

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ИММУНОГРАММЫ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ГЕРОИНОВЫХ НАРКОМАНОВ

Михаил Александрович Шатырко¹, Игорь Владимирович Решетников²,
Святослав Валентинович Голодный², Андрей Ханифович Мингазов²,
Денис Александрович Козочкин², Борис Васильевич Изаровский²,
Вадим Эдуардович Цейликман^{2*}

¹Челябинская областная клиническая наркологическая больница, г. Челябинск, Россия;

²Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-772

Цель. Определить вклад героиновой наркомании в особенности иммунограммы и окислительного стресса у лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ).

Методы. Исследование выполнено с участием 104 человек трудоспособного возраста (23–40 лет). Первую группу составили 17 ВИЧ-инфицированных с III стадией заболевания, внутривенно принимающих наркотики; вторую группу — 30 ВИЧ-инфицированных, не принимающих наркотики; третью группу — 25 потребителей инъекционных наркотиков, не инфицированных ВИЧ; четвёртую группу — 32 условно здоровых человека. Определение субпопуляционного состава лейкоцитов проводили на проточном цитометре «Beckman CoulterFC 500». В крови определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов и карбонилированных белков.

Результаты. У ВИЧ-инфицированных героиновых наркоманов усугублялся дефицит Т-хелперов. Кроме того, наблюдалось увеличение содержания CD16⁺-моноцитов. В группе неинфицированных наркоманов также выявлено снижение количества Т-хелперов. При этом остальные показатели иммунограммы не отличались статистически значимо от контрольных значений. В группе ВИЧ-инфицированных наркоманов обнаружено ещё более отчётливое уменьшение содержания Т-хелперов. При этом количество Т-хелперов снижалось как по отношению к группе ВИЧ-инфицированных лиц, не употреблявших инъекционные наркотики, так и по отношению к группе неинфицированных наркоманов. Окислительный стресс проявлялся в дополнительном усилении карбонилирования белков. У ВИЧ-инфицированных наркоманов содержание карбонилированных белков в 4,5 раза превысило контрольный уровень, а также было статистически значимо выше по сравнению с неинфицированными наркоманами и ВИЧ-инфицированными лицами, не употреблявшими инъекционные наркотики.

Вывод. Героиновая наркомания усугубляет характерное для ВИЧ-инфицированных лиц снижение уровня CD4⁺-лимфоцитов одновременно с усилением свободнорадикального окисления.

Ключевые слова: ВИЧ, перекисное окисление липидов, карбонилирование белков, героиновая наркомания.

PECULIARITIES OF IMMUNOGRAMM SHIFTS AND FREE RADICAL OXIDATION MARKERS OF BLOOD PLASMA IN HIV-INFECTED HEROIN ADDICTS

M.A. Shatirko¹, I.V. Reshetnikov², S.V. Golodnyi², A.Ch. Mingazov², B.V. Izarovsky², V.E. Tseitlikman²

¹Chelyabinsk Regional Clinical Drug Treatment Hospital, Chelyabinsk, Russia;

²South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Aim. The contribution of heroin addiction in particular immunogram and oxidative stress in HIV-infected individuals.

Methods. The study was performed on 104 patients of working age (23–40 years). The first group consisted of 17 HIV-infected patients with stage III disease, intravenous drug users; the second group — 30 HIV-infected patients not taking the drugs; the third group — 25 injecting drug users not infected with HIV; the fourth group — 32 apparently healthy person. Determination of leukocyte subpopulation composition performed on a flow cytometer «Beckman CoulterFC 500». The blood was determined by the content of lipid peroxidation products and carbonylated proteins.

Results. In HIV-infected heroin addicts compounded was the deficit of T-helper cells. Furthermore, there was increase in CD16⁺-monocytes. In the group of HIV not-infected drug users also showed a reduction in the number of T-helper cells. Other parameters of the immunogram did not differ significantly from control values. In the group of HIV-infected drug addicts found was more distinct decrease in T-helper cells. The number of T-helper cells decreased both in relation to a group of HIV-infected persons who do not inject drugs and in relation to a group of non-infected drug users. Oxidative stress was manifested in a further strengthening of the carbonylation of proteins. In HIV-infected drug users carbonylated protein content was 4.5 times higher than the control level, and was significantly higher than non-infected drug addicts and HIV-infected persons who do not inject drugs.

Conclusion. Heroin addiction exacerbates characteristic for HIV-infected individual decrease in CD4⁺-lymphocytes along with increased free radical oxidation.

Keywords: HIV, lipid peroxidation, protein carbonylation, heroin addiction.

В настоящее время возрастает количество лиц, потребляющих наркотики, что увеличивает риск распространения инфекции, обусловленной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [1]. Кроме того, среди наркоманов

распространены органические поражения головного мозга и печени, которые способны обуславливать развитие окислительного стресса [2]. В свою очередь окислительный стресс может способствовать репликации вирусной рибонуклеиновой кислоты (РНК) и за счёт этого усиливать тяжесть заболевания [2, 5].

Таблица 1

Содержание кортизола, показатели иммунограммы и свободнорадикального окисления у ВИЧ-инфицированных наркоманов

Показатели	Контроль (n=32)	ВИЧ (n=30)	ПИН (n=25)	ВИЧ + ПИН (n=17)
Кортизол, нМ/л	434,3±15,7	1051,29±30,7*	867,21±24,3*	693,35±15,92#
CD4 ⁺ -лимфоциты, %	43,07±1,10	23,42±1,12*	27,75±1,63	20,37±1,77*
CD16 ⁺ -моноциты, %	0,73±0,08	1,10±0,08*	0,96±0,23	1,59±0,37
CD16 ⁺ , Т- и NK-клетки, %	28,40±0,99	28,32±1,21	39,60±4,09	22,29±3,12#
КБ, мкМ/г белка	31,45±3,29	255,32±15,5*	225,34±21,2*	434,21±41,23#
Базальные КД и СТ, у.е.о	0,35±0,06	0,41±0,09	0,33±0,045	0,36±0,05

Примечание: 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); ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; ПИН – потребители инъекционных наркотиков; КБ – карбонилированные белки; *р <0,05 по сравнению с контролем; #р <0,05 по сравнению с четвёртой группой.

Цель исследования – определить вклад героиновой наркомании в особенности иммунограммы и окислительного стресса у ВИЧ-инфицированных.

Исследование выполнено с участием 104 человек в возрасте 23–40 лет. Первую группу составили 17 ВИЧ-инфицированных с III стадией заболевания, внутривенно принимающих наркотики (потребители инъекционных наркотиков); вторую группу составили 30 ВИЧ-инфицированных, не принимающих наркотики; третью группу – 25 потребителей инъекционных наркотиков, не инфицированных ВИЧ; четвёртую группу – 32 условно здоровых человека.

Взятие крови для лабораторных исследований осуществляли путём пункции кубитальной вены. Определение субпопуляционного состава лейкоцитов проводили на проточном цитометре «Beckman CoulterFC 500» с использованием специально разработанной платформы на базе реактива CytoDiff («Beckman Coulter»). 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. [3].

Результаты обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики и выражали в виде среднего арифметического (М) и его стандартной ошибки (m). Статистически значимые различия между несколькими группами определяли с помощью критерия Краскала-Уоллиса (Kruskal-

Wallis). Для выявления статистически значимых различий между двумя сравниваемыми группами использовали критерий Манна-Уитни (U). Различия считали значимыми при р <0,05. Статистические взаимосвязи изучали при помощи непараметрического корреляционного анализа, выполняя расчёт коэффициентов корреляции рангов по Спирмену (R_s).

Для ВИЧ-инфицированных, не употребляющих наркотики, а также для неинфицированных наркоманов было характерно повышение концентрации кортизола. Его содержание у больных ВИЧ-инфекцией оказалось выше, чем в контроле, но ниже, чем в упомянутых ранее группах. В ходе исследования установлено, что у ВИЧ-инфицированных, не употребляющих инъекционные наркотики, наблюдалось снижение уровня Т-хелперов и увеличение содержания CD16⁺-моноцитов (табл. 1). В группе неинфицированных наркоманов также выявлено снижение содержания Т-хелперов. При этом остальные показатели иммунограммы не отличались статистически значимо от контрольной группы. В группе ВИЧ-инфицированных наркоманов наблюдалось ещё более отчётливое снижение содержания CD4⁺-лимфоцитов: их количество снижалось как по отношению к группе ВИЧ-инфицированных, не употреблявших инъекционные наркотики, так и по отношению к группе неинфицированных наркоманов. Напротив, количество CD16⁺-моноцитов, а также CD16⁺, Т- и NK-клеток не отличалось статистически значимо от контрольного уровня.

Во всех исследованных группах содержание продуктов перекисного окисления липидов не отличалось статистически значимо от контроля. Однако для всех групп

было характерно повышение содержания карбонилированных белков по сравнению с контролем: у ВИЧ-инфицированных, не употребляющих инъекционные наркотики, — в 2,5 раза, у неинфицированных наркоманов — в 1,5 раза, в группе ВИЧ-инфицированных наркоманов — в 4,5 раза. Уровень карбонилированных белков у ВИЧ-инфицированных наркоманов был также статистически значимо повышен по сравнению с неинфицированными наркоманами и ВИЧ-инфицированными лицами, не употреблявшими инъекционные наркотики. Примечательно, что у ВИЧ-инфицированных наркоманов содержание карбонилированных белков отрицательно коррелировало с давностью предыдущей ремиссии ($R_s = -0,756$; $p = 0,034$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в исследованных группах с ВИЧ-инфекцией, так же как и у неинфицированных героиновых наркоманов, окислительный стресс проявляется главным образом в усилении карбонилирования белков. Это хорошо согласуется с полученными ранее результатами, свидетельствующими о том, что карбонилирование белков является доминирующей формой свободнорадикального окисления при различных аддикциях [3, 6, 7]. В частности, установлено, что при алкогольном делирии на фоне снижения уровня перекисного окисления липидов повышается уровень карбонилированных белков в плазме крови [3]. Аналогичные результаты получены при алкоголизме позднего типа [6].

В случае сочетания алкоголизма с ВИЧ-инфекцией также наблюдается связь между прогрессированием заболевания и повышенным уровнем карбонилирования белков [7]. В этом случае, так же как и при сочетании ВИЧ-инфекции с потреблением инъекционных наркотиков, можно говорить о «резонансе» вирус-зависимой и вирус-независимой индукции окислительного стресса.

Важно отметить, что из всех исследованных показателей иммунограммы высокая чувствительность к потреблению инъекционных наркотиков отмечена только для уровня Т-хелперов. Можно предположить, что карбонилирование белков — одно из звеньев программы апоптоза у этой субпопуляции лимфоцитов. Известно, что проапоптогенное действие глюкокортикоидов ассоциируется с протеолизом лимфоидных клеток. В свою очередь протеолиз сопряжён с усилением карбонилирования белков [8].

О повышении уровня кортизола при ВИЧ-инфекции и при наркомании свидетельствуют данные различных лабораторий [9]. В наших исследованиях (см. табл. 1) также зарегистрировано повышение уровня кортизола по сравнению с контролем у ВИЧ-инфицированных лиц как потребляющих, так и не потребляющих инъекционные наркотики, а также у неинфицированных наркоманов. Однако при этом содержание кортизола у ВИЧ-инфицированных наркоманов было несколько понижено относительно групп ВИЧ-инфицированных лиц, не употребляющих наркотики, и неинфицированных наркоманов. В связи с этим следует отметить, что аналогичное снижение кортизола описано у ВИЧ-инфицированных больных алкогольным делирием [7]. Вполне возможно, что понижение кортизола вызвано активацией его тканевого метаболизма за счёт повышения активности 11β -гидроксистероиддегидрогеназы 2. Однако более высокий уровень карбонилированных белков и низкий уровень Т-хелперов свидетельствуют скорее о повышенной чувствительности в этой группе больных к глюкокортикоидам. Аналогичная ситуация характерна для синдрома посттравматического стрессорного расстройства [10].

ВЫВОДЫ

1. У ВИЧ-инфицированных, потребляющих инъекционные наркотики, усугубляется иммунодефицит в виде более выраженного снижения $CD4^+$ -лимфоцитов.
2. У ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных наркотиков окислительный стресс проявляется в виде повышенного уровня карбонилирования белков.

Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки РФ, код проекта 1696.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аронин С.И. ВИЧ-инфекция: вопросы терапии // Казанский мед. ж. — 2005. — Т. 86, №6. — С. 443–450. [Aronin S.I. HIV: issues of therapy. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2005; 6: 443–450. (In Russ.)]
2. Бартлетт Дж., Галлант Д., Фам П. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции — М.: Р. Валент, 2010. — 490 с. [Bartlett J., Gallant D., Fam P. *Klinicheskie aspekty VICH-infektsii*. (Medical Management of HIV Infection.) Moscow: R-Valent. 2010; 490 p. (In Russ.)]
3. Виноградов Д.Б., Бабин К.А., Изаровский Б.В. и др. Соотношение между уровнем биогенных аминов, активностью тромбоцитарной МАО-В и свободнорадикальным окислением в условиях алкогольного делирия // Наркология. — 2013. — №3. — С. 49–52.

[Vinogradov D.B., Babin K.A., Izarovskiy B.V. et al. The relation between the level of biogenic amines, active platelet MAO-B and the free-radical oxidation in delirium tremens. *Narkologiya*. 2013; 3: 49–52. (In Russ.)]

4. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. — Челябинск: Изд-во ЧГПУ, 2000 — 167 с. [Volchegorskiy I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Tseylikman V.E. *Eksperimentalnoye modelirovaniye i laboratornaya otsenka adaptivnykh reaktsiy organizma*. (Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions.) Chelyabinsk: Izdatelstvo ChGPU. 2000; 167 p. (In Russ.)]

5. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения // *Вопр. мед. хим.* — 1995. — Т. 41. — С. 24–26. [Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A. Oxidative modification of proteins of human serum, the determination method. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 1995; 41: 24–26. (In Russ.)]

6. Мингазов А.Х., Кривулин Е.Н., Бабин К.А. и др. Гендерные особенности окислительной модификации белков плазмы крови больных алкоголизмом позднего возраста // *Сибирский вестник психиатрии и нарколо-*

логии. — 2013. — №3 (78). — С. 9–13. [Mingazov A.Kh., Krivulin E.N., Babin K.A. Gender characteristics of blood plasma oxidative protein modification among older drinkers. *Sibirskiy vestnik psikhiiatrii i narkologii*. 2013; 3: 9–13. (In Russ.)]

7. Цейликман В.Э., Бабин К.А., Виноградов Д.Б. и др. Особенности окислительного стресса у больных алкогольным делирием, инфицированных вирусами гепатита С и иммунодефицита человека // *Казанский мед. ж.* — 2013. — Т. 94, №5. — С. 778–781. [Tseylikman V.E., Babin K.A., Vinogradov D.B. et al. Features of oxidative stress in patients with delirium tremens infected with hepatitis C and human immunodeficiency virus. *Kazanskii meditsinskiy zhurnal*. 2013; 94 (5): 778–781. (In Russ.)]

8. Badley A.D., Pilon A., Badley A. et al. Mechanisms of HIV-associated lymphocyte apoptosis // *Blood*. — 2000. — Vol. 96. — P. 2951–2964.

9. Norbiato G. Endocrine, metabolic, and immunologic components of HIV infection // *Neuroimmunomodulation in Health and Disease*: NY Academy of Sciences. — 2012. — Vol. 1262, N 1. — P. 51–55.

10. Yehuda R., Seckl J. Minireview: Stress-related psychiatric disorders with low cortisol levels: a metabolic hypothesis // *Endocrinology*. — 2011. — Vol. 152, N 12. — P. 4496–4503.

УДК 340.6: 615.38: 616.151.5: 616-001.36-036.886

ПОСТМОРТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ШОКОВЫХ СОСТОЯНИЙ

Павел Акимович Акимов^{1,2*}, Наталья Александровна Терехина¹

¹Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь, Россия;

²Пермское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы, г. Пермь, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-775

Цель. Разработать способ постмортальной диагностики шоковых состояний.

Методы. Исследована сыворотка трупной крови 72 лиц, скончавшихся от различных причин (анафилактического, токсического шока, сердечной патологии, механических травм, термических ожогов). Определение содержания фибриногеновой фракции проводили сульфитно-щелочным методом, растворимых комплексов мономер-фибрина — паракоагуляционными тестами (этаноловым и протамин-сульфатным).

Результаты. Разработан способ постмортальной диагностики шоковых состояний любой этиологии. Минимальное содержание фибриногеновой фракции в случаях анафилактического и токсического шока оказалось 19,3 и 11,9 г/л соответственно, что статистически значимо выше нижнего показателя в других группах наблюдений. В случаях смерти в результате острой ожоговой травмы содержание фибриногеновой фракции оказалось почти на порядок выше ($p < 0,01$), чем при ожоговой болезни, что указывает на наличие шокового состояния на момент наступления смерти. При острой ожоговой травме (ожоговый шок) наименьшее содержание фибриногеновой фракции составило 10,1 г/л, в то время как при ожоговой болезни максимальное содержание фибриногеновой фракции составило 9,6 г/л. Наличие синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания установлено в 5 (62,5%) из 8 случаев смерти при дорожно-транспортных травмах и 20 (57,1%) из 35 случаев скоропостижной смерти, что указывает на травматический и кардиогенный шок перед наступлением смерти. Паракоагуляционные тесты дали положительный результат в 6 (8,3%) из 72 исследований. Этаноловый тест оказался положительным при механической травме и сердечной патологии, протамин-сульфатный — при острой ожоговой травме и анафилактическом шоке.

Вывод. Постмортальная диагностика шокового состояния любой этиологии на момент наступления смерти возможна по наличию синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания; при анафилактическом, токсическом и других видах шока содержание фибриногеновой фракции резко повышено; положительные результаты паракоагуляционных тестов указывают на стадию процесса.

Ключевые слова: шок, синдром диссеминированного внутрисосудистого свёртывания, ДВС-синдром, фибриноген, постмортальная диагностика.

POSTMORTEM DIAGNOSIS OF SHOCK CONDITIONS

P.A. Akimov^{1,2}, N.A. Terekhina¹

¹Perm State Medical University named after E.A. Wagner, Perm, Russia;

²Perm Regional bureau of forensic medicine, Perm, Russia

Aim. Develop a method for postmortem diagnosis of shock conditions.

Methods. Brood serum obtained from 72 dead bodies of people who died from different causes such as anaphylaxis, toxic shock, cardiovascular diseases, traumatic injury and thermal burns was examined. The level of fibrinogen fraction was