

ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК 616.24-002.5-036.87:616.24-002.5:[616.98:578.828ВІЛ]-092

СИСТЕМА «ОКСИДАНТИ-АНТИОКСИДАНТИ» У ХВОРИХ НА РЕЦИДИВИ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ ПРИ КО-ІНФЕКЦІЇ ТУБЕРКУЛЬОЗ/ВІЛ

Ясінський Р. М.

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна

Зрушення у системі «оксиданти-антиоксиданти» відіграють важливу роль у прогресуванні захворювання у пацієнтів із вперше діагностованим туберкульозом легень при ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ. Не вивчалися зміни у цій системі при рецидивах туберкульозу у ВІЛ-позитивних осіб. З метою встановлення особливостей змін у системі «оксиданти-антиоксиданти» у пацієнтів із рецидивами туберкульозу легень при ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ обстежено 31 ВІЛ-позитивних та 22 ВІЛ-негативних хворих на рецидиви туберкульозу легень. У пацієнтів у крові визначали показники перекисного окислення білків (ПОБ) і ліпідів (ПОЛ) та системи глутатіону. В якості маркерів ПОБ визначали в плазмі альдегідфенілгідрозон, та кетонфенілгідрозон, за методикою В. Halliwell (1999). Серед продуктів ПОЛ визначали маломовий діальдегід, дієнові кон'югати, трієноктони та шифові основи за методикою В.Б. Гаєрилова (1983). Тіол-дисульфідну систему оцінювали за рівнями: відновленого глутатіону, ферментів глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГП) і глутатіонтрансферази (ГТ) у фракції клітин. Глутатіон відновлений визначали за стандартною методикою, (1981), ГП і ГР визначали за методикою Beutler E., (1975), ГТ – за методикою Habig W.H., (1974). Встановили, що у ВІЛ-позитивних і ВІЛ-негативних хворих на рецидиви туберкульозу легень відбувається зростання маркерів перекисного окислення білків на тлі тенденції до зниження рівнів глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази. У ВІЛ-позитивних пацієнтів із рецидивами туберкульозу легень окрім цього зростають також рівні маркерів перекисного окислення ліпідів, що на тлі зниження рівнів глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази поглиблює виразність окислювального стресу за рахунок зрушення балансу в системі «оксиданти-антиоксиданти» у бік вільно-радикального перекисного окислення.

Ключові слова: ко-інфекція туберкульоз/ВІЛ, перекисне окислення білків, перекисне окислення ліпідів, система глутатіону.

Вступ. При туберкульозі та при ВІЛ-інфекції активуються системи вільно-радикального перекисного окислення (ВРПО) та антиоксидантного захисту (АОЗ). У разі прогресуючого перебігу захворювань, поширенні туберкульозного процесу та наявності деструкцій у легенях визначається дисбаланс у системі «оксиданти-антиоксиданти» у бік зростання продуктів ВРПО [1, 2, 6, 7, 11, 12].

В результаті дії активних форм кисню на клітини утворюються продукти перекисного окислення білків (ПОБ) і ліпідів (ПОЛ). Продукти ПОБ в подальшому стимулюють ПОЛ, окислювальне пошкодження ДНК, порушення ферментативних процесів в організмі, порушення функціонування іонних каналів та рецепторів клітин, крім того вони самі мають виражені цитотоксичні дії [2]. Особливу увагу в системі АОЗ слід приділити тіол-дисульфідним сполукам. До них відносять глутатіон (трипептид, який утворений цистеїном, глутаміном та гліцином), SH- та SS-групи білків та ферменти глутатіонтрансферази (ГТ),

що забезпечує знешкодження ксенобіотиків, глутатіонпероксидази (ГП), що необхідна для знешкодження радикалів і глутатіонредуктази (ГР), яка відновлює глутатіон [3]. У найвищій концентрації глутатіон знаходиться у цитоплазмі клітин у вигляді трипептиду – гліцин-цистеїн-глутамінова кислота. Під впливом ферменту ГП за наявності активних форм кисню та продуктів ПОЛ, ПОБ відновлена форма глутатіону (SH) переходить в окислювальну (SS), а потім під дією ГР відновлюється до SH за участі нікотинаденіндинуклеотидфосфату відновленого (НАДФН), що перетворюється на НАДФ (НАДФН окислений) [8].

У пацієнтів із ко-інфекцією із вперше діагностованим туберкульозом легень відзначається зростання рівнів продуктів ПОЛ на всіх стадіях захворювання в порівнянні з хворими лише на ВІЛ або туберкульоз. У таких хворих відбувається більш виразне зниження рівнів глутатіону відновленого, ГП і ГР на всіх стадіях, причому після проведення базисної терапії їх рівень

залишається нижчим, ніж у хворих тільки на ВІЛ, або тільки на туберкульоз [5, 9, 10].

У літературі не описані зміни у системі «оксиданти-антиоксиданти» у пацієнтів із рецидивами туберкульозу легень при ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ.

Мега роботи. Встановити особливості змін у системі «оксиданти-антиоксиданти» у пацієнтів із рецидивами туберкульозу легень при ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ.

Матеріали та методи

Обстежено 53 хворих, які лікувалися у КУ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер» Запорізької обласної ради та КУ «Центр СНІД» Запорізької обласної ради у період з 2010 по 2014 рр. До критеріїв виключення пацієнтів із обстеження відносили: резистентність МБТ до ПТП (методами полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР), засіву на рідке чи тверде середовища), хворі старше 60 років, супутня патологія з боку інших органів і систем (цукровий діабет будь-якого типу, онкологічне захворювання, виявлення іншого тяжкого конкуруючого захворювання).

Хворих було розподілено на 2 групи: 1-а група – 31 хворих на рецидиви туберкульозу при ко-інфекції туберкульоз/ВІЛ (РТБ/ВІЛ); 2-а група – 22 ВІЛ-негативних хворих з рецидивами туберкульозу легень (РТБ). У 1-й групі було 24 чоловіка (77,4 %) та 7 жінок (22,6 %), середній вік складав $37,7 \pm 1,5$ років. У 2-й групі – 18 чоловіків (81,8 %) і 4 жінки (18,2 %), середній вік становив $42,1 \pm 2,5$ років.

Контрольну групу склали 32 практично здорових осіб – донорів крові: середній вік був ($35,9 \pm 2,5$) років, чоловіків було 22 (68,7 %), жінок 10 (31,3 %). Тобто, групи були репрезентативними.

У хворих на РТБ/ВІЛ частіше діагностували дисемінований (51,6 %) та інфільтративний (45,2 %) туберкульоз проти вогнищового (3,2 %), $p < 0,05$. У пацієнтів із РТБ час-

тіше визначався інфільтративний туберкульоз (72,7 %) проти дисемінованого (22,8 %) та вогнищового (4,5 %), $p < 0,05$.

Для визначення стану ПОБ та ПОЛ, показників тіол-дисульфідної системи у всіх пацієнтів і здорових осіб ранком натще брали кров з кубітальної вени в кількості 10 мл. В подальшому кров центрифугували і розподіляли на плазму (визначали показники ПОБ і ПОЛ) та фракцію клітин (визначали показники тіол-дисульфідної системи). Ці дослідження проводилися на базі біохімічного відділу Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету. Загальний білок визначали згідно інструкції в біуретовій реакції за стандартною методикою. В якості маркерів ПОБ визначали в плазмі ранній маркер – альдегідфенілгідрозон (АФГ), та пізній – кетонфенілгідрозон (КФГ), за методикою В. Halliwell (1999).

Серед продуктів ПОЛ визначали МДА (нмоль/л), ДК (од.), трієскетони (ТК, од.) та шифові основи (ШО, од.) 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) і ГТ (ммоль/хв/г Нв) у фракції клітин. Глутатіон відновлений визначали за стандартною методикою, (1981) [4], ГП і ГР визначали за методикою Beutler E., (1975). ГТ – за методикою Habig W.H. (1974).

Статистичну обробку інформації проводили з використанням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (Stat Soft Inc., № AXXR712 D833214FAN5). Статистичну значимість відмінностей у групах визначали за допомогою критерію Манна-Уїтні. За рівень статистичної значимості приймалися значення показника вірогідності різниці між групами (p) рівні менше 0,05.

Таблиця 1

Рівні показників вільно-радикального перекисного окислення у групах

Показники	Здорові, n=32	1-а група, n=31	2-а група, n=22
АФГ, опт щільн/г білка	$3,81 \pm 0,09$	$5,20 \pm 0,65^*$	$6,0 \pm 0,50^*$
КФГ, опт щільн/г білка	$2,32 \pm 0,09$	$3,35 \pm 0,33^*$	$3,85 \pm 0,27^*$
МДА, нмоль/л	$4,86 \pm 0,31$	$6,31 \pm 0,55^*$	$5,40 \pm 0,55$
ДК, од.	$1,09 \pm 0,03$	$1,42 \pm 0,11^*$	$1,17 \pm 0,10$
ТК, од.	$0,90 \pm 0,03$	$0,95 \pm 0,07$	$0,98 \pm 0,08$
ШО, од.	$0,31 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,05$

Примітки: * – відмінність по відношенню до здорових осіб ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Рівні показників антиоксидантного захисту у групах

Показники	Здорові, n=32	1-а група, n=31	2-а група, n=22
Глутатіон відновлений, мкмоль/г Нв	$1,53 \pm 0,15$	$1,23 \pm 0,23\#$	$0,65 \pm 0,14$
ГР, мкмоль НАДФН/г Нв	$2,39 \pm 0,31$	$1,6 \pm 0,30$	$1,73 \pm 0,33$
ГП, МО/г Нв	$19,9 \pm 1,77$	$13,61 \pm 2,6^*$	$11,88 \pm 2,7$
ГТ, ммоль/хв/г Нв	$175,6 \pm 11,5$	$174,2 \pm 20,1$	$160,7 \pm 20,7$

Примітки: * – відмінність по відношенню до здорових осіб ($p < 0,05$); # – відмінність між 1-ю і 2-ю групами ($p < 0,05$).

Результати та обговорення. У всіх пацієнтів спостерігалася зростання маркерів ПОБ порівняно із здоровими особами. У хворих 1-ї групи статистично значимо підвищеними у 1,4 рази були рівні АФГ ($p < 0,005$) і КФГ ($p < 0,0005$) (табл. 1). Очевидно, маркери ПОБ були підвищеними у всіх пацієнтів, оскільки вони зростають в першу чергу при наявності окислювального стресу під дією інфекційних патогенів.

У хворих 1-ї групи визначалось зростання МДА і ДКУ 1,3 рази відносно контролю, $p < 0,05$. Рівні ТК і ШО у групах статистично значимо не відрізнялися. У хворих на РТБ рівні ПОЛ статистично значимо не відрізнялись від контрольних значень. Тобто у ВІЛ-позитивних пацієнтів зрушення у системі «оксиданти-антиоксиданти» за рахунок ВРПО були більш вагомими, можливо, за рахунок виразної імуносупресії.

Рівні глутатіону відновленого були статистично значимо нижчими у хворих 2-ї групи порівняно з 1-ю у 1,9 разів, $p < 0,05$. По відношенню до здорових осіб статистично значимої різниці не знайдено (табл. 2).

Рівні ГР мали тенденцію до зниження у групах хворих. Рівні ГП були зниженими у 1,4 рази у хворих 1-ї групи в порівнянні із контрольною групою ($p < 0,001$), визначалася тенденція до зниження ГП у 2-й групі. Статистично значимої різниці між рівнями ГТ у групах не встановлено. Тобто, незважаючи на те, що рівень глутатіону відновленого у хворих на РТБ/ВІЛ був у межах норми – рівні ГР і ГП були зниженими, що свідчить про дисбаланс у системі глутатіону.

Висновки. У ВІЛ-позитивних і ВІЛ-негативних хворих на рецидиви туберкульозу легень відбувається зростання маркерів перекисного окислення білків на тлі тенденції до зниження рівнів глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази. У ВІЛ-позитивних пацієнтів із рецидивами туберкульозу легень окрім цього зростають також рівні маркерів перекисного окислення ліпідів, що на тлі зниження рівнів глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази поглиблює виразність окислювального стресу за рахунок зрушення балансу в системі «оксиданти-антиоксиданти» у бік вільно-радикального перекисного окислення.

Конфлікт інтересів. Автор заявляє, що не має конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Це дослідження не отримало ніякої фінансової підтримки від державної, громадської чи комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волчегорский И.А. Показатели системы перекисного окисления липидов – антиоксидантная защита как предикторы неблагоприятного течения инфильтративного туберкулеза легких / И.А. Волчегорский, П.Н. Новоселов, А.А. Болотов // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2008. – № 4. – С. 28-32.
2. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Украинський біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5-18.
3. Жадан В.М. Вивчення функціонального стану глутатіон-залежних ферментів еритроцитів у хворих на ідіопатичні інтерстиціальні пневмонії / В.М. Жадан // Туберкульоз, легенева хвороба, ВІЛ-інфекція. – 2012. – № 3 (10). – С. 36-41.
4. 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.
5. 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. Vani [et al.] // International journal of pharma and bio sciences. – 2012. – Vol. 3, № 3. – P. 391-397.
6. Evaluation of lipid peroxidation product, nitrite and antioxidant levels in newly diagnosed and two months follow-up patients with pulmonary tuberculosis / M. Lamsal, N. Gautam, N. Bhatta [et al.] // Southeast Asian journal of tropical medicine and Public Health. – 2007. – Vol. 38, № 4. – P. 695-703.
7. Friis-Moller N. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction / N. Friis-Moller, P. Reiss, C.A. Sabin // The New England journal of medicine. – 2007. – Vol. 356, № 17. – P. 1723-1735.
8. Ghezzi P. Role of glutathione in immunity and inflammation in the lung / P. Ghezzi // International journal of general medicine. – 2011. – № 4. – P. 105-113.
9. 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.
10. Oguntibeju O.O. Red palm oil and its antioxidant potential in reducing oxidative stress in HIV/AIDS and TB patients / O.O. Oguntibeju, A.J. Esterhuysen, E.J. Truter // Biomedical science, engineering and technology. – 2012. – Vol. 1. – P. 151-164.
11. Oxidative stress and reduced vitamins C and E levels are associated with multi-drug resistant tuberculosis / J.A. Alli, A.O. Kehinde, A.M. Kosoko, O.G. Ademowo // Journal of tuberculosis research. – 2014. – № 1. – P. 52-58.
12. Sharma B. Oxidative stress in HIV patients receiving antiretroviral therapy / B. Sharma // Current HIV research. – 2014. – Vol. 12, № 1. – P. 13-21.

СИСТЕМА «ОКСИДАНТЫ-АНТИОКСИДАНТЫ» У БОЛЬНЫХ РЕЦИДИВАМИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ ПРИ КО-ИНФЕКЦИИ ТУБЕРКУЛЕЗ/ВИЧ*Ясинский Р.Н.**Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина*

Сдвиги в системе «оксиданты-антиоксиданты» играют весомую роль в прогрессировании заболеваний у пациентов с впервые диагностированным туберкулезом легких при ко-инфекции туберкулез/ВИЧ. Не изучались изменения в этой системе при рецидивах туберкулеза у ВИЧ-положительных пациентов. С целью установления особенностей изменений в системе «оксиданты-антиоксиданты» у пациентов с рецидивами туберкулеза легких при ко-инфекции туберкулез/ВИЧ обследовано 31 ВИЧ-положительных и 22 ВИЧ-отрицательных больных рецидивами туберкулеза легких. У пациентов в крови определяли показатели перекисного окисления белков (ПОБ) и липидов (ПОЛ) и системы глутатиона. В качестве маркеров ПОБ определяли в плазме альдегидфенилгидразон и кетонфенилгидразон по методике В. Halliwell (1999). Среди продуктов ПОЛ определяли малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, триенкетоны и шиффовы основания по методике В.Б. Гаврилова (1983). Тиол-дисульфидную систему оценивали по уровням: восстановленного глутатиона, ферментов глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионтрансферазы (ГТ) во фракции клеток. Глутатион восстановленный определяли по стандартной методике, (1981), ГП и ГР определяли по методике Beutler E., (1975), ГТ – по методике Habig W.H., (1974).

Установлено, что у ВИЧ-положительных и ВИЧ-отрицательных больных с рецидивами туберкулеза легких происходит рост маркеров перекисного окисления белков на фоне тенденции к снижению уровней глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы. У ВИЧ-положительных пациентов с рецидивами туберкулеза легких кроме этого растут также уровни маркеров перекисного окисления липидов, что на фоне снижения уровней глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы усугубляет выраженность окислительного стресса за счет сдвига баланса в системе «оксиданты-антиоксиданты» в сторону свободно-радикального перекисного окисления.

Ключевые слова: ко-инфекция туберкулез/ВИЧ, перекисное окисление белков, перекисное окисление липидов, система глутатиона.

THE «OXIDANTS-ANTIOXIDANTS» SYSTEM IN TUBERCULOSIS/HIV CO-INFECTED PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS RELAPSES*R.M. Yasinskyi**Zaporizhzhia state medical university, Zaporizhzhia, Ukraine*

Changes in «oxidants-antioxidants» system play a significant role in the progression of disease in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis in TB/HIV co-infected patients. The changes in this system haven't been studied yet in tuberculosis/HIV co-infected patients with pulmonary tuberculosis relapses. 31 HIV-positive and 22 HIV-negative patients with pulmonary tuberculosis relapses were examined with the aim to establish the «oxidants-antioxidants» system features in tuberculosis/HIV co-infected patients with pulmonary tuberculosis relapses. Indicators of protein peroxidation (PP), lipids peroxidation (LP) and glutathione system were measured in patient's blood. Aldehyde-phenylhydrazone, ketone-phenylhydrazone as PP markers were determined in plasma by the method B. Halliwell (1999). Among the lipids peroxidation products malondialdehydes, diene conjugates, triene-ketones and Schiff's bases measured by V.B. Gavrilov method, 1983. The thiol-disulfide system was evaluated by levels: reduced glutathione, glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GP) and glutathione-transferase (GT) in the cell fraction. Reduced glutathione levels by standard method, (1981), GP, GR by the Beutler E., (1975) method and GT by the method of Habig WH, (1974) were determined.

It was found, that there are an increasing of proteins peroxidation markers on the background of the tendency of glutathione reductase and glutathione peroxidase levels reduction in HIV-positive and HIV-negative patients with pulmonary tuberculosis relapses. In HIV-positive patients with relapsed pulmonary tuberculosis there are also increasing levels of lipid peroxidation markers in addition, that due to lower levels of glutathione reductase and glutathione peroxidase worsens the severity of oxidative stress by shifting the balance in the system «oxidant-antioxidant» toward free-radical peroxidation.

Keywords: tuberculosis/HIV co-infection, protein peroxidation, lipid peroxidation, the glutathione system.