



Р. М. Ясинський

Оцінювання показників системи глутатіону залежно від варіанта перебігу захворювання у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень при ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: туберкульоз, ВІЛ, ко-інфекція, прогресування захворювання, глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза.

Тиол-дисульфідні сполуки відіграють вагомий роль у патогенезі інфекційних захворювань, але недостатньо вивченою є система глутатіону при різних варіантах перебігу захворювання у хворих на ко-інфекцію туберкульоз/ВІЛ.

Мета роботи - оцінювання змін компонентів тиол-дисульфідної системи залежно від варіанта перебігу захворювання в пацієнтів із вперше діагностованим туберкульозом легень при ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ (ВДТБ/ВІЛ).

Матеріали та методи. Визначали у 54 хворих рівні у крові альдегідфенілгідрозону, кетонфенілгідрозону за методикою В. Halliwell (1999), малонового діальдегіду за В. Б. Гавриловим (1983), глутатіону відновленого за стандартною методикою (1981), глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази за методикою Е. Beutler (1975) і глутатіонтрансферази за методикою W. H. Habig (1974).

Встановили, що при прогресуванні захворювання на тлі зростання показників перекисного окислення білків зменшуються рівні глутатіону відновленого та глутатіонпероксидази. З розвитком синдрому системної запальної відповіді на тлі зростання показників перекисного окислення білків і ліпідів й зменшення рівня глутатіону відновленого зменшуються рівні глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази. Це свідчить про поглиблення дисбалансу в системі «оксиданти – антиоксиданти» при прогресуванні захворювання як унаслідок посилення вільно-радикального перекисного окислення, так і через зрушення тиол-дисульфідної рівноваги.

Оценка показателей системы глутатиона в зависимости от варианта течения заболевания у больных с впервые диагностированным туберкулезом лёгких при ко-инфекции туберкулез/ВИЧ

Р. Н. Ясинский

Тиол-дисульфидные соединения играют существенную роль в патогенезе инфекционных заболеваний, но недостаточно изучена система глутатиона при различных вариантах течения заболевания у больных ко-инфекцией туберкулез/ВИЧ.

Цель работы – изучение изменений компонентов тиол-дисульфидных соединений в зависимости от варианта течения впервые диагностированного туберкулеза при ко-инфекции туберкулез/ВИЧ.

Материалы и методы. Определяли у 54 больных в крови уровни альдегидфенилгидразона, кетонфенилгидразона по методике В. Halliwell (1999), малонового диальдегида по методике В. Б. Гаврилова (1983), глутатиона восстановленного по стандартной методике (1981), глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы по методике Е. Beutler (1975) и глутатионтрансферазы по методике W. H. Habig (1974).

Установили, что при прогрессирующем течении заболевания на фоне повышения показателей перекисного окисления белков снижаются уровни глутатиона восстановленного и глутатионпероксидазы. При развитии синдрома системного воспалительного ответа на фоне увеличения показателей перекисного окисления белков и липидов и уменьшения уровня глутатиона восстановленного снижаются уровни глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы. Это свидетельствует об углублении дисбаланса в системе «оксиданты – антиоксиданты» при прогрессировании заболевания как за счёт усиления свободно-радикального перекисного окисления, так и вследствие сдвигов тиол-дисульфидного равновесия.

Ключевые слова: туберкулез, ВИЧ, ко-инфекция, прогрессирование заболевания, глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза.

Запорожский медицинский журнал. – 2016. – №2 (95). – С. 36–39

Estimation of the glutathione system parameters depending on the variant of the disease course in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis at coinfection tuberculosis/HIV

R. M. Yasinskiy

The aim was to estimate the thiol-disulfide compounds depending on the variant of disease course in tuberculosis/HIV co-infected patients with newly diagnosed tuberculosis (NDT/HIV).

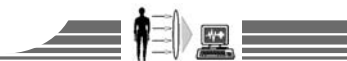
Materials and methods. The study involved 54 patients with NDT/HIV, who were treated in the clinic of Zaporizhzhia regional clinical tuberculosis dispensary during 2010 – 2014 (average age 37.8±1.2 y), 41 (75.9%) men, 13 (24.1%) women. Focal tuberculosis was diagnosed in 5 cases (9.3%), infiltrative – in 25 (46.3%) cases, disseminated – in 24 (44.4%) cases. The control group included 32 healthy individuals – blood donors (average age 35.9±2.5 y), 22 (68.7%) men, 10 women (31.3%). Patients depending on the results of the treatment retrospectively were divided into 3 groups: 1–15 patients with positive dynamics, 2 – with progressive disease course without systemic inflammatory response syndrome (n=13), 3 – with progressive disease course with SIRS (n=26).

Results. Levels of aldehyde-phenylhydrazone in 2nd and 3rd groups were significantly higher than in control in 1.3 and 1.2 times accordingly ($p<0.01$ for both values), in the 3rd group they were higher in 1.1 times than in group 1, $p<0.05$. Ketone-phenylhydrazone levels were higher in all groups compared with the control, in the 3rd group patients they were 1,1 times higher than in group 1, $p<0.05$. The malondialdehyde level in 3rd group patients was higher than other groups parameters in 1.4 times in comparison with 1-t ($p<0.005$) and 1.2 times – with 2nd group ($p<0.05$).

Conclusion. Imbalance in the “oxidants-antioxidants” system both through increased free radical peroxidation, and because of thiol-disulfide balance shifts at the disease progression was detected.

Key words: Tuberculosis, HIV, Coinfection, Disease Progression, Glutathione, Glutathione Peroxidase, Glutathione Reductase, Glutathione Transferase.

Zaporozhye medical journal 2016; №2 (95): 36–39



Важому роль у системі антиоксидантного захисту (АОЗ) відіграють тіол-дисульфідні сполуки. До них належать глутатіон (трипептид, котрий утворений цистеїном, глутаміном і гліцином), SH- та SS-групи білків і ферменти глутатіонтрансфераза (ГТ), глутатіонпероксидаза (ГП), глутатіонредуктаза (ГР) [1].

У найвищій концентрації глутатіон міститься в цитоплазмі клітин у вигляді трипептиду – гліцин–цистеїн–глутамінова кислота. SH-групи його цистеїну надзвичайно чутливі до окисдації пероксидами. Під впливом ферменту ГП за наявності активних форм кисню та продуктів вільно-радикального перекисного окислення (ВРПО) відновлена форма глутатіону переходить в окислювальну, а потім під дією ГР знову відновлюється до відновленої за участі НАДФН, що перетворюється на НАДФ (НАДФН окислений). ГР каталізує реакцію перетворення окисленого глутатіону за допомогою НАДФН до відновленого глутатіону. ГП бере участь в утилізації перекису водню та у відновленні гідроперекисів жирних кислот та інших органічних перекисів. Кінцевими продуктами таких реакцій є окислений глутатіон і вода. ГТ не розщеплює перекис водню, але здатна каталізувати перетворення органічних гідроперекисів у відповідні спирти й міститься у клітинах у високих концентраціях [6].

Унаслідок перетворення відновленого глутатіону в окислений система глутатіону бере участь у підтримці у тканинах тіол-дисульфідної рівноваги. Під час виразного окислювального стресу можливе зрушення в ній у бік зменшення білкових SH-груп і накопичення надалі продуктів ВРПО, що посилює окислювальний стрес [3].

Встановлено, що СНІД викликає зниження внутрішньоцитоплазматичного рівня глутатіону в CD4⁺-клітинах, периферичній крові та еритроцитах, а низький рівень глутатіону корелює з низьким рівнем виживання хворих. Пригнічення глутатіонової системи пришвидшує реплікацію ВІЛ у пацієнтів з імунодефіцитом [8].

Рівень відновленого глутатіону нижчий у хворих на туберкульоз. Визначено, що глутатіон має пряму бактерицидну активність щодо мікобактерій туберкульозу [5,8].

У деяких роботах встановлено, що в пацієнтів із коінфекцією туберкульоз/ВІЛ відбувається виразніше зниження рівнів глутатіону відновленого, ГП і ГР, причому після проведення базисної терапії їхній рівень залишається нижчим, ніж у хворих тільки на ВІЛ або тільки на туберкульоз [4,7]. Але натепер недостатньо вивчені тіол-дисульфідні сполуки залежно від варіанта перебігу туберкульозу у ВІЛ-позитивних хворих на вперше діагностований туберкульоз легень, що зумовило здійснення цього дослідження.

Мета роботи

Оцінити зміни компонентів тіол-дисульфідної системи залежно від варіанта перебігу захворювання у пацієнтів із вперше діагностованим туберкульозом легень при коінфекції туберкульоз/ВІЛ (ВДТБ/ВІЛ).

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 54 хворих на (ВДТБ/ВІЛ), які лікувалися у

клініці КУ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер» ЗОР і КУ «Центр СНІД» ЗОР протягом 2010–2014 років. Середній вік пацієнтів – 37,8±1,2 року, чоловіків – 41 (75,9%), жінок – 13 (24,1%). Вогнищевий туберкульоз наявний у 5 випадках (9,3%), інфільтративний – у 25 (46,3%), дисемінований – у 24 (44,4%).

Контрольну групу становили 32 практично здорові особи – донори крові: середній вік – 35,9±2,5 року, чоловіків – 22 (68,7%), жінок – 10 (31,3%).

Хворих ретроспективно залежно від результатів лікування поділили на 3 групи: 1 – пацієнти з позитивною динамікою, 2 – хворі з прогресуючим перебігом без синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ), 3 група – пацієнти з прогресуючим перебігом із ССЗВ. До 1 групи ввійшло 15 хворих, у 2 – 13, у 3 – 26 пацієнтів.

Динаміку вважали позитивною при зменшенні клінічних проявів захворювання, припиненні бактеріовиділення, загоєнні чи зменшенні розмірів деструкції, розсмоктуванні інфільтративних і вогнищевих змін у легенях, вилікуванні супутніх захворювань або досягненні їхньої ремісії.

Як прогресуючий перебіг ко-інфекції розцінювали при відсутності конверсії мазка мокротиння, негативній клініко-рентгенологічній динаміці або відсутності змін по завершенні інтенсивної фази лікування, прогресуванні супутньої патології, декомпенсації з боку інших органів і систем, погіршенні гематологічних, біохімічних та імунологічних показників із клінічною симптоматикою.

ССЗВ у хворих встановлювали клінічно за наявності двох і більше критеріїв за R. Bone et al., (1992). Критерії ССЗВ: температура тіла $\geq 38^{\circ}\text{C}$ або $\leq 36^{\circ}\text{C}$; частота серцевих скорочень ≥ 90 /хвилину; частота дихальних рухів ≥ 20 /хвилину; кількість лейкоцитів $\geq 12 \cdot 10^9/\text{л}$, або $\leq 4 \cdot 10^9/\text{л}$, або кількість паличко-ядерних нейтрофілів $\geq 10\%$.

Для визначення показників ВРПО й тіол-дисульфідної системи у всіх пацієнтів і здорових осіб уранці натще брали кров із кубітальної вени (10 мл). Надалі кров центрифугували й виділяли плазму та фракцію клітин. Ці дослідження здійснювали на базі біохімічного відділу навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету. Кров забирали під час госпіталізації пацієнтів. Виразність ВРПО оцінювали за рівнями альдегідфенілгідразону (АФГ), кетонфенілгідразону (КФГ) і малонового діальдегіду (МДА). АФГ і КФГ визначали за методикою В. Halliwell (1999), МДА – за методикою В. Б. Гаврилова (1983). Тіол-дисульфідну систему оцінювали за рівнями: відновленого глутатіону (мкмоль/г Нв), ферментів ГР (мкмоль НАДФН/г Нв), ГП (МО/г Нв) й ГТ (ммоль/хв/г Нв) у фракції клітин. Глутатіон відновлений визначали за стандартною методикою (1981) [2], ГП і ГР визначали за методикою E. Beutler (1975), ГТ – за методикою W. H. Habig (1974).

Дані результатів обстеження й лікування хворих зберігали, опрацьовували та обчислювали сучасними методами аналізу з використанням статистичного пакета ліцензійної програми Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc, № АХХR712 D833214FAN5).

Таблиця 1

Показники ВРПО у хворих на ВДТБ/ВІЛ залежно від перебігу захворювання, Me (Q₂₅-Q₇₅)

Показники, одиниці вимірювання	Контроль, n=32	1 група, n=15	2 група, n=13	3 група, n=26
АФГ сп., опт. щільн./г білка	3,75 (3,45-4,08)	4,21 (3,64-4,27)	4,74 (3,81-5,43)#	4,65 (4,37-5,53)*#
КФГ сп., опт. щільн./г білка	2,40 (1,88-2,65)	2,66 (2,24-3,32)#	2,90 (2,32-3,57)#	3,02 (2,77-3,51)*#
МДА, нмоль/л	4,88 (3,76-5,64)	4,7 (3,38-5,64)	5,82 (4,04-6,77)	7,05 (5,83-10,25)*#•

Примітки: # – відмінність щодо контролю (p<0,05); * – відмінність щодо 1 групи (p<0,05); • – відмінність між 2 і 3 групами (p<0,05).

Таблиця 2

Показники тіол-дисульфідної системи у хворих на ВДТБ/ВІЛ залежно від перебігу захворювання, Me (Q₂₅-Q₇₅)

Показники, одиниці вимірювання	Контроль, n=32	1 група, n=15	2 група, n=13	3 група, n=26
Глутатіон відновлений, мкмоль/г Нв	1,74 (0,79-2,16)	0,58 (0,44-0,96)#	0,92 (0,67-0,97)#	0,86 (0,55-1,54)#
ГР, мкмоль НАДФН/г Нв	1,68 (1,34-3,01)	1,32 (0,50-2,06)	1,44 (0,47-2,42)	0,96 (0,68-1,26)#
ГП, МО/г Нв	17,5 (12,8-25,5)	10,2 (7,5-21,6)	7,8 (5,8-10,7)#	7,7 (5,0-15,6)#
ГТ, ммоль/хв/г Нв	169,8 (125,6-224,8)	164,6 (141,6-234,4)	140,9 (105,3-204,1)	140,6 (68,3-254,2)

Примітки: # – відмінність щодо контролю (p<0,05); * – відмінність щодо 1 групи (p<0,05).

Враховуючи невелику кількість пацієнтів у групах і нерівномірний розподіл даних, результати показано у вигляді: Me (Q₂₅-Q₇₅), де Me – медіана, Q₂₅ – 25 і Q₇₅ – 75 процентиля, відповідно (верхній та нижній квартилі). Статистичну значущість відмінностей даних у підгрупах із контролем визначали методом Манна-Уїтні. За рівень статистичної значущості вважали значення показника вірогідності різниці між групами p<0,05.

Результати та їх обговорення

Рівні АФГ статистично значущо перевищували контрольні показники у хворих 2 та 3 груп у 1,3 та 1,2 раза відповідно (p<0,01 для обох значень), у 3 групі – у 1,1 раза перевищували значення 1 групи, p<0,05. Рівні КФГ були вищими в усіх групах, порівнюючи з контролем, у 3 групі – в 1,1 раза вищими, ніж у 1 групі, p<0,05. Рівень МДА у хворих 3 групи перевищував показники інших груп у 1,4 раза (p<0,005) й у 1,2 раза (p<0,05) відповідно для 1 та 2 груп (табл. 1).

Тобто за позитивної динаміки перебігу туберкульозу визначали лише збільшення КФГ на початку лікування, за прогресуючого перебігу захворювання зростали рівні АФГ й КФГ, а при приєднанні ССЗВ статистично значущо на початку лікування були збільшеними рівні всіх показників ВРПО.

Рівні глутатіону відновленого були статистично значущо зниженими в усіх групах пацієнтів (p<0,05). У пацієнтів 1 групи – у 3 рази, у хворих 2 групи – у 1,9 раза, у пацієнтів 3 групи – у 2 рази (табл. 2).

Рівні ГР статистично значущо у 1,8 раза були зменшеними у пацієнтів 3 групи, порівнюючи з контролем (p<0,001), у хворих 1 та 2 груп не вірогідно відрізнялися від контрольних значень, що свідчить про порушення процесів перетворення

окисленого глутатіону у відновлений у хворих на ВДТБ/ВІЛ при прогресуванні захворювання та розвитку ССЗВ.

Рівні ГП були статистично значущо зниженими у пацієнтів 2 (у 2,2 раза) і 3 (у 2,3 раза) груп, порівнюючи із контролем, p<0,005. Тобто під час прогресування туберкульозу у хворих на ВДТБ/ВІЛ за умов посилення ВРПО порушуються процеси утилізації гідроперекисів ліпідів і перекису водню, що свідчить про поглиблення дисбалансу в антиоксидантному захисті.

Рівні ГТ не відрізнялися вірогідно від контрольних значень, можливо, внаслідок того, що у клітинах цей фермент міститься у великій кількості. Але за недостатності субстрату – глутатіону, за умов зниження рівнів ГР й ГП цей фермент не здатний відновити дисбаланс у тіол-дисульфідній системі.

Отже, у хворих на ВДТБ/ВІЛ під час позитивної динаміки на початку лікування спостерігається зниження рівнів глутатіону відновленого, а рівні ферментів тіол-дисульфідної системи перебувають у межах норми. Під час прогресування туберкульозу поряд зі зменшенням на початку лікування рівнів глутатіону відновленого зменшуються рівні ГП, а при ССЗВ зменшуються також рівні ГР, що, за умов зростання ВРПО, поглиблює дисбаланс у тіол-дисульфідних сполуках і пригнічує антиоксидантний захист. Це зумовлює необхідність призначення тіолових препаратів ВІЛ-позитивним хворим на туберкульоз під час виникнення ризику прогресування захворювання.

Висновки

1. У хворих на вперше діагностований туберкульоз легень при ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ визначили зменшення



рівня відновленого глутатіону. При прогресуванні захворювання на тлі зростання показників перекисного окислення білків також зменшуються рівні глутатіонпероксидази.

2. З розвитком синдрому системної запальної відповіді на тлі зростання показників перекисного окислення білків і ліпідів та зменшення рівня глутатіону відновленого зменшуються рівні глутатіонредуктази й глутатіонпероксидази, що свідчить про поглиблення дисбалансу в системі «оксиданти – антиоксиданти» при прогресуванні захворювання як через

посилення вільно-радикального перекисного окислення, так і внаслідок зрушення тіол-дисульфідної рівноваги.

Перспективи подальших досліджень. Надалі є потреба встановити динаміку показників антиоксидантного захисту, зокрема й тіол-дисульфідних компонентів під впливом етіотропної терапії, та визначити показання до застосування тіоловмісних лікарських засобів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Список літератури

1. Жадан В.М. Вивчення функціонального стану глутатіонзалежних ферментів еритроцитів у хворих на ідіопатичні інтерстиціальні пневмонії / В.М. Жадан // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2012. – №3(10). – С. 36–41.
2. Изучение глутатиона и ферментов его метаболизма у больных старших возрастных групп с хронической церебральной ишемией / В.И. Кулинский Л.С. Колесниченко, В.В. Шпрах и др. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2005. – Т. 1(39). – С. 63–65.
3. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) / О.А. Толпыгина // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №2–2(84). – С. 178–180.
4. Comparison of lipid peroxidation product and enzymatic antioxidants in newly diagnosed pulmonary tuberculosis patients with and without human deficiency virus infection / T. Gouripur, P.B. Desai, A. Van, et al. // International journal of pharma and bio sciences. – 2012. – Vol. 3. – №3. – P. 391–397.
5. Connell N.D. Control of mycobacterium tuberculosis infection by glutathione / N.D. Connell, V. Venketaraman // Recent patents on anti-infective drug discovery. – 2009. – Vol. 4. – №3. – P. 214–226.
6. Ghezzi P. Role of glutathione in immunity and inflammation in the lung / P. Ghezzi // International journal of general medicine. – 2011. – №4. – P. 105–113.
7. Investigation of the levels of oxidative stress parameters in HIV and HIV-TB co-infected patients / O. Awodele, S.O. Olayemi, J.A. Nwite, T.A. Adeyemo // The journal of infection in developing countries. – 2012. – Vol. 6. – №1. – P. 79–85.
8. Glutathione and growth inhibition of mycobacterium tuberculosis in healthy and HIV infected subjects [Електронний ресурс] / V. Venketaraman, T. Rodgers, R. Linares, et al. // AIDS research and therapy. – 2006. – Vol. 3. – №2.

References

1. Zhadan, V. M. (2012). Vyvchennia funktsionalnogo stanu hlutacionzaleznykh fermentiv erytotsytiv u khvorykh na idiopatychni interstysialni pnevmonii [The study of the functional

state of erythrocytes glutathione-dependent enzymes in patients with idiopathic interstitial pneumonia]. *Tuberkuloz, lehenevi khvoroby, VIL-infektsiia*, 3(10), 36–41. [in Ukrainian].

2. Kulinskij, V. I., Kolesnichenko, L. S., Shprakh, V. V., Verlan, N. V., Bardymov, V. V., Gubina, et al. (2005). Izuchenie glutationa i fermentov ego metabolizma u bol'nykh starshikh voznrastnykh grupp s khronicheskoy cerebral'noj ishemii [Study of glutathione and its metabolic enzymes in patients of older age groups with chronic cerebral ischemia]. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra SO RAMN*, 1(39), 63–65. [in Russian].
3. Tolpygina, O. A. (2012). Rol' glutationa v sisteme antioksidantnoj zashchity (obzor) [Role of glutathione in the antioxidant defense system (review)]. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra SO RAMN*, 2–2(84), 178–180. [in Russian].
4. Gouripur, T., Desai, P. B., Van, A., Gouripur, K., & Patil, V. (2012). Comparison of lipid peroxidation product and enzymatic antioxidants in newly diagnosed pulmonary tuberculosis patients with and without human deficiency virus infection. *International journal of pharma and bio sciences*, 3(3), 391–397.
5. Connell, N. D., & Venketaraman, V. (2009). Control of mycobacterium tuberculosis infection by glutathione. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, 4(3), 214–226. doi: 10.2174/157489109789318541.
6. Ghezzi, P. (2011). Role of glutathione in immunity and inflammation in the lung. *International journal of general medicine*, 4, 105–113. doi: 10.2147/IJGM.S15618.
7. Awodele, O., Olayemi, S. O., Nwite, J. A., & Adeyemo, T.A. (2012). Investigation of the levels of oxidative stress parameters in HIV and HIV-TB co-infected patients. *The journal of infection in developing countries*, 6(1), 79–85.
8. Venketaraman, V., Rodgers, T., Linares, R. Reilly, N., Swaminathan, S., Hom, D., et al. (2006). Glutathione and growth inhibition of mycobacterium tuberculosis in healthy and HIV infected subjects. *AIDS research and therapy*, 3(2). doi: 10.1186/1742-6405-3-5.

Відомості про автора:

Ясинський Р. М., канд. мед. наук, асистент каф. фтизіатрії та пульмонології, Запорізький державний медичний університет,
E-mail: yarn85@mail.ru.

Сведения об авторе:

Ясинский Р. Н., канд. мед. наук, ассистент каф. фтизиатрии и пульмонологии, Запорожский государственный медицинский университет,
E-mail: yarn85@mail.ru.

Information about author:

Yasinskiy R. M., MD, PhD, Assistant, Department of Phthisiology and Pulmonology, Zaporizhzhia State Medical University,
E-mail: yarn85@mail.ru.

Поступила в редакцию 25.02.2016 г.