, Борис Васильевич Изаровский²,
Евгения Борисовна Манухина⁴, Гарри Фред Дауни⁴, Ольга Борисовна Цейликман³,
Андрей Ханифович Мингазов¹

¹Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск,

²Челябинская областная клиническая наркологическая больница,

³Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск,

⁴Центр медицинских наук Университета Северного Техаса (Форт Уэрт)

Реферат

Цель. Определить вклад влияния коморбидной вирусной инфекции на особенности окислительного стресса при алкогольном делирии.

Методы. Обследование было выполнено на 110 мужчинах трудоспособного возраста (23–55 лет) с диагнозом «алкогольный делирий», из них 28 пациентов — с вирусным гепатитом С, 18 пациентов — с коморбидным инфицированием вирусом иммунодефицита человека, 44 больных — с алкогольным делирием без коморбидных вирусных инфекций. У 20 больных алкогольным делирием одновременно обнаружены вирусы гепатита С и иммунодефицита человека. В крови определяли содержание молекулярных продуктов перекисного окисления липидов и карбонилированных белков.

Результаты. Во всех исследуемых группах выявлены признаки цитолитического синдрома в виде повышенной активности аминотрансфераз и окислительного стресса, проявляющегося в повышении содержания карбонилированных белков относительно контроля. Однако исследованные группы варьировали по выраженности как цитолитического синдрома, так и окислительного стресса. Наиболее отчетливое увеличение активности аминотрансфераз и повышение уровня карбонилированных белков характерно для групп пациентов, инфицированных вирусом гепатита С и вирусом иммунодефицита человека, но не страдающих алкогольной зависимостью. В этих группах также снижалось содержание в крови продуктов перекисного окисления липидов. В условиях алкогольного делирия, а также при инфицировании пациентов, страдающих алкоголизмом, вирусом гепатита С и вирусом иммунодефицита человека, как и у больных без алкогольной зависимости, но инфицированных этими вирусами, окислительный стресс проявляется исключительно в усилении карбонилирования белков.

Вывод. Коморбидная вирусная инфекция влияет на масштабы окислительного стресса и дисфункции печени у больных алкогольным делирием.

Ключевые слова: алкогольный делирий, вирусный гепатит С, вирус иммунодефицита человека, перекисное окисление липидов, карбонилирование белков.

FEATURES OF OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH DELIRIUM TREMENS INFECTED WITH HEPATITIS C AND HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS V.E. Tseilikman¹, K.A. Babin², D.B. Vinogradov³, Yu.M. Shatrova¹, B.V. Izarovskiy², E.B. Manukhina³, H.F. Downey³, O.B. Tseilikman⁴. ¹South Ural State Medical University, Chelyabinsk Russia, ²Chelyabinsk Regional Clinical Drug Addiction Treatment Hospital, Chelyabinsk, Russia, ³National Research South Ural State University, Chelyabinsk, Russia, ⁴University of North Texas Health Science Center, Fort Worth, USA. **Aim.** To determine the impact of concomitant viral infection on oxidative stress features in patients with delirium tremens. **Methods.** 110 male patients of working age (23–55 years) with a diagnosis of «delirium tremens» were included, of which 28 patients had with concomitant hepatitis C virus (HCV) infection, 18 patients – concomitant human immunodeficiency virus (HIV) infection, 44 patients had delirium tremens without any concomitant viral infections. An HCV and HIV co-infection was diagnosed in 20 patients with delirium tremens. Lipid peroxidation products and carbonylated proteins blood levels were examined in all patient groups. **Results.** Signs of cytolysis (elevated levels of transaminases and signs of oxidative stress that manifested as an increase of carbonilated proteins levels compared to control) were revealed in all groups. However, the study groups varied in severity of both cytolysis and oxidative stress. The most marked increase in transaminases and carbonylated proteins levels was characteristic for patients infected with HCV and HIV, but with no history of increased alcohol consumption. Also, lipid peroxidation molecular products levels were decreased in these groups. In patients with delirium tremens, as well as in alcoholics infected with HCV and HIV, like in patients with no history of increased alcohol consumption infected with HCV and HIV, oxidative stress manifested only in enhancing protein carbonylation. **Conclusion.** Concomitant viral infection affects the extent of oxidative stress and hepatic dysfunction in patients with delirium tremens. **Keywords:** delirium tremens, hepatitis C virus, human immunodeficiency virus, lipid peroxidation, protein carbonylation.

Алкоголизм широко распространён среди пациентов, инфицированных вирусом гепатита С (ВГС) и вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [1, 5, 7], причём хроническое употребление этанола усиливает репликацию и того, и другого вируса [8]. Окислительный стресс способствует прогрессированию алкоголизма, а также ВГС и ВИЧ-инфекции [5]. В случаях ВГС и ВИЧ-инфекции окислительный стресс непосредственно связан с экспрессией некоторых вирусных белков. Их экспрессия может осуществляться на фоне длительного окислительного стресса, обусловленного прямым токсическим действием этанола и продуктов его метаболизма в организме, таких как уксусный альдегид [5]. Не исключено регуляторное действие вирусных белков на различные звенья клеточного метаболизма, включая свободнорадикальное окисление, что может отразиться на выраженности окислительного стресса у инфицированных ВГС и ВИЧ, больных алкоголизмом. В свете этого мы посчитали целесообразным исследование соотношения между

перекисным окислением липидов и карбонилированием белков у больных алкогольным делирием, инфицированных и коинфицированных ВГС и ВИЧ.

Клинико-лабораторное обследование было выполнено на 110 мужчинах трудоспособного возраста (23–55 лет) с диагнозом «алкогольный делирий», из них 28 пациентов – с диагнозом «алкогольный делирий» и ВГС (группа «АД + ВГС»), 18 ВИЧ-инфицированных (группа «АД + ВИЧ»), 44 – с алкогольным делирием без коморбидных вирусных инфекций (группа «АД»), 20 – коинфицированных ВГС и ВИЧ (группа «АД + ВГС + ВИЧ»). Критерием включения было наличие алкоголизма II–III стадии. Критерии исключения: хронические заболевания (туберкулёз, сахарный диабет). В качестве группы сравнения использовали пациентов, не страдающих алкоголизмом и наркоманией, инфицированных ВГС (группа «ВГС», 12 человек) и 10 ВИЧ-инфицированных больных (группа «ВИЧ»). В качестве контроля были исследованы

Таблица 1

Содержание молекулярных продуктов перекисного окисления липидов и карбонилированных белков у больных алкогольным делирием с коморбидной инфекцией вирусом гепатита С (ВГС) и вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)

Показатели	Базальные КД и СТ, у.е.о.	Индукцированные КД и СТ, у.е.о.	Карбонилированные белки, мкМ/г белка
1. Контроль (n=22)	0,349±0,027	192,5±4,7	38,23±3,14
2. Алкогольный делирий (n=42)	0,21±0,048*	174,6±2,4*	198,4±10,2*
3. ВГС (n=12)	0,16±0,024*	169,4±5,29*	270,6±15,14*
4. ВИЧ (n=10)	0,23±0,019*	173,7±4,49*	309,46±20,5*
5. Алкогольный делирий + ВГС (n=28)	0,11±0,007*#	161,8±5,39*	106,23±10,8*#
6. Алкогольный делирий + ВИЧ (n=18)	0,104±0,007*#	170,36±7,4*	109,28±9,7*#
7. Алкогольный делирий + ВИЧ + ВГС (n=20)	0,28±0,021*#^	169,8±4,32*	293,42±6,27*#^

Примечание. В таблице содержание гептан-растворимых кетодиенов (КД) и сопряжённых триенов (СТ) на базальном уровне представлено в виде условных единиц окисления (у.е.о.), в виде отношений экстинкции при E278 нм к E220 нм (E278/E220). Этим же индексом выражалось содержание изо-пропанол-растворимых кетодиенов и сопряжённых триенов после индукции в системе Fe²⁺/аскорбат. *Значимость различий с 1-й группой; #значимость различий со 2-й группой; ^значимость различий с группами 3 и 4.

мужчины (22 человека в возрасте 24–52 лет), не страдающие алкоголизмом и не инфицированные ВГС и ВИЧ. К ним применяли те же критерии исключения, как и к больным с алкогольным делирием.

Забор крови для лабораторных исследований осуществляли путём пункции кубитальной вены. В плазме крови по методике Е.Е. Дубининой и соавт. [3] определяли уровень спонтанного и металл-катализируемого окисления белков. Метод оценки окислительной модификации белков основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Содержание молекулярных продуктов перекисного окисления липидов определяли по И.А. Волчегорскому и соавт [2]. По методике Е.И. Львовской и соавт. определяли уровень Fe²⁺/аскорбат-индуцированного перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4].

Результаты обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики и выражали в виде средней арифметической (М) и её стандартной ошибки (m). Статистически значимые различия между несколькими группами определяли с помощью критерия Краскелла-Уоллиса. Для определения статистически значимых различий между двумя сравниваемыми группами использовали критерий Манна-Уитни (U). Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Статистические взаимосвязи изучали при помощи непараметрического корреляционного анализа, выполняя расчёт коэффициентов корреляции рангов по Спирмену (R_s).

В ходе исследования было установлено, что во всех группах наблюдались признаки цитолитического синдрома в виде повышенной активности аминотрансфераз и окислительного стресса, проявляющегося в повышении содержания карбонилированных белков относительно контроля (табл. 1). Однако исследованные группы варьировали по выраженности как цитолитического синдрома, так и окислительного стресса. Наиболее отчетливое увеличение активности аминотрансфераз

и повышение уровня карбонилированных белков характерно для групп «ВГС» и «ВИЧ». В этих группах также снижалось содержание молекулярных продуктов ПОЛ на базальном уровне при одновременном увеличении содержания Fe²⁺/аскорбат-индуцированного ПОЛ.

В группах «АД», «АД + ВГС» и «АД + ВИЧ» также отмечено усиление окислительного стресса при одновременном повышении уровня аминотрансфераз и показателя тимоловой пробы (табл. 2). При этом в группе «АД» зарегистрировано увеличение как базального, так и металл-индуцируемого карбонилирования белков по сравнению с контролем. Также по сравнению с контролем отмечено снижение содержания молекулярных продуктов ПОЛ на фоне повышенного содержания Fe²⁺/аскорбат-индуцированного ПОЛ. Аналогичное соотношение между карбонилированием белков и ПОЛ наблюдается у больных группы «АД + ВГС». Таким образом, в группах «АД + ВГС» и «ВГС» выявлено усиление карбонилирования белков при одновременном снижении уровня ПОЛ.

Однако выраженность этих изменений широко варьирует в исследованных группах. Так, у пациентов с «АД + ВГС» наблюдался более низкий уровень карбонилированных белков и молекулярных продуктов ПОЛ по сравнению с группой «ВГС». Помимо этого, в группе «АД + ВГС» по сравнению с группой «ВГС» отмечены более низкие значения показателя тимоловой пробы, а также активности аминотрансфераз крови. Установлены противоположные тенденции при сопоставлении инфицированных и неинфицированных больных алкогольным делирием. Так, в группе «АД + ВГС» по сравнению с группой «АД» отмечены более высокие значения тимоловой пробы и активности аминотрансфераз на фоне более выраженного окислительного стресса, проявляющегося в более высоком уровне карбонилированных белков и молекулярных продуктов ПОЛ. Наиболее высокий уровень окислительного стресса зарегистрирован у больных алкоголизмом, одновременно инфицированных ВГС и ВИЧ. У них по сравнению с

Таблица 2
Активность аминотрансфераз и показатель тимоловой пробы у больных алкогольным делирием с коморбидным инфицированием вирусом гепатита С (ВГС) и вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)

Показатели	АСТ, ЕД/л	АЛТ, ЕД/л	Тимоловая проба, ЕД/л
1. Контроль(n=22)	34,9±5,27	29,25±4,7	2,3±0,14
2. Алкогольный делирий (n=42)	179,14±9,32	104,23±11,45	5,31 ±0,72*
3. ВГС (n=12)	151,24±7,28	145,32±6,29	10,98±1,14*
4. ВИЧ (n=10)	190,23±10,78	173,7±4,49*	11,46±0,95*
5. Алкогольный делирий + ВГС (n=28)	242,21±12,48*	174,6±9,4*	6,45±0,76
6. Алкогольный делирий + ВИЧ (n=18)	199,25±11,74*#	123,36±9,4*	6,98±0,83
7. Алкогольный делирий + ВИЧ + ВГС (n=20)	544,12 ±60,021*#;^	169,8±4,32*	12,42±1,27*#^

Примечание. Приведены условные единицы активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) и условные единицы показателя тимоловой пробы; *значимость различий с 1-й группой; #значимость различий со 2-й группой; ^значимость различий с группами 3 и 4.

группой «АД + ВГС» повышен уровень карбонилированных белков и гептан-растворимых диеновых конъюгатов, а также резко увеличены значения тимоловой пробы и активности аминотрансфераз.

При сопоставлении группы «АД + ВГС + ВИЧ» с группой «ВГС» не были обнаружены статистически значимые различия по показателям тимоловой пробы и активности аминотрансфераз. Однако в группе «АД + ВГС + ВИЧ» по сравнению с группой «ВГС» отмечено более высокое содержание металл-индуцированных карбонилированных белков и молекулярных продуктов ПОЛ. Аналогичные тенденции наблюдаются при сопоставлении между группами «АД + ВГС + ВИЧ» и группой «ВИЧ».

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в условиях алкогольного делирия, а также при инфицировании больных алкоголизмом ВГС и ВИЧ, как и у людей, не страдающих алкоголизмом, но инфицированных этими вирусами, окислительный стресс проявляется исключительно в усилении карбонилирования белков. Снижение уровня ПОЛ во всех рассматриваемых случаях может быть связано с дефицитом ненасыщенных жирных кислот, служащих основными субстратами для перекисления. В пользу этого свидетельствует факт снижения уровня Fe^{2+} /аскорбат-индуцированного ПОЛ, характеризующего окисляемость липидов.

При исследуемых заболеваниях усиление окислительного стресса ассоциируется с дисфункцией печени, проявляющейся в увеличении показателей тимоловой пробы. Рост аминотрансферазной активности может отражать цитолиз гепатоцитов. Известно, что при алкогольном делирии, так же как и при рассматриваемых вирусных инфекциях, развивается гепатит [1]. У пациентов, инфицированных ВИЧ и ВГС, отмечены более высокие значения тимоловой пробы, чем у неинфицированных больных алкоголизмом. Однако активность аминотрансфераз в группах «АД» «ВГС» и «ВИЧ» сопоставима. Таким образом, при вирусной инфекции по сравнению с алкоголизмом более отчетливо выражено воспалительное поражение печени, несмотря на одинаковую выраженность цитолитического синдрома.

В связи с этим уместно обратить внимание на тот факт, что именно для данных вирусных инфекций характерен наиболее высокий уровень карбонилирования белков. Между тем в группах «ВГС» и «ВИЧ» отмечены положительные корреляции между содержанием карбонилированных белков и показателем тимоловой пробы. Особенно важно, что в группах «АД + ВГС» и «АД + ВИЧ» содержание карбонилированных белков было ниже, чем в группах инфицированных, не страдающих алкоголизмом, и выше, чем у неинфицированных больных алкоголизмом. Аналогичные соотношения получены по показателям тимоловой пробы. Скорее всего, это связано с ролью карбонилирования белков в прогрессировании вирусной инфекции. Вероятно, при ВГС и ВИЧ-инфекции определённая группа вирусных белков вызывает окислительный стресс в органах и тканях, кото-

рый регистрируется в виде повышенного уровня карбонилированных белков в группах «ВГС» и «ВИЧ». В случае групп «АД + ВГС» и «АД + ВИЧ» экспрессия вирусных белков осуществляется на фоне алкоголь-индуцированного окислительного стресса. При этом могут карбонилироваться и вирусные белки, что ограничивает прогрессирование вирусного гепатита. Однако совместное инфицирование ВГС и ВИЧ у больных алкоголизмом приводит к «резонансу» вирус-зависимого и алкоголь-зависимого воспалительного поражения печени, что проявляется в более выраженном по сравнению с группами «АД + ВГС» и «АД + ВИЧ» приросте активности аспартатаминотрансферазы, увеличении показателя тимоловой пробы и содержания карбонилированных белков.

ВЫВОДЫ

1. У больных алкогольным делирием, инфицированных вирусами гепатита С и иммунодефицита человека, окислительный стресс в виде повышения содержания карбонилированных белков более выражен по сравнению с неинфицированными больными алкоголизмом.

2. У инфицированных и неинфицированных больных алкогольным делирием снижение уровня перекисного окисления липидов на базальном уровне ассоциируется со снижением уровня Fe^{2+} /аскорбат-индуцированного перекисного окисления липидов.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.B37.21.0578 от 10.08.2012.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альтигулер В.Б., Абдуллаев Т.Ю. Клинические особенности алкоголизма у больных с патологией печени // *Вопр. наркол.* — 2001. — №1. — С. 33–41.
2. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейлишман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. — Челябинск: изд-во ЧГПУ, 2000 — 167 с.
3. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // *Вопр. мед. химии.* — 1995. — №41. — С. 24–26.
4. Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лифшиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов ПОЛ // *Вопр. мед. химии.* — 1991. — №4. — С. 92–93.
5. Таганович А.Д., Олецкий О.И., Котович И.Л. Патологическая биохимия. — М.: Бином, 2013. — 447 с.
6. Bukong T.N., Hou W., Kodys K., Szabo G. Ethanol facilitates hepatitis C virus replication via up-regulation of GW182 and heat shock protein 90 in human hepatoma cells // *Hepatology.* — 2013. — Vol. 57, N 1. — P. 70–80.
7. Hou W., Bukong T.N., Kodys K., Szabo G. Alcohol facilitates HCV RNA replication via up-regulation of miR-122 expression and inhibition of cyclin G1 in human hepatoma cells // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 2013. — Vol. 37, N 4. — P. 599–608.
8. Ruggieri A., Anticoli S., Nencioni L. et al. Interplay between hepatitis C virus and redox cell signaling // *Int. J. Mol. Sci.* — 2013. — Vol. 14, N 3. — P. 4705–4721.