

© Гидаятова З. Г., Азизова Г. И., Дадашова А. Р.

УДК 61: 616, 616.3, 36, 36-002, 36-002.2.

Гидаятова З. Г., Азизова Г. И., Дадашова А. Р.

**РОЛЬ ЭНДОГЕННЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ  
ОЦЕНКЕ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТА С  
В СОЧЕТАНИИ С ПНЕВМОНИЕЙ**

**Азербайджанский Медицинский Университет  
(г. Баку, Азербайджан)**

arzu26@mail.ru

Работа является частью научно-исследовательской работы кафедры биохимии Азербайджанского Медицинского Университета «Прогностическое значение определения антимикробных пептидов в крови при гепатите С и в сочетании его с пневмонией», государственный регистрационный номер 01114090.

**Вступление.** Вирусом хронического гепатита С (ХВГС) заражены около 500 миллионов человек во всем мире. Ежегодно от связанных с гепатитом С болезней печени умирают 350 000-500 000 человек. Инфекция характеризуется прогрессирующим повреждением печени, что приводит к воспалению и циррозу [7,9,11].

В литературе широко описано строение вируса гепатита С, раскрыты механизмы нарушения паренхимы печени, приводящие к фиброзу и циррозу. Вместе с тем, многие вопросы патогенеза ХВГС остаются неисследованными. Значение факторов иммунитета и их роль в патогенезе хронического гепатита С изучены еще недостаточно [2,8,10]. Врожденная иммунная система обеспечивает защиту организма против инфекции, вызывая воспаление, играющее роль в активации адаптивного иммунитета.

Важную роль в развитии процессов воспаления, поддержании и регуляции адаптивной иммунной системы играют эндогенные антимикробные пептиды [12]. Они являются неспецифическими факторами гуморального иммунитета, обладают эндотоксин-нейтрализующей и иммуномодулирующей активностью, а также обеспечивают защиту против широкого спектра микроорганизмов грамотрицательных и грамположительных бактерий, грибов, вирусов [1,5].

**Цель исследования.** Учитывая тот факт, что эндотоксины грамотрицательных бактерий являются одними из ведущих патогенетических факторов при вирусном гепатите С [3,4,6], определяющих особенности их течения, актуальным является изучение маркеров эндотоксемии (дефензинов, эндотоксина

и липополисахарид-связывающего белка) и выявление взаимосвязи с иммунными показателями в патогенезе хронического вирусного гепатита С, что является целью данной исследовательской работы.

**Объект и методы исследования.** Была исследована кровь 90 больных в возрасте 17-38 лет, которые были разделены на 3 группы: I группа – 25 больных с хроническим вирусным гепатитом С, II группа – 25 больных пневмонией, III группа – 40 больных ХВГС в сочетании с пневмонией. Контрольную группу составляли 13 здоровых доноров.

Диагноз хронического вирусного гепатита был поставлен согласно классификации Всемирного конгресса гастроэнтерологов (Лос-Анджелес, 1994). Биохимическая оценка осуществлялась путем изучения таких маркеров как общий, прямой и непрямой билирубин по методу Ендрашика; АлАТ, АсАТ – по методу Райтмана-Френкеля, активность фермента  $\gamma$ -глутамилтрансферазы – с использованием коммерческих наборов фирмы «Diasys» (Германия).

Определение концентрации эндотоксина и липополисахарид-связывающего белка (LBP) проводилось методом иммуноферментного анализа (ELISA) по принципу «сэндвич» – варианте на твердофазном иммуноферментном наборе фирмы «HyCult Biotechnology» (Нидерланды).

Статистическую обработку данных проводили с помощью U-критерия Уилкинсона (Манна-Уитни).

**Результаты исследования и их обсуждение.** Все биохимические показатели (табл. 1) (билирубин и его фракции, активность АлАТ) были досто-

Таблица 1.

**Биохимические показатели исследуемых больных в сравнении с контрольной группой**

Показатели	Контроль (n=13)	I группа (n=25)	II группа (n=25)	III группа (n=40)
Общий билирубин, мкмоль/л	16,3 ± 1,08	20,2 ± 0,9***	17,07 ± 0,35***	18,6 ± 1,15***
Прямой билирубин, мкмоль/л	3,94 ± 0,31	4,87 ± 0,27***	4,34 ± 0,10***	4,34 ± 1,06***
Непрямой билирубин, мкмоль/л	12,34 ± 0,98	15,29 ± 0,73***	12,73 ± 0,36***	14,23 ± 0,3**
АлАТ, ммоль/ч-л	0,51 ± 0,03	1,26 ± 0,04*	0,55 ± 0,02***	1,16 ± 0,03***
АсАТ, ммоль/ч-л	0,41 ± 0,03	0,46 ± 0,02***	0,45 ± 0,01***	0,76 ± 0,02**
$\gamma$ -глутамилтрансфераза, МЕ/л	15,2 ± 0,5	16,3 ± 0,3*	16,0 ± 0,3***	38,61 ± 1,2*

Примечание: \* – p<0,001; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,05 по сравнению с контролем.

Таблица 2.

**Уровни содержания антимикробных пептидов исследуемых больных в сравнении с контрольной группой**

Параметры	Контрольная группа (n=13)	I группа (n=25)	II группа (n=25)	III группа (n=40)
Дефензины, нг/мл	38,6 ± 6,9	313,4 ± 50,1***	840,5 ± 69,8***	1282,5 ± 125,2**
Эндотоксин, ЕУ/мл	0,07 ± 0,01	25,0 ± 4,9***	38,5 ± 6,7***	57,3 ± 9,3*
Протеин, связывающий ЛПС, нг/мл	23,6 ± 4,2	124, ± 7,9*	291,4 ± 20,1***	407,0 ± 28,8**

Примечание: \*p<0,0001; \*\*p<0,01; \*\*\* – p<0,05 по сравнению с контролем.

верно повышены у всех больных по сравнению с нормой, а в I и III группах выраженность этих изменений отвечала активности и клиническим проявлениям гепатита С. Во II группе эти изменения носили незначительный характер.

Типичным критерием ухудшения состояния и неблагоприятного прогноза является повышение уровней АсАТ и АлАТ, а также фермента  $\gamma$ -глутамилтрансферазы, что свидетельствует о тяжелом некробиозе гепатоцитов. Бактериальная инфекция является одним из самых частых осложнений у пациентов при поражениях печени. Вероятно, с этим и связаны наиболее существенные изменения в III группе больных.

Активность патологического процесса в печени в целом влияла на изменения плазменных уровней, изучаемых показателей антимикробных пептидов, и эти изменения были более характерны для группы больных с ХВГС в сочетании с пневмонией (табл. 2).

Количество эндотоксина при ХВГС в I группе составляло 25,0 ± 4,9 ЕУ/мл, а во II группе – 38,5 ± 6,7 ЕУ/мл, а в III группе – 57,3 ± 9,3 ЕУ/мл при контроле 0,07 ± 0,01 ЕУ/мл.

Известно, что при хроническом вирусном гепатите прежде всего в связи с нарушением детоксицирующей функции печени, повышением проницаемости кишечной трубки, развитием синдрома избыточного бактериального роста, может многократно нарастать концентрация эндотоксина в кровотоке, способствуя развитию эндотоксиновой агрессии.

Эндотоксин может вызывать или ускорять иммунное воспаление через множественные механизмы и стимулирует выработку дефензинов, являющихся достаточно информативными маркерами остроты воспалительного процесса. Так, уровень дефензинов в I группе увеличивается в 8,1 раза (313,4 ± 50,1 нг/мл) при контроле 38,6 ± 6,9 нг/мл, во II группе в 2,6 (840,5 ± 69,8 нг/мл), а в III группе – в 4 раза (1282,5 ± 125,2 нг/мл) по сравнению с I группой больных.

С одной стороны, дефензины обладают выраженным бактерицидным действием, а с другой – способны усиливать альтерацию в зоне воспаления вследствие повреждения клеток организма. Дефен-

зины выступают как опсонины и даже как хемокины: привлекают в очаг инфекции различных участников иммунных реакций, например, незрелые дендритные клетки, моноциты и Т-клетки. Описаны такие эффекты дефензинов как усиление пролиферации и созревания ряда клеток иммунной системы, способность усиливать клеточную экспрессию молекул адгезии и главного комплекса гистосовместимости, а также модулирование синтеза самыми различными клетками провоспалительных цитокинов.

Для оценки активности воспалительного процесса в печени мы изучали также содержание липополисахарид-связывающего белка (LBP). Нужно отметить, что уровни LBP коррелировали с тяжестью инфекционного процесса в печени. Наиболее высокий уровень был отмечен в III группе – повышение в 17,2 раза (407,0 ± 28,8 нг/мл), в I группе – в 5,2 раза (124,0 ± 7,9 нг/мл), а во II группе – в 12,3 раза (291,4 ± 20,1 нг/мл) по сравнению с контролем. Повышение значений LBP может свидетельствовать, с одной стороны, о выраженности синдрома эндотоксемии, с другой стороны – об активации антиэндотоксинового иммунитета. Уровень липополисахарид-связывающего белка быстро возрастает при наличии бактериальной инфекции, что не исключает перспективность использования этого белка для количественной оценки эндотоксемии и в качестве маркера развивающегося воспалительного процесса.

**Вывод.** Таким образом, изменения показателей иммунного состояния и содержания антимикробных пептидов зависят от наличия сопутствующей вирусному гепатиту С патологии, что позволяет использовать их как дополнительные критерии для характеристики воспалительного процесса в печени при ХВГС, прогноза исходов и оценки степени иммунодефицита.

**Перспективы дальнейших исследований.** Определение эндогенных антимикробных пептидов может служить дополнительным маркером воспаления при ряде метаболических и приобретенных заболеваний и может быть полезным в вопросе целесообразности проведения и подбора противовирусной терапии.

**Литература**

1. Азимова В.Т. Эндогенные антимикробные пептиды человека / В.Т. Азимова, Н.И. Потатуркина-Нестерова, А.С. Нестеров // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1. [Электронный ресурс]. – URL: www.science-education.ru/121-17746 (дата обращения: 05.07.2015).
2. Касьянова Т.Р. Гемодинамические нарушения и дисфункция миокарда при хронических гепатитах и циррозах печени: автореферат на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Т.Р. Касьянова. – Астрахань, 2014. – 47 с.

3. Колиуш О.И. Функциональная взаимосвязь липополисахарид-связывающего белка и иммунных нарушений в патогенезе хронического вирусного гепатита С: автореферат диссертации на звание кандидата медицинских наук / О.И. Колиуш. – Київ, 2005.
4. Левитан Б.Н. Антитела к микробным липополисахаридам и синдром эндотоксемии при хронических гепатитах и циррозах печени / Б.Н. Левитан, А.Р. Умерова, Г.Б. Левитан // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2008. – № 1, Т. 9. – С. 10-14.
5. Нашкевич Н.Н. Альфа-дефензины – мультифункциональные молекулы нейтрофилов: роль в воспалении и инфекционной патологии человека / Н.Н. Нашкевич // Современные проблемы инфекционной патологии человека, сборник научных трудов, выпуск 6. – Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии. – Минск, 2013. – С. 221-226.
6. Опарина О.Н. Роль эндотоксина грамотрицательных бактерий кишечника в физиологических и патологических проявлениях стресса / О.Н. Опарина // Современные научные исследования и инновации. – 2014. – № 5. [Электронный ресурс]. – URL: <http://web.snauka.ru/issues/2014/05/32845>.
7. Понежева Ж.Б. Клинико-иммунологические особенности хронического гепатита С в зависимости от генотипа вируса / Ж.Б. Понежева, Б.С. Нагоев, Н.В. Дубинина, О.В. Калюжин // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2011. – № 2. – С. 26-30.
8. Скляр Л.Ф. Эффективность иммунокоррекции хронического вирусного гепатита С на фоне противовирусной терапии / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, И.С. Горелова // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т. 3, № 1. – С. 59-64.
9. Чурбакова О.В. Динамика иммунологических показателей у детей при хронических и вирусных гепатитах С до и после проведенной терапии / О.В. Чурбакова // Известия высших учебных заведений, Поволжский регион. – Медицинские науки. – 2013. – № 3 (27). – С. 97-104.
10. Hui-Chun Li. Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment / Hui-Chun Li, Shih-Yen Lo // World J Hepatol. – June, 2015. – Vol. 7 (10). – P. 1377-1389.
11. Messina J.P. Global Distribution and Prevalence of Hepatitis C Virus Genotypes / J.P. Messina, I. Humphreys, A. Flaxman, A. Brown [et al.] // Hepatology. – January, 2015. – Vol. 61 (1). – P. 77-87.
12. Wiesner J. Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system / J. Wiesner, A. Vilcinskas // Virulence. – Sep-Oct, 2010. – Vol. 1 (5). – P. 440-464.

УДК 61: 616, 616.3, 36, 36-002, 36-002.2.

### РОЛЬ ЭНДОГЕННЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ ОЦЕНКЕ ТЯЖКОСТИ ПЕРЕБІГУ ГЕПАТИТУ С В ПОЄДНАННІ З ПНЕВМОНІЄЮ

Гідаятова З. Г., Азізова Г. І., Дадашова А. Р.

**Резюме.** Метою даного дослідження було вивчення маркерів ендотоксемії (дефензину, ендотоксину і ліпополісахарид-зв'язуючого білка) і виявлення їх ролі в патогенезі хронічного вірусного гепатиту С. Представляється можливим використання дефензину, ендотоксину, ліпополісахарид-зв'язуючого білка як додаткових біомаркерів вірусних і бактеріальних інфекцій, а ендотоксину – як кількісного маркера динаміки і ступеня тяжкості ушкодження печінки при хронічному гепатиті С.

**Ключові слова:** гепатит С, дефензину, ліпополісахарид-зв'язуючий білок, ендотоксини, лімфоцити, циркулюючі імунні комплекси.

УДК 61: 616, 616.3, 36, 36-002, 36-002.2.

### РОЛЬ ЭНДОГЕННЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ ОЦЕНКЕ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТА С В СОЧЕТАНИИ С ПНЕВМОНИЕЙ

Гідаятова З. Г., Азізова Г. І., Дадашова А. Р.

**Резюме.** Целью данного исследования явилось изучение маркеров эндотоксемии (дефензинов, эндотоксина и липополисахарид-связывающего белка) и выявление их роли в патогенезе хронического вирусного гепатита С.

Представляется возможным использование дефензинов, эндотоксина, липополисахарид-связывающего белка как дополнительных биомаркеров вирусных и бактериальных инфекций, а эндотоксина – в качестве количественного маркера динамики и степени тяжести повреждения печени при хроническом гепатите С.

**Ключевые слова:** гепатит С, дефензины, липополисахарид-связывающий белок, эндотоксини, лимфоциты, циркулирующие иммунные комплексы.

UDC 61: 616, 616.3, 36, 36-002, 36-002.2.

### THE ROLE OF ENDOGENOUS ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN ASSESSING THE SEVERITY OF HEPATITIS C COMBINED WITH PNEUMONIA

Hidayatova Z. G., Azizova G. I., Dadashova A. R.

**Abstract.** The aim of this research was to study the markers of endotoxemia (defensins, endotoxins and lipopolysaccharide binding protein) and determine the relationship with immune indicators in pathogenesis of chronic viral hepatitis C. Blood samples of 90 patients at the age of 17-38 was examined, with patients divided into 3 groups: I group – 25 patients with chronic hepatitis C, II group – 25 patients with pneumonia, III group – 40 patients with chronic hepatitis C combined with pneumonia. The control group consisted of 13 healthy donors. The diagnosis of chronic viral hepatitis was made according to the classification of the World Congress of Gastroenterology (Los Angeles, 1994). Biochemical evaluation was carried out by examining such markers as total, direct and indirect bilirubin with Endrashika method; ALT, AST – with Reitman-Frankel's method, activity of enzyme of gamma-glutam-

yltransferase – using commercial kits produced by «Diasys» firm (Germany). Determination of the concentration of endotoxin and lipopolysaccharide-binding protein (LBP) was conducted by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with the «sandwich» principle with the help of ELISA kit from «HyCult Biotechnology» company (Netherlands). Statistical data processing was carried out with the help of Wilcoxon U-test (Mann-Whitney). All biochemical parameters (namely, bilirubin and its fractions, ALT) were significantly higher in all patients compared to the norm, and in I and III groups expression of these changes corresponded to the activity and clinical manifestations of hepatitis C. In II group, these changes were minor. A typical criterion of deterioration and poor prognosis was an increase in the levels of AST and ALT, as well as in levels of enzyme of gamma-glutamyltransferase, indicating heavy necrobiosis of hepatocytes. Bacterial infection is one of the most frequent complications in patients with liver problems. Probably, the most significant changes in III group of patients are associated with this. The amount of endotoxin in HCV in I group was  $25,0 \pm 4,9$  EU/ml, while in II group this figure stood at  $38,5 \pm 6,7$  EU/ml, and III group –  $57,3 \pm 9,3$  EU/ml with the control value at  $0,01 \pm 0,07$  EU/ml. It is known that in chronic viral hepatitis the concentration of endotoxin in bloodstream may repeatedly increase primarily due to violation of the detoxifying function of the liver, an increase in the permeability of the intestinal tube, the development of the syndrome of bacterial overgrowth, thus promoting the development of endotoxin aggression. Endotoxin can cause or accelerate immune inflammation through multiple mechanisms and stimulates the production of defensins, which are quite informative markers of the severity of the inflammatory process. Thus, defensin levels in I group increased by 8,1 times ( $313,4 \pm 50,1$  ng/ml) with the control at  $38,6 \pm 6,9$  ng/ml, while in II group it increased by 2,6 times ( $840,5 \pm 69,8$  ng/ml) and in III group – by 4 times ( $1282,5 \pm 125,2$  ng/ml) compared to I group of patients. It should be noted that LBP levels correlate with severity of infection in liver. The highest level was observed in III group – a 17,2 times increase ( $407,0 \pm 28,8$  ng/ml), while in group I there was a 5.2 times increase ( $124,0 \pm 7,9$  ng/ml) and in II group – 12,3 times increase ( $291,4 \pm 20,1$  ng/ml) compared to the control value. On the one hand, increasing LVP values may reflect the severity of endotoxemia syndrome, while on the other hand – the activation of antiendotoxic immunity. The level of lipopolysaccharide binding protein increases rapidly in the presence of a bacterial infection that does not exclude its use for quantification of endotoxemia and as a marker of emerging inflammation.

Overall, it is possible to use defensins, endotoxins and lipopolysaccharide binding protein as additional biomarkers of viral and bacterial infections, while endotoxin – as a quantitative marker of dynamics and severity of liver damage at chronic hepatitis C.

**Keywords:** hepatitis C, defensins, lipopolysaccharide binding protein, endotoxins, lymphocytes, circulating immune complexes.

*Рецензент – проф. Лобань Г. А.  
Стаття надійшла 05.02.2017 року*

© Грабовська О. І., Скорик О. Д., Шамелашвілі К. Л., Штеменко О. В., Штеменко Н. І.

УДК 546.719+577.125.8+616.006.6

<sup>1</sup>Грабовська О. І., <sup>2</sup>Скорик О. Д., <sup>3</sup>Шамелашвілі К. Л.,  
<sup>4</sup>Штеменко О. В., <sup>5</sup>Штеменко Н. І.

### **БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КРОВІ ЩУРІВ З РЕЗИСТЕНТНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА ЗА ВВЕДЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА**

<sup>1</sup>ДУ «Інститут гастроентерології Національної академії  
медичних наук України» (м. Дніпро)

<sup>2</sup>Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара  
(м. Дніпро)

<sup>3</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)  
<sup>4</sup>Український державний хіміко-технологічний університет (м. Дніпро)

<sup>5</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна,  
Національна Академія Наук України (м. Київ)

[I\\_d\\_skorik@mail.ru](mailto:I_d_skorik@mail.ru)

Роботу виконано згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біофізики та біохімії Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара у рамках держбюджетних тем: «Дослідження біологічної активності кластерних сполук ренію з органічними лігандами» (№ державної реє-

страції 0100V005660); «Дослідження механізмів взаємодії сполук Ренію з біомолекулами при діагностиці і корекції патологічних станів» (0104U000960).

**Вступ.** Звичайна і резистентна до цисплатину карцинома Герена є зручними моделями для дослідження біохімічних особливостей явища хеміорезистентності [14]. У наших попередніх дослідженнях