



УДК 616-002.5-06:616.151.5]-097:575.174.015.3

Ю. І. Бажора, А. В. Амосова, М. М. Чеснокова

## ЛАЗЕРНА КОРЕЛЯЦІЙНА СПЕКТРОСКОПІЯ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНИХ КОМПЛЕКСІВ ПЛАЗМИ КРОВІ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ІЗ ПОРУШЕННЯМИ СТАНУ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616-002.5-06:616.151.5]-097:575.174.015.3

Ю. И. Бажора, А. В. Амосова, М. М. Чеснокова

### ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С НАРУШЕНИЯМИ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

Определение состояния системы гемостаза у больных туберкулезом до и через 2 мес. после начала курса интенсивной терапии с помощью стандартной коагулограммы выявило сдвиг в сторону коагуляции ( $p < 0,05$ ) и тенденцию к угнетению фибринолиза. Выявленные изменения сопровождались статистически достоверным ( $p < 0,05$ ) увеличением вклада в светорассеивание частиц с гидродинамическим радиусом от 12 до 38 нм и снижением вклада частиц от 39 до 95 нм, что указывает на преобладание интоксикационно-подобных процессов в системе гомеостаза. Через 2 мес. после начала лечения у больных отмечалось достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение вклада в светорассеивание крупномолекулярных частиц размером от 39 до 264 нм, что присуще аутоиммунно-интоксикационно-подобным сдвигам ЛК-спектров плазмы крови на фоне достоверного ( $p < 0,05$ ) увеличения уровня показателей, характеризующих коагуляционные процессы, в динамике.

**Ключевые слова:** туберкулез, лазерная корреляционная спектроскопия, система гемостаза.

UDC 616-002.5-06:616.151.5]-097:575.174.015.3

Yu. I. Bazhora, A. V. Amosova, M. M. Chesnokova

### LASER CORRELATIVE SPECTROSCOPY OF MACROMOLECULAR PLASMA BLOOD COMPLEXES IN PATIENTS SUFFERING FROM TUBERCULOSIS WITH THE HEMOSTASIS' SYSTEM STATE DISORDERS

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

**Introduction.** Numerous experimental and clinical studies have shown that the ratio of different biological corpuscles (macromolecules, immune complexes) of blood plasma in the nanometer range to some extent indicates the state of homeostasis of internal organism state. At various diseases depending on the etiological factors, pathogenetic mechanisms and severity of the disease, there are significant variations in the corpuscle ratio. These violations are detected by the laser correlation spectroscopy method.

**Materials and methods.** The state of the hemostasis system in patients with tuberculosis was evaluated with the help of the laser correlative spectroscopy analyzer of the blood plasma as well as by the use of a standard complex of laboratory coagulation tests.

**Results and conclusions.** Definition of a condition of the hemostasis system state of the patients with tuberculosis before and two months after the beginning of an intensive care course therapy using the standard coagulogram revealed shifts towards coagulation ( $p < 0.05$ ) and a tendency to fibrinolysis depressing. The revealed changes were statistically accompanied ( $p < 0.05$ ) by increase in a contribution to a light dispersion of corpuscles with a hydrodynamic radius from 12 to 38 nanometers and decrease in a contribution of corpuscles from 39 to 95 nanometers that points to a dominance of intoxicational-like processes in homeostasis system. Two months after the beginning of treatment it was noted a reliable ( $p < 0.05$ ) increase in a light dispersion contribution of large corpuscles from 39 to 264 nanometers that is inherent in autoimmune intoxicational-like shifts of LC-spectrum of blood plasma which is accompanied with reliable ( $p < 0.05$ ) increase of level of the tests characterizing coagulative processes in dynamics.

**Key words:** tuberculosis, laser correlative spectroscopy method, the hemostasis system.



## Вступ

Специфічний запальний процес і формування імунної відповіді за типом гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ), виражена інтоксикація та деструкція тканин при туберкульозі вирізняються активним залученням у боротьбу зі збудником усіх захисних систем організму, включаючи й систему гемостазу. Така активація, безумовно, призводить до істотних змін різних показників гомеостазу [1].

У численних експериментальних і клінічних дослідженнях показано, що співвідношення різних біологічних частинок (макромолекул, імунних комплексів) плазми крові в нанометровому діапазоні певною мірою свідчить про стан гомеостазу внутрішнього середовища організму [2]. При різних захворюваннях залежно від етіологічного фактора, патогенетичних механізмів і тяжкості перебігу хвороби спостерігаються значні відхилення у співвідношенні таких частинок [3]. Зазначені порушення детектуються методом лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) [4].

**Метою** роботи було встановити особливості макромолекулярного складу плазми крові за даними ЛКС-метрії у хво-

рих на туберкульоз із порушеннями стану системи гемостазу.

## Матеріали та методи дослідження

Усіх обстежених розподілили на дві групи. До першої (контрольної) групи увійшли 40 здорових осіб віком від 17 до 27 років. Жінок було 52,5 %, чоловіків — 47,5 %.

У другу групу (n=224) увійшли хворі на туберкульоз, із них 162 (72,3 %) чоловіки і 62 (27,7 %) жінки віком від 20 до 57 років — у середньому  $(42,03 \pm 12,69)$  року.

Стан системи гемостазу вивчали з використанням стандартних гемокоагулологічних скринінгових методик на базі лабораторії Одеської обласної протитуберкульозної лікарні. Коагулограма включала: визначення кількості тромбоцитів (КТ), швидкості спонтанної агрегації тромбоцитів (АТ), часу рекальцифікації плазми (ЧРП), активованого часткового тромбoplastинового часу (АЧТЧ), протромбінового часу (ПЧ), тромбінового часу (ТЧ), загального фібриногену, фібринолітичної активності крові (ФАК), активності фібрин-стабілізуючого фактора (ФСФ) і ретракції кров'яного згустка (РКЗ) [5].

Субфракційний склад плазми крові з використанням ме-

тоду лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) вивчали за стандартною методикою взяття крові з кубітальної вени натщесерце вранці з наступним отриманням плазми крові об'ємом 1,5 мл. Регуляризація спектра проводилася з використанням відповідності спектра тієї чи іншої дискретної семіотичної групи за допомогою програми класифікатора "Blood" з подальшою автоматичною обробкою та виводом на екран комп'ютера цифрових і графічних даних [4].

## Результати дослідження та їх обговорення

У більшості обстежених нами хворих, згідно з результатами коагулологічних досліджень, було виявлено зрушення стану системи гемостазу в бік коагуляції й незначне пригнічення фібринолізу (рис. 1) [6].

Враховуючи цей факт, ми провели порівняльний аналіз виявлених змін стану системи гемостазу з отриманими результатами ЛКС-метрії у тих самих хворих, а також у здорових осіб.

Лазерні кореляційні спектри плазми крові здорових осіб (рис. 2) характеризуються найбільшим внеском у світлорозсіювання частинок діаметром від 1 до 100 нм і переважно

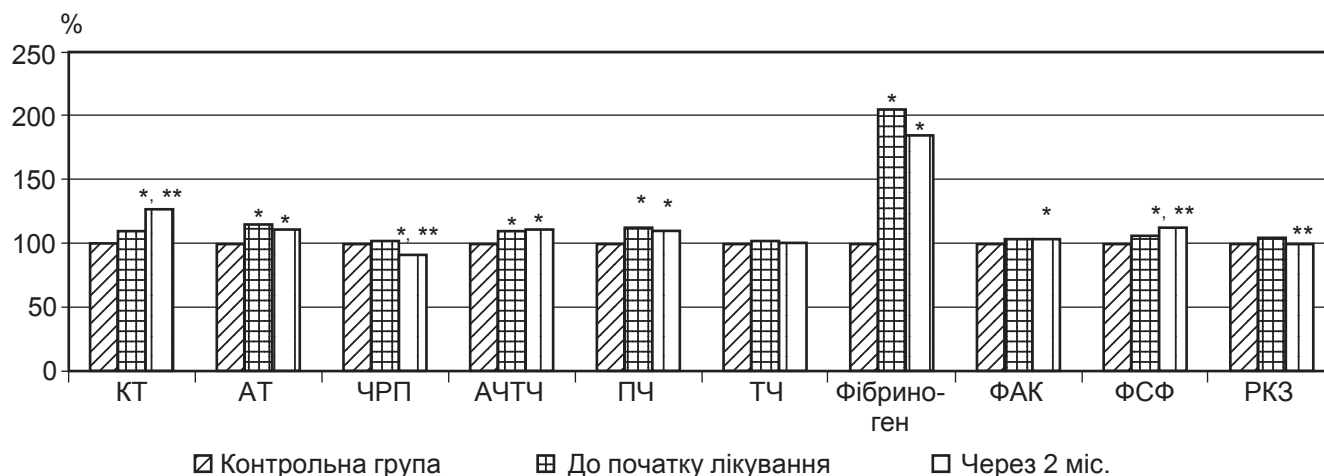


Рис. 1. Динаміка змін гемокоагулологічних показників у хворих на туберкульоз до та через 2 міс. після початку лікування: \* — статистично вірогідні зміни порівняно з контрольною групою; \*\* — статистично вірогідні зміни між групами хворих до та через 2 міс. після початку лікування ( $p < 0,005$ )





Рис. 2. Усереднені ЛК-спектри плазми крові хворих на туберкульоз: \* — статистично вірогідні відмінності з контрольною групою; \*\* — статистично вірогідні відмінності між групами хворих ( $p < 0,05$ )

визначаються різними білками, ліпопротеїдними, глікопротеїдними й іншими комплексами [3; 4].

Усереднені ЛК-спектри плазми крові хворих на туберкульоз характеризуються статистично вірогідним збільшенням порівняно з групою здорових осіб внеску у світлорозсіювання частинок у діапазоні 12–38 нм ( $p < 0,05$ ) і зменшенням відносного внеску більших

частинок, особливо у діапазоні від 39 до 95 нм ( $p < 0,05$ ). Зазначені зрушення в ЛК-спектрах хворих на туберкульоз не є специфічними та пов'язані з наявністю запального процесу й відповідними імунними реакціями. Формування відповідної реакції організму хворого супроводжується появою в плазмі циркулюючої крові продуктів порушення структури тканин, імунних комплексів. Вони влас-

тиві будь-якому захворюванню, що супроводжується запальним процесом і вираженою імунною відповіддю [7]. Дані зміни внеску у світлорозсіювання частинок певного діаметра відповідають інтоксикаційно-подібним зрушенням у хворих на туберкульоз на початку курсу хіміотерапії, що становить майже половину випадків (43 %). Значну частину, згідно з класифікатором, становили також змішані типи спектрів: алерго-інтоксикаційно- (12,7 %) та автоімунно-інтоксикаційно-подібні (8,1 %). У 14 % хворих у спектрах відзначаються дистрофічно-подібні й у 11,3 % — катаболічно-подібні зрушення (рис. 3). Зазначену спрямованість порушень цілком можна пояснити, враховуючи патогенез туберкульозного процесу, який характеризується вираженою інтоксикацією, що зумовлена як збудником, так і продуктами деструкції тканин, а також формуванням реакції імунної відповіді за типом ГСТ [7].

Через 2 міс. після початку специфічної хіміотерапії спостерігалось незначне зниження низькомолекулярних частинок світлорозсіювання (від 1

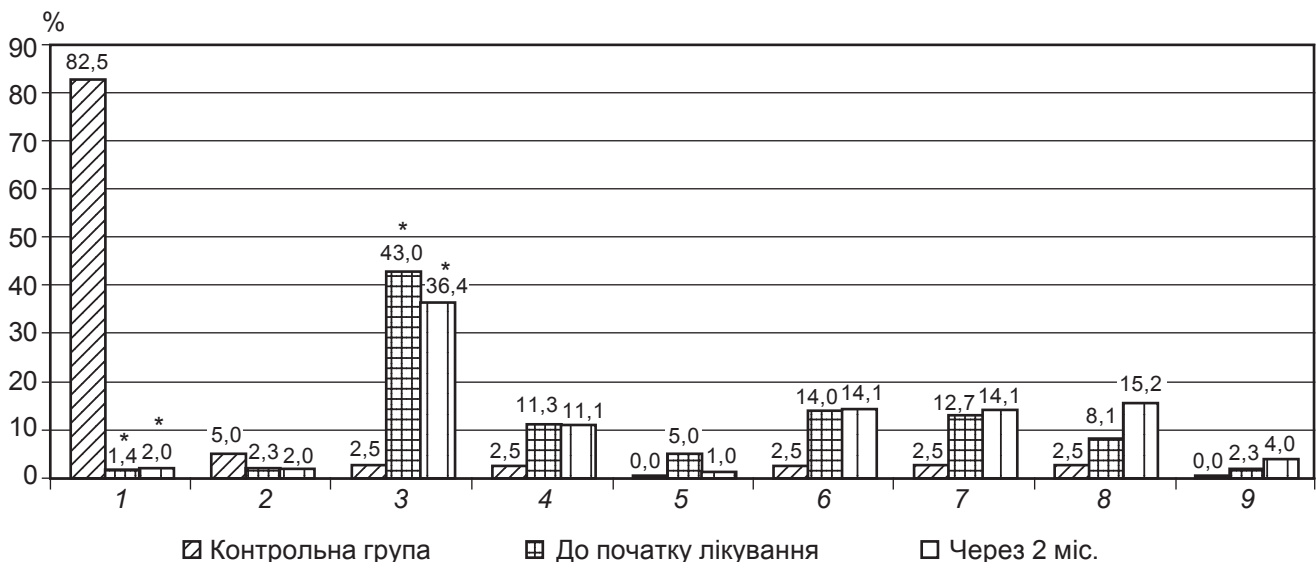


Рис. 3. Напрямок зрушень ЛК-спектрів плазми крові у хворих на туберкульоз до та після курсу інтенсивної терапії: 1 — нормологічні; 2 — алерго-подібні; 3 — інтоксикаційно-подібні; 4 — катаболічно-подібні; 5 — автоімунно-подібні; 6 — дистрофічно-подібні; 7 — алерго-інтоксикаційні; 8 — автоімунно-інтоксикаційні; 9 — алерго-дистрофічні; \* — статистично вірогідні зміни між групами хворих на початку та через 2 міс. після початку лікування з контрольною групою ( $p < 0,005$ )

до 38 нм), особливо у II дискретній зоні (у діапазоні від 12 до 38 нм) порівняно з вихідним рівнем (див. рис. 2). Порівняно зі здоровими особами, зберігався статистично вірогідно високий рівень частинок зазначеного розміру ( $p < 0,05$ ). При цьому спостерігалось наростання (щодо початкового рівня) кількості великомолекулярних частинок, особливо в діапазоні від 39 до 264 нм ( $p < 0,05$ ), що найчастіше супроводжує процеси автоімунізації й алергізації організму та відповідає збільшенню відносної кількості автоімунно-інтоксикаційно-подібних ЛК-спектрів на 7,1 % і алерго-інтоксикаційних — на 1,4 % (див. рис. 3). Указані зміни, можливо, пов'язані з продовженням формування імунної відповіді й сталим характером ГСТ [7]. Зазначену спрямованість зрушень ЛК-спектрів можна пояснити ефективністю лікування, що супроводжується адекватною імунною відповіддю на *M. tuberculosis*, для якої характерні, поряд із клітинними реакціями, синтез специфічних антитіл й утворення імунних комплексів. Про це свідчить істотне підвищення внеску у світлорозсіювання частинок у діапазоні від 100 до 250 нм, що належать до III дискретної зони ( $p < 0,05$ ). Не можна також не брати до уваги токсичну дію специфічних хіміопрепаратів, які характеризуються, у тому числі, гепатотропним і нефротропним ефектами, що супроводжується порушенням функції цих органів [8]. Зазначене, імовірно, і пояснює високу частоту зустрічальності інтоксикаційно-подібних зрушень у ЛК-спектрах плазми крові хворих (див. рис. 3).

Отже, у хворих на туберкульоз зі зрушенням у системі гемостазу у бік коагуляції, незважаючи на двомісячний курс специфічної інтенсивної терапії, переважають катаболічно-спрямовані зрушення у ЛК-спектрах. Зазначені зміни впи-

суються в картину патогенезу туберкульозного процесу й сприяють збільшенню зрушення у бік коагуляції, виступаючи додатковим фактором запуску й постійної активації гіперкоагуляційного каскаду [9].

Згідно з патогенетичним механізмом розвитку туберкульозного процесу [7], гіперкоагуляція відіграє роль захисного фактора з метою обмеження дисемінації *M. tuberculosis* в організмі хазяїна з течією крові та лімфи. Становить практичний інтерес визначити, чи є гіперкоагуляція у клінічній практиці патологічним синдромом, що потребує цілеспрямованої корекції, або супровідним патогенетичним станом, який піддається відповідній нормалізації при зменшенні/ліквідації *M. tuberculosis* з організму хазяїна. Використання ЛКС-метрії допомогло встановити, що у 2/3 хворих через 2 міс. після курсу стандартної протитуберкульозної терапії зберігається високий рівень інтоксикаційно-подібних, а також катаболічно- і дистрофічно-подібних порушень. Інтоксикаційний синдром, як відомо, пов'язаний з нагромадженням в організмі хворого продуктів розпаду життєдіяльності *M. tuberculosis* і різних метаболітів і тим самим, імовірно, потенціює збільшення в'язкості крові [10]. Високий рівень інтоксикаційних порушень викликаний, можливо, зміною детоксикаційної функції печінки або нирок, або обох органів [8].

Таким чином, нормалізація функціональної активності цих органів є невід'ємним, нарівні з хіміотерапією, етапом протитуберкульозного лікування. Аналіз відповідної цілеспрямованої детоксикаційної терапії дозволить скласти більш повне уявлення про патогенетичні механізми порушень функціонування системи згортання крові у хворих на туберкульоз. Це питання потребує подальших досліджень.

1. У хворих на туберкульоз на тлі зрушення стану системи гемостазу в бік коагуляції та невираженого пригнічення фібринолізу в плазмі крові, за даними ЛКС-метрії, статистично вірогідно ( $p < 0,05$ ) збільшується внесок у світлорозсіювання частинок з гідродинамічним радіусом від 12 до 38 нм та зниження внеску частинок діаметром від 39 до 95 нм. Виявлені зміни ЛК-спектрів указують на переважання інтоксикаційно-подібних зрушень у системі гомеостазу.

2. Через 2 міс. після початку курсу хіміотерапевтичного лікування у хворих відзначалося суттєве ( $p < 0,05$ ) збільшення внеску в світлорозсіювання рівня великомолекулярних частинок (від 39 до 264 нм), що характерно для автоімунно-інтоксикаційно-подібних зрушень у ЛК-спектрах плазми крові на тлі вірогідного ( $p < 0,05$ ) збільшення рівня коагуляційних показників у динаміці.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Прозоров А. А. Микобактерии туберкулезного комплекса / А. А. Прозоров, В. Н. Даниленко // Успехи современной биологии. — 2011. — № 3. — С. 227–243.
2. Бажора Ю. І. Оцінювання місцевого гомеостазу дихальної системи хворих на туберкульоз за даними лазерної кореляційної спектроскопії конденсату вологи видихуваного повітря / Ю. І. Бажора, М. М. Чеснокова, В. В. Шишкін // Досягнення біології та медицини. — 2011. — № 1. — С. 15–18.
3. Диагностическая значимость метода лазерной корреляционной спектроскопии при воспалительных и опухолевых заболеваниях / О. Н. Здраевская, В. А. Дюк, В. Л. Эмануэль [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2006. — № 5. — С. 21–33.
4. Бажора Ю. І. Лазерна кореляційна спектроскопія в медицині : монографія / Ю. І. Бажора, Л. А. Носкін. — Одеса : Друк, 2002. — 400 с.
5. Горячковський А. М. Клінічна біохімія в лабораторній діагностиці : довідковий посібник / А. М. Горячковський. — Одеса : Екологія, 2005. — 616 с.





6. Абдуллаев Р. Зрушення в системі гемостазу компонентів синдрому системної запальної відповіді при туберкульозі легенів / Р. Абдуллаев, Г. Камінська, О. Комісарова // Лікар. – 2012. – № 2. – С. 24–28.

7. Palomino J. C. Tuberculosis 2007. Basic science to patient care, First Edition / J. C. Palomino, C. V. Leão, V. Ritacco. – Belgium ; Brazil ; Argentina, 2007. – 686 p.

8. Анализ безопасности противотуберкулезных препаратов / Ю. И. Фещенко, С. А. Черенко, В. И. Петренко [и др.] // Аптека. – 2008. – № 633 (12).

9. Роль системи гемостазу в формуванні деструкції при туберкульозі легких / Е. В. Корж, Л. Н. Родимова, Е. В. Дмитренко [и др.] // Український пульмонологічний журнал. – 2006. – № 2. – С. 70–72.

10. Ramage H. R. Comprehensive Functional Analysis of Mycobacterium tuberculosis Toxin-Antitoxin Systems: Implications for Pathogenesis, Stress Responses, and Evolution / H. R. Ramage, L. E. Connolly, J. S. Cox // PLoS Genet. – 2009. – Vol. 5, N 12. – P. e1000767.

## REFERENCES

1. Prozorov A.A., Danilenko V.N. Micobacteria of a tubercular complex. *Uspekh sovremennoy biologii* 2011; 3: 227-243.

2. Bazhora Yu.I., Chesnokova M.M., Shishkin V.V. Evaluation of local homeostasis respiratory tuberculosis according to laser correlation spectroscopy moisture exhaled breath condensate. *Dosyagnennya blologiyi ta meditsiny* 2011; 1: 15-18.

3. Zdraevskaya O.N., Dyuk V.A., Emanuel V.L., Novik V.I., Banda S.B. Diagnostic significance of a laser correlative spectroscopy method at inflammatory and tumoral diseases. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2006; 5: 21-33.

4. Bazhora Yu.I., Noskin L.A. Lazer-na korelyatsiyna spektroskopiya v meditsini [Laser correlative spectroscopy in medicine: monography]. Odesa, "Druk", 2002. 400 c.

5. Goriachkovskiy A.M. Klinicheskaya biochimia v laboratornoi diagnostike [Clinical biochemistry in laboratory diagnostic]. Odesa, *Ekologia* 2005. 616 p.

6. Abdullaev R., Kaminska G., Komissarova O. Alterations in system of hemostasis system inflammatory response syndrome components at pulmonary tuberculosis. *Vrach* 2012; 2: 24-28.

7. Palomino J.C. Tuberculosis. Basic science to patient care, First Edition. Ritacco. Belgium, Brazil, Argentina, 2007. 686 p.

8. Feshchenko Yu.I., Cherenko S.A., Petrenko V.I. Analysis of antituberculous preparations safety. *Apteka*, 2008; 633 (12).

9. Korzh E.V., Rodimova L.N., Dmitrenko E.V. Role of system of hemostasis in destruction formation at a pulmonary tuberculosis. *Ukrayinskiy pulmonologichniy zhurnal* 2006; 2: 70-72.

10. Ramage H.R., Connolly L.E., Cox J.S. Comprehensive Functional Analysis of Mycobacterium tuberculosis Toxin-Antitoxin Systems: Implications for Pathogenesis, Stress Responses, and Evolution. *PLoS Genet*, 2009, 5 (12): e1000767.

Надійшла 10.09.2013

УДК 577.112:159.963.23:615:24:544.137

Т. Л. Карасьова<sup>1</sup>, Ж. М. Цапенко<sup>1</sup>, О. В. Онуфрієнко<sup>2</sup>, О. А. Шандра<sup>2</sup>

## ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ГАМК-ЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ В РЕАЛІЗАЦІЇ НЕЙРОТРОПНИХ ЕФЕКТІВ ПОХІДНОГО АЗА-15-КРАУН-5 ЕТЕРУ

<sup>1</sup> Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса, Україна,  
<sup>2</sup> Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, Україна

УДК 577.112:159.963.23:615:24:544.137

Т. Л. Карасева<sup>1</sup>, Ж. Н. Цапенко<sup>1</sup>, О. В. Онуфриенко<sup>2</sup>, А. А. Шандра<sup>2</sup>

### ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГАМК-ЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ НЕЙРОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ ПРОИЗВОДНОГО АЗА-15-КРАУН-5 ЭФИРА

<sup>1</sup> Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, Одесса, Украина,

<sup>2</sup> Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины, Одесса, Украина

Показано, что механизм действия соединения С-3 связан с активацией эффектов ГАМК-ергической системы, о чем свидетельствует увеличение содержания ГАМК в гомогенате головного мозга крыс и уменьшение ферментативной активности ГАМК-Т. В концентрации 10<sup>-5</sup> М макрогетероцикл способен на 50 % снижать связывание <sup>3</sup>H-ГАМК с мембранами фракции клеток головного мозга крыс. При сопоставлении противосудорожной активности соединения С-3 с эталонными препаратами оказалось, что ЕД<sub>50</sub> макроцикла по методу «антагонизма с коразолом» ниже на порядок ЕД<sub>50</sub> дифенилгидантоина и депакина.

**Ключевые слова:** краун-эфир, противосудорожная активность, связывание <sup>3</sup>H-ГАМК, активность ГАМК-Т.

UDC 577.112:159.963.23:615:24:544.137

T. L. Karasyova<sup>1</sup>, Zh. M. Tsapenko<sup>1</sup>, O. V. Onufrienko<sup>2</sup>, O. A. Shandra<sup>2</sup>

### THE STUDY OF THE ROLE OF GABA-ERGIC SYSTEM IN REALIZATION OF NEUROTROPIC EFFECTS OF AZA-15-CROWN-5 ETHER DERIVATIVE

<sup>1</sup> O. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of NAS of Ukraine, Odessa, Ukraine,

<sup>2</sup> The Odessa National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Odessa, Ukraine

The aim of the work is the investigation of the GABA-ergic system role and antiseizure effects in macroheterocycle C-3 neurotropic effects realization.

