

DOI: 10.26693/jmbs04.01.141

УДК 616-008:547.367:616.24-007.272-036.1

Тягла О. С.

## СТАН ГЛУТАТІОНОВОЇ ЛАНКИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХРОНІЧНИМ ОБСТРУКТИВНИМ ЗАХВОРЮВАННЯМ ЛЕГЕНЬ В УМОВАХ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Запорізький державний медичний університет, Україна

Кафедра клінічної фармакології, фармації, фармакотерапії та косметології

oksana.tiagla@gmail.com

Вивчення ініціальної ролі оксидативного стресу в патогенезі хронічного обструктивного захворювання легень на тлі гіпертонічної хвороби дає перспективи адекватної фармакокорекції даної коморбідної патології.

*Метою* дослідження була оцінка глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи у пацієнтів із хронічним обструктивним захворюванням легень при артеріальній гіпертензії.

У рамках дослідження було обстежено 59 хворих, які були розподілені на 3 субкогорті: 23 хворих було з діагнозом гіпертонічна хвороба II стадії і хронічне обструктивне захворювання легень II стадії без клінічно значущої супутньої патології, середній вік  $51,72 \pm 1,22$  (49,33-54,09) року (гендерний склад: 22 чоловіка і 1 жінка), статус паління можна порівняти з хворими на хронічне обструктивне захворювання легень.

Також обстежено 18 хворих гіпертонічною хворобою обох статей у віці від 33 до 67 років (середній вік  $50,74 \pm 1,49$  (47,81-53,76); співвідношення чоловіки/ жінки 17/ 83%), II стадії захворювання з рівнем артеріальної гіпертензії I-III ступеня, різного кардіоваскулярного ризику, без адекватної систематичної антигіпертензивної терапії.

У 18 пацієнтів з хронічним обструктивним захворюванням легень II стадії середній вік склав  $50,32 \pm 0,99$  (48,22-52,16) років (гендерний склад: 14 чоловіків і 4 жінки), тривалість захворювання  $7,52 \pm 1,14$ . При цьому 80% були активні курці, індекс пачко-років  $17,23 \pm 2,69$ , на шкідливий професійний фактор (виробничий) вказали 23,53%. Стан тіол-дисульфідної системи вивчали за вмістом окисненого і відновленого глутатіону, SH-груп та активністю ферментів – глутатіон-S-трансферази, глутатіонредуктази і глутатіонпероксидази в сироватці крові.

Співвідношення відновлених / окиснених форм глутатіону демонструє найбільший потенціал тіол-дисульфідної системи при артеріальній гіпертензії –  $7,97 \pm 0,15$  у.о., а найнижчі значення при комор-

бідності –  $3,81 \pm 0,34$  у.о., причому відсоткова різниця між трьома групами була статистично значущою у кожному випадку щодо даного співвідношення: АГ vs. ХОЗЛ – 23,57% ( $P < 0,05$ ), АГ vs. АГ+ХОЗЛ – 109,19% ( $P < 0,05$ ), ХОЗЛ vs. АГ+ХОЗЛ – 69,29% ( $P < 0,05$ ).

Коморбідна патологія хронічного обструктивного захворювання легень та артеріальну гіпертензію призводить до значних змін глутатіонової ланцюга тіол-дисульфідної системи за рахунок зменшення її відновлених інтермедіатів (значно падає рівень відновленого глутатіону, відновлених тіольних груп), зростання рівня окисненого глутатіону і загальної кількості окиснених тіолів на фоні зменшення активності ферментів глутатіон-S-трансферази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази, більш суттєво, ніж наявність одного захворювання у вигляді хронічного обструктивного захворювання легень або артеріальної гіпертензії.

**Ключові слова:** тіол-дисульфідна система, хронічне обструктивне захворювання легень, артеріальна гіпертензія, глутатіон, антиоксидантна система.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота є фрагментом НДР кафедри клінічної фармакології, фармації, фармакотерапії і косметології ЗДМУ «Клініко-біохімічні та морфологічні аспекти діагностики та можливості фармакотерапевтичної корекції кардіоваскулярної патології у осіб різних вікових груп», № держ. реєстрації 0114U001393.

**Актуальність.** У фізіологічних умовах вільні радикали продукуються в ході різних метаболічних процесів. У нормі в біологічних системах підтримується баланс між генерацією і нейтралізацією активних форм кисню (АФК), який регулюється ендогенною антиоксидантною системою. В умовах, коли антиоксидантна система не в змозі нормалізувати клітинний рівень АФК, в тканинах накопичуються продукти їх взаємодії з клітинними компонентами.

Порушення балансу між продукцією вільних радикалів і механізмів контролю за їх вмістом призводить до розвитку окисного стресу [1]. Продукція вільних радикалів в клітині може посилюватися в результаті різних несприятливих факторів, що включають порушення кровообігу, а також при зміні умов функціонування або виявленні генетично обумовлених дефектів. АФК є хімічно нестабільними і високореактивними сполуками, що й обумовлює їх здатність до атаки і ушкоджувального впливу на основні клітинні компоненти – білки, ліпіди і ДНК. Вільні радикали є медіаторами тканинного пошкодження і можуть індукувати каскад патофізіологічних процесів, що призводять до дисфункції і клітинної смерті при різних патологічних станах, включаючи артеріальну гіпертензію (АГ) і хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) [2].

Тіол-дисульфідна система становить пов'язану окислювально-відновну пару, в якій під дією слабких окислювачів або слабких відновників відбуваються взаємні перетворення. Цей процес використовується для підтримання окислювально-відновного гомеостазу в організмі і в роботі антиоксидантної буферної системи. При зайвому накопиченні в організмі окислювачів, наприклад за рахунок вільнорадикального окиснення, їх дія перш за все спрямовується на білки, що містять амінокислоту цистеїн, яка, окислюючись, перетворюється в цистин. В результаті цистеїнові фрагменти білка зшиваються ковалентними дисульфідними містками, що призводить до фіксації нової конформації (просторової структури) білка і до порушення його біологічних функцій [3].

Тіоловісні компоненти антиоксидантної буферної системи, приймаючи на себе дію окислювача, захищають білки з вільними тіольними групами від окиснення. З цією метою в організмі використовуються тіол-дисульфідні пов'язані окислювально-відновні пари на основі трипептида глутатіона (G-SH) і дигідроліпоєвої кислоти. Тіол-дисульфідна рівновага використовується організмом для захисту від дії окислювачів, відновників і радикалів [3].

Важливим компонентом антиоксидантної системи (АОС) є глутатіон-залежна ланка: глутатіонпероксидаза (ГПО), глутатіонтрансфераза (ГТ), глутатіонредуктаза (ГР). Система глутатіону, беручи участь в процесах кон'югації і антирадикального захисту, може відігравати важливу роль в регуляції процесів цитопротекції, проліферації і диференціювання клітин [4]. Перш за все, шляхом регулювання співвідношення окиснених і відновлених сульфгідрильних груп різних білків – рецепторів і ферментів, шляхом створення різних комплексних сполук з речовинами різної природи, наприклад, з лікарськими препаратами і ендогенними токсикантами, що

утворюються в ході порушеного метаболізму клітин. Утворені комплексні сполуки можуть чинити істотний вплив на окислювально-відновний потенціал клітин, змінюючи їх метаболічний і регуляторний фон [5].

Згідно літературних даних в старших вікових групах практично здорових людей відзначено зсув тіол-дисульфідної рівноваги в сторону окиснених еквівалентів, що є фактором, що формує віковий ризик окисного стресу і пов'язаної з ним захворюваності. Гострота запального процесу в органах дихання супроводжується достовірним зниженням величини тіол-дисульфідної рівноваги зі зміщенням в сторону окиснених сполук сірковмісних речовин, що корелюють з тяжкістю патологічного процесу і гострофазовими показниками запальної реакції. А додавання сірковмісних препаратів (натрію тіосульфату, ацетилцистеїну) до терапії хворих гострими запальними захворюваннями органів дихання ефективно заповнює антиоксидантний ресурс SH-груп тіолів, що супроводжується значним клінічним поліпшенням стану пацієнтів і прискорює процес одужання [6].

Відомо, що в умовах кисневого дефіциту мітохондрії є одним з основних джерел утворення вільних радикалів, гіперпродукція яких здатна пошкоджувати будь-які макромолекули клітин (протеїни, ДНК, ліпіди). З іншого боку, самі мітохондрії можуть бути мішенями для цих атак, і тільки наявність ефективного антиоксидантного захисту дозволяє підтримувати концентрацію агресивних кисневих метаболітів на безпечному рівні. Мітохондріальний редокс-баланс підтримується двома головними редокс-системами – глутатіоновою та тіоредоксиновою [7]. Висока редокс-активність глутатіону за одночасної стійкості до окиснення киснем, значна концентрація в клітині та можливість зберігати свій відновлений стан роблять його важливим внутрішньоклітинним редокс-буфером. Як антиоксидант глутатіон відіграє головну роль у захисті клітинних структур від окислювального стресу, виступаючи донором електронів для пероксидаз. Ще одна важлива функція глутатіону пов'язана з утворенням змішаних дисульфідів з протеїнами, що може бути додатковим елементом регуляції біологічних процесів [8]. Зміни у протеїнових тіолах можуть розглядатися як посттрансляційна модифікація, яка включає утворення сульфенових кислот, змішаних дисульфідів протеїнів (S-глутатіонування) та внутрішньопропротеїнових дисульфідів тощо. S-глутатіонування поряд з O-фосфорилуванням, глікозилюванням та іншими формами модифікацій, є важливим механізмом регуляції функціонального стану та модуляції активності протеїнів. У цьому регуляторному механізмі важливу роль відіграє

мітохондріальний глутаредоксин (Grx2), який ефективно каталізує реакції S-глутатіонування/деглутатіонування протеїнів [9].

Отже, вивчення ініціальної ролі оксидативного стресу в патогенезі ХОЗЛ на тлі гіпертонічної хвороби дає перспективи адекватної фармакокорекції даної коморбідної патології із урахуванням усіх патогенетичних аспектів, адже саме оксидативний стрес є причинним фактором порушення тонкого балансу тіол-дисульфідної системи, а також провокує запуск каспазного механізму апоптозу нейтрофілів із подальшим прогресуванням і взаємообтяженням нозологій.

**Метою дослідження** була оцінка глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи у пацієнтів із хронічним обструктивним захворюванням легень при артеріальній гіпертензії.

**Матеріали та методи.** В рамках дослідження було обстежено 59 хворих, які були розподілені на 3 субкогорти. Перша субкогорта - 23 хворих з діагнозом гіпертонічна хвороба (ГХ) II стадії і ХОЗЛ II стадії без клінічно значущої супутньої патології, середній вік  $51,72 \pm 1,22$  (49,33-54,09) року (гендерний склад: 22 чоловіка і 1 жінка), статус куріння не має достовірних відмінностей у порівнянні із хворими на ХОЗЛ.

Друга субкогорта - 18 хворих на ГХ обох статей у віці від 33 років до 67 року (середній вік  $50,74 \pm 1,49$  (47,81-53,76)); співвідношення чоловіки/ жінки 17/ 83%), II стадії захворювання з рівнем АГ I-III ступеня, різного кардіоваскулярного ризику, без адекватної систематичної антигіпертензивної терапії.

Третя субкогорта - 18 пацієнтів з ХОЗЛ II стадії, середній вік яких склав  $50,32 \pm 0,99$  (48,22-52,16) років (гендерний склад: 14 чоловіків і 4 жінки), тривалість захворювання  $7,52 \pm 1,14$  років. При цьому 80% були активні курці, індекси пачко-років  $17,23 \pm 2,69$ , на шкідливий професійний фактор (виробничий) вказали 23,53%.

Діагностика ХОЗЛ проводилася на підставі загальноприйнятих критеріїв [10]. Хворі, які брали участь в дослідженні, мали переважно ХОЗЛ середнього і тяжкого ступеня (за GOLD) [10].

Оцінювали рівень обсягу форсованого видиху за першу секунду (ОФВ<sub>1</sub>) і величину співвідношення обсягу форсованого видиху за першу секунду до форсованої життєвої ємності легень (ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ). Визначення функції зовнішнього дихання здійснювалося за стандартною методикою на спірографічному апараті «СПІРОКОМ» з використанням програмного забезпечення відповідно до рекомендацій Американської торакальної та Європейської респіраторної спільноти.

Усі досліді проводили у відповідності до Конвенції Ради Європи «Про захист прав людини і

людської гідності в зв'язку з застосуванням досягнень біології та медицини: Конвенція про права людини та біомедицину (ETS № 164)» від 04.04.1997 р., і Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2008 р.). Всі пацієнти дали письмову добровільну згоду на участь в дослідженні та отримували традиційну терапію [11], відповідно до рекомендацій ВООЗ.

Стан тіол-дисульфідної системи вивчали за вмістом окисненого і відновленого глутатіону та активністю ферментів – глутатіон-S-трансферази (ГТ), глутатіонредуктази (ГР) і глутатіонпероксидази (ГПО) в сироватці крові. Рівень окиснених і відновлених форм глутатіону визначали флюорометрично за реакцією з о-фталевим ангідридом [12]. Визначення активності ГР ґрунтувалося на вимірюванні швидкості окиснення NADPH, яка реєструвалася спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм. Активність ГТ визначали за швидкістю утворення глутатіон-S-кон'югатів між відновленою формою глутатіону і 1-хлор-2,4-динітробензолом (CDNB) [13]. Активність ГПО (ммоль/ хв/ г білка) визначали за методикою Моїн В.М. [14], а активність і ГР (NADPH/ хв/ мг білка, нМ) – за методикою Goldberg [15]. Концентрацію білка визначали за методом О.Н. Lowry [16].

Для визначення рівня відновлених SH-груп тіолів до 0,1 мл плазми крові додавали 0,8 мл трис-НСІ-буферу і 0,1 мл 5,5'-дитіобіс-(2-нітробензойної кислоти) (ДТНБК). Інкубувати 5 хв при 37<sup>0</sup>С. Паралельно ставили холосту пробу, в яку замість біоматеріалу додавали 0,1 дистильованої води. Для визначення сумарного вмісту SH-груп до 0,1 мл цитозольної фракції додавали 0,5 мл концентрованої НСІ, 0,5 мл трис-НСІ-буферу і 10 мг цинкового пилу. Інкубували 20 хв при 37<sup>0</sup>С. Профільтровували через промитий гарячою (70-80<sup>0</sup>С) водою фільтр. До фільтрату додавали 0,1 мл ДТНБК і доводили трис-НСІ-буфером до 3 мл. Паралельно ставили холосту пробу, в яку замість біоматеріалу додавали 0,1 мл дистильованої води. Реєстрували оптичну щільність експериментальних проб проти холостої проби при  $\lambda=412$  нм.

Усі дослідження проводились в Навчальному медико-лабораторному центрі ЗДМУ (зав. - проф. Абрамов А.В.).

При статистичній обробці даних використовували ліцензійну програму «STATISTICA® for Windows 6.1» (StatSoft Inc., США, серійний номер RGXR412D674002FWC7). Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критеріями Kolmogorov-Smirnov (D), Lilliefors та Shapiro-Wilk (W). Дані представлені у вигляді середнього і стандартної помилки репрезентативності вибіркового середнього значення (95% довірчий інтервал (95% ДІ)). У випадку

розподілу, яке відрізняється від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували критерій Kruskal-Wallis H для 3-х непов'язаних вибірок з наступним співставленням згідно критерію Games-Howell. Достовірними вважали відмінності при рівні значущості менше 0,05.

**Результати дослідження.** Динаміка активності ферментів глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи представлена в **табл. 1**.

Із наведених даних видно, що ензиматична активність ГТ у групі хворих на АГ була максимальною, складаючи  $2,57 \pm 0,32$  ( $1,95-3,19$ ) мкмоль/г білка, і при цьому була достовірно вище, ніж аналогічні показники груп хворих на ХОЗЛ та з коморбідністю. Різниця склала 86,23% та 55,8%, відповідно.

Активність ГР знову виявлялася на максимальному рівні у групі хворих із АГ порівняно з іншими досліджуваними групами, складаючи  $2,62 \pm 0,41$  мкмоль/г білка. У хворих на ХОЗЛ даний маркер антиоксидантного захисту становив  $1,72 \pm 0,25$  мкмоль/г білка, будучи статистично достовірно ( $P < 0,05$ ) на 43,5% менше рівня активності ГР у групі хворих на АГ. При коморбідному стані ХОЗЛ на тлі АГ активність ГР становила  $0,87 \pm 0,13$  мкмоль/г білка, будучи найменш вираженою, уступаючи аналогічному показнику пацієнтів першої групи на 123,5% статистично достовірно ( $P < 0,05$ ), та на 55,8% по відношенню до пацієнтів із ХОЗЛ другої групи, маючи також статистичну значимість ( $P < 0,05$ ).

Активність ГПО на фоні АГ становила  $9,5 \pm 1,05$  мкмоль/г білка, на фоні ХОЗЛ даний показник фіксувався на рівні  $6,62 \pm 0,87$  мкмоль/г білка, будучи статистично достовірно нижче на 52,3% ( $P < 0,05$ ) порівняно з першою групою. При поєднаному перебігу ХОЗЛ та АГ значення ензиму ГПО демонстрували найнижчу активність на рівні  $4,25 \pm 0,6$  мкмоль/г білка, будучи статистично значимо нижче аналогічного показника

першої та другої груп хворих на 201,2% та 97,7% відповідно ( $P < 0,05$ ).

Зміни тіол-дисульфідного балансу у відповідних субкогортах наведено у **табл. 2**.

Вміст відновленого глутатіону (G-глутамініл-L-цистеїніл-гліцин), який є маркером функціональної активності тіол-дисульфідної системи до відновлення затрачених ресурсів на фоні активації вільно-радикального пошкодження клітин, демонстрував найвищі значення при монозонологіях, зокрема, при АГ становив  $8,89 \pm 1,36$  мкмоль/г білка, а при

**Таблиця 1** – Ензиматична активність глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи в сироватці крові у пацієнтів різних груп, ( $M \pm m$ )

Показники вмісту у сироватці крові	Групи хворих			Величина відмінностей між групами
	АГ, n = 18	ХОЗЛ, n = 18	ХОЗЛ на тлі АГ, n = 23	
	1	2	3	
Активність ГТ, мкмоль/г білка	$2,57 \pm 0,32$ (1,95-3,19)	$2,15 \pm 0,12$ (1,92-2,39)	$1,38 \pm 0,15$ (1,08-1,67)	$P_{1-2} > 0,05$ $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} < 0,05$
Активність ГР, у. мкмоль/г білка	$2,62 \pm 0,41$ (1,82-3,42)	$1,72 \pm 0,25$ (1,24-2,21)	$0,87 \pm 0,13$ (0,62-1,12)	$P_{1-2} < 0,05$ $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} < 0,05$
Активність ГПО, мкмоль/г білка	$9,5 \pm 1,05$ (7,45-11,56)	$6,62 \pm 0,87$ (4,92-8,32)	$4,25 \pm 0,63$ (3,02-5,48)	$P_{1-2} < 0,05$ $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} < 0,05$

**Примітки:** АГ – артеріальна гіпертензія, ХОЗЛ – хронічне обструктивне захворювання легень, ГТ – глутатіонтрансфераза, ГР – глутатіонредуктаза, ГПО – глутатіонпероксидаза.

**Таблиця 2** – Показники тіол-дисульфідного балансу у сироватці крові обстежених осіб залежно від групи ( $M \pm m$ )

Показники вмісту у сироватці крові	Групи хворих			Величина відмінностей між групами
	АГ, n = 18	ХОЗЛ, n = 18	ХОЗЛ на тлі АГ, n = 23	
	1	2	3	
Відновленого глутатіону, мкмоль/г білка	$8,89 \pm 1,36$ (6,22-11,56)	$6,14 \pm 1,01$ (4,16-8,11)	$4,66 \pm 0,74$ (3,21-6,12)	$P_{1-2} > 0,05$ $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} > 0,05$
Окисненого глутатіону, мкмоль/г білка	$1,13 \pm 0,18$ (0,78-1,49)	$1,24 \pm 0,31$ (0,64-1,84)	$1,99 \pm 0,51$ (0,98-3,01)	$P_{1-2} > 0,05$ $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} > 0,05$
Співвідношення від./окис. форм глутатіону, у.о.	$7,97 \pm 0,15$ (7,68-8,25)	$6,45 \pm 0,41$ (5,66-7,25)	$3,81 \pm 0,34$ (3,15-4,47)	$P_{1-2} < 0,05$ $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} < 0,05$
SH-групи, мкмоль/г білка	$74,67 \pm 14,42$ (46,4-102,95)	$55,9 \pm 6,55$ (43,07-68,74)	$36,73 \pm 4,21$ (28,47-44,99)	$P_{1-2} > 0,05$ $P_{1-3} < 0,05$ $P_{2-3} < 0,05$

**Примітки:** АГ – артеріальна гіпертензія, ХОЗЛ – хронічне обструктивне захворювання легень, від./окис. форм глутатіону – відновлені / окиснені форми глутатіону.

ХОЗЛ –  $6,14 \pm 1,01$  мкмоль/г білка. При поєднанні АГ та ХОЗЛ виявлено найнижчі рівні відновленого глутатіону –  $4,66 \pm 0,74$  мкмоль/г білка, що статистично значимо ( $P < 0,05$ ) нижче від рівнів відновленого глутатіону в групі із АГ на 90,8%.

Вміст окисненого глутатіону (з окисненням селеном Se-), як ознака функціональної декомпенсації антиоксидантної активності тіол-дисульфідної системи, навпаки, був максимальним при захворюванні на АГ та ХОЗЛ –  $1,99 \pm 0,51$  мкмоль/г білка, перевищуючи аналогічний показник груп із монопатологією АГ на 43,2% статистично достовірно ( $P < 0,05$ ). Вміст окисненого глутатіону визначався на рівні  $1,13 \pm 0,18$  мкмоль/г білка при АГ, та  $1,24 \pm 0,31$  мкмоль/г білка при ХОЗЛ, при цьому реєструвалася лише недостовірною тенденція до зростання цього показника при ХОЗЛ.

Співвідношення відновлених/ окиснених форм глутатіону цілком відображає вищезначену динаміку даних показників по групам, демонструючи найбільший потенціал тіол-дисульфідної системи при АГ –  $7,97 \pm 0,15$  у.о., а найнижчі значення при коморбідності –  $3,81 \pm 0,34$  у.о., причому відсоткова різниця між трьома групами була статистично значущою у кожному випадку щодо даного співвідношення: АГ vs. ХОЗЛ – 23,6% ( $P < 0,05$ ), АГ vs. АГ+ХОЗЛ – 109,2% ( $P < 0,05$ ), ХОЗЛ vs. АГ+ХОЗЛ – 69,3% ( $P < 0,05$ ).

Вміст SH-груп виявлено на рівні  $74,67 \pm 14,42$  мкмоль/г білка при АГ, що на 33,6% вище аналогічного показника в групі з ХОЗЛ ( $55,9 \pm 6,55$  мкмоль/г білка), та на 103,3% вище статистично достовірно ( $P < 0,05$ ) в групі ХОЗЛ+АГ ( $36,73 \pm 4,21$  мкмоль/г білка). Різниця між другою та третьою групами щодо значень SH-груп також була статистично значимою на рівні 52,2% ( $P < 0,05$ ).

**Обговорення.** Патогенетичні механізми АГ і ХОЗЛ багато в чому подібні, тому при асоціації цих захворювань можливий взаємно потенційний негативний вплив, що ускладнює перебіг кожного із них та обумовлює важливість пошуку нових аспектів патофізіологічної спряженості порушень кардіоваскулярної системи та бронхолегеневих змін. Крім того, наявність АГ при ХОЗЛ має відомі обмеження як на вибір і комбінування антигіпертензивних препаратів, так і на стратегію терапії бронхообструкції. Не дивлячись на це, проблема як формування, так і лікування у хворих на ХОЗЛ з АГ патологічних кардіоваскулярних змін, основної детермінанти підвищеного ризику появи кінцевих точок перебігу коморбідного захворювання, залишається недостатньо вивченою.

При поєднаному перебігу ХОЗЛ та АГ система антиоксидантів визначає сумарну антиокислювальну активність тканини, яка залежить як від віднос-

ної кількості біоантиоксидантів і їх взаємодії, так і від наявності речовин, здатних посилювати чи послаблювати дію біоантиоксидантів, а також від присутності компонентів, здатних до радикалоутворення або прискорення окислювальних реакцій в модельних системах. В умовах, коли антиоксидантні системи не в змозі нормалізувати клітинний рівень АФК, в тканинах накопичуються продукти їх взаємодії з клітинними компонентами. Це є сигналом до вступу в дію систем клітинної репарації. Метіонін-сульфоксидредуктази зупиняють процес окиснення метіоніну, протеази руйнують необоротно окиснені білки, сприяючи їх заміні новоутвореними молекулами. Фосфоліпази видаляють пошкоджені жирнокислотні хвости фосфоліпідів, а ацил-CoA трансферази репарують мембранні структури клітин. Ендонуклеази видаляють окиснені нуклеїнові основи, сприяючи процесу репарації нуклеїнових кислот. Наскільки ці процеси можуть встигнути підтримати клітинну цілісність залежить від співвідношення ефективності утворення і нейтралізації АФК. Некомпенсоване підвищення рівня АФК свідчить про виснаження антиоксидантної системи і загрожує клітині небезпекою мутагенних змін [17].

Значний інтерес на сучасному етапі представляє погляд на суттєвий вплив метаболізму глутатіону на стан апоптозу та наступні зміни у вегетативному забезпеченні серця зі зміною симпатовагального балансу. На сьогодні, якщо підсумувати літературні дані та результати проведених досліджень, можна зазначити, що оцінка системи глутатіону в деякій мірі вивчена у хворих на АГ, у хворих з ХОЗЛ існують лише поодинокі дослідження, а при коморбідному перебігу майже відсутні [18]. Інтенсивність окислювально-відновних процесів відображає тіол-дисульфідний обмін, досягає 0,5% SH-сполук у хв. від загального пулу клітинних тіолів, що грає важливу роль в життєздатності клітини. SH-групи залишків цистеїну вельми значущі для функціонування ферментів і процесів, що лежать в основі відповідей на фактори навколишнього середовища і внутрішньоклітинної передачі інформації – клітинного сигналіngu. Ключовим механізмом основної ролі тіол-опосередкованого окислювально-відновного контролю у клітинному метаболізмі є здатність тіольних груп зворотньо змінювати свій редокс-статус з подальшою зміною конформаційних, каталітичних або регуляторних функцій білка [19].

Основу клітинного окислювально-відновного гомеостазу, за допомогою якого може підтримуватися редокс-стан тіольних груп білків, становить співвідношення відновленого (GSH) і окисненого (GSSG) глутатіону, присутнього в більшості клітин. Слід зазначити, що найважливішу роль редокс-

процесів у регуляції фаз активності клітин, тобто зміна редокс-стану може виступати одним з основних факторів перемикання клітинної активності, в тому числі і при ініціюванні процесів проліферації, диференціювання та апоптозу аж до процесів некрозу, набуваючи концептуальне значення (у формі редокс-гіпотези) при ряді патологічних станів організму і, насамперед, в ангіології, кардіології та пульмонології. Отже, редокс-потенціал тіол-дисульфідної пари цистеїн/цистин в плазмі крові є прогностичним тестом кардіоваскулярного ризику при наявності визначених факторів ризику і в багатфакторному регресійному аналізі набуває вирішального значення [20].

Депривація глутатіонової системи в умовах комбінованого захворювання на ХОЗЛ та АГ призводить до зниження показників антиоксидантної системи, формування мітохондріальної дисфункції. Очевидно, дефіцит відновленого глутатіону в мітохондріях призводить до посилення утворення активних форм кисню та азоту і окиснення цистеїн-залежних ділянок білків, що утворюють мітохондріальну пору. Надлишок активних форм азоту (пероксинітрит, іон нітрозонію), що утворюються при дефіциті глутатіону в мітохондріях, призводить до окисної модифікації супероксиддисмутазу (СОД), зниження її активності. Зниження активності Мп-СОД сприяє вторинній активації вільноради-

кальних реакцій та посиленню окисної деструкції чутливих ділянок мітохондріальної мембрани та формуванню стійкої мітохондріальної дисфункції.

**Висновки.** В результаті проведених досліджень встановлено, що коморбідна патологія хронічного обструктивного захворювання легень та артеріальної гіпертензії призводить до значних змін глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи за рахунок зменшення її відновлених інтермедіатів (значно падає рівень відновленого глутатіону, відновлених тільки груп), зростання рівня окисненого глутатіону і загальної кількості окиснених тіолів на фоні зменшення активності ферментів глутатіон-S-трансферази, глутатіонредуктази і глутатіонпероксидази в сироватці крові, більш суттєво, ніж наявність одного захворювання у вигляді хронічного обструктивного захворювання легень або артеріальної гіпертензії.

**Перспективи подальших досліджень.** З огляду на отримані результати, що розкривають ключову роль глутатіонової системи організму як стратегічної мішені антиоксидантної та антигіпоксичної терапії, перспективною є подальша оцінка асоціації клінічних проявів коморбідності та параметрів глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи на тлі проведеного лікування, що потенційно може бути теоретичним фундаментом для виявлення предикторів позитивності традиційної терапії цих хворих.

## References

1. Goodrich LE, Roy S, Alp EE, Zhao J, Hu MY, Lehnert N. Electronic structure and biologically relevant reactivity of low-spin {FeNO}8 porphyrin model complexes: new insight from a bis-picket fence porphyrin. *Inorg Chem.* 2013 Jul; 52(13): 7766-80. PMID: 23746143. doi: 10.1021/ic400977h
2. Muravleva LYe. Okislitel'naya modifikatsiya belkov: problemy i perspektivy issledovaniya [Oxidative Modification of Proteins: Problems and Prospects of Research]. *Fundamental'nyye issledovaniya.* 2010; 1: 74-7. [Russian]
3. Gorbacheva SV, Belenichev IF. Antioksidantnaya modulyatsiya neyroapoptoza v usloviyakh disbalansa tiol-disulfidnoy sistemy i nakopleniya okislennykh promezhutochnykh soyedineniy in vitro [Antioxidant modulation of neuroapoptosis under conditions of imbalance of the thiol-disulfide system and the accumulation of oxidized intermediates in vitro]. *Vísnik problem biológii i meditsini.* 2015; 3(1): 124-8. [Russian]
4. Popov SS. Aktivnost' glutationovoy antioksidantnoy sistemy pri gipertireoze i pri deystvii melatonina [Activity of the glutathione antioxidant system in hyperthyroidism and under the action of melatonin]. *Problemy endokrinologii.* 2008; 3: 47-50. [Russian]
5. Kulinskiy VI, Kolesnichenko LS. Sistema glutationa I. Sintez, transport glutationtransferazy, glutationperoksidazy [Glutathione system I. Synthesis, transport of glutathione transferase, glutathione peroxidase]. *Biokhimiya.* 2009; 55(3): 225-40. [Russian]
6. Dave BN, Paradkar NM. Total superoxide dismutase, Cu/Zn superoxide dismutase and glutathione peroxidase in untreated hyperthyroidism and hypothyroidism. *JK Science.* 2009; 11(1): 6-10.
7. Gorbacheva HA. Narusheniye tioldisulfidnogo ravnovesiya u bol'nykh s ostrymi vospalitel'nymi zabolevaniyami organov dykhaniya [Violation of thiol-disulfide balance in patients with acute inflammatory diseases of the respiratory system]. *Sbornik trudov desyatoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Aktual'nyye voprosy vnutrennikh bolezney».* SPb; 2009. p. 66-7. [Russian]
8. Ago T, Sadoshima J. Thioredoxin 1 as a negative regulation of cardiac hypertrophy. *Antioxid and Redox Signal.* 2007; 9(8): 679-87. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1529>
9. Funato Y, Miki H. Nucleoredoxin, a novel thioredoxin family member involved in cell growth and differentiation. *Antioxid and Redox Signal.* 2007; 9(8): 1035-57. PMID: 17567240. DOI: 10.1089/ars.2007.1550
10. Mirza S, Clay RD, Koslow MA, Scanlon PD. COPD Guidelines: A Review of the 2018 GOLD Report. *Mayo Clin Proc.* 2018; 93(10): 1488-502. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.05.026>

11. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018; 39(33): 3021-104. PMID: 30165516. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy339
12. Halliwell B. *Free radical in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press; 1995. 345 p.
13. Danilova LA. *Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya* [Handbook of laboratory research methods]. SPb: Piter; 2003. 736 p. [Russian]
14. Moin VM. Prostoy i spetsificheskiy metod opredeleniya aktivnosti glutationperoksidazy v eritrotsitakh [A simple and specific method for determining the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes] *Lab delo*. 1986; 12: 124-6. [Russian]
15. Goldberg DM. *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie. 1983; 5 (3): 258-65.
16. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951 Nov; 193(1): 265-75. PMID: 14907713
17. Xie J, Yang XY, Shi JD, Deng XQ, Long W. A new inflammation marker of chronic obstructive pulmonary disease. *World J Emerg Med*. 2010; 3: 190-5. PMID: 25214966. PMCID: PMC4129679
18. Mehta SL, Kumari S, Mendeleev N, Li PA. Selenium preserves mitochondrial function, stimulates mitochondrial biogenesis, and reduces infarct volume after focal cerebral ischemia. *BMC Neurosci*. 2012 Jul; 9(13): 79. PMID: 22776356. PMCID: PMC3411431. doi: 10.1186/1471-2202-13-79
19. Malli F, Papaioannou AI, Gourgoulialis KI. The role of leptin in the respiratory system: an overview. *Respiratory research*. 2010; 11(1): 152. PMID: 21040518. PMCID: PMC2988727. DOI: 10.1186/1465-9921-11-152
20. Ivanova YV. Vliyaniye razlichnykh skhem lecheniya na uroven' provospalitel'nogo tsitokina TNF-alfa v indutsirovannoy mokrote pri obostrenii HOBL u lits, perenesshikh tuberkulez legkikh [Effect of various treatment regimens on the level of proinflammatory cytokine TNF-alpha in induced sputum during exacerbation of COPD in people who have had pulmonary tuberculosis]. *Bukovinskiy meditsinskiy vestnik*. 2013; 1(65): 38-41. [Russian]

УДК 616-008: 547.367: 616.24-007.272-036.1

## СОСТОЯНИЕ ГЛУТАТИОНОВОГО ЗВЕНА ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Тяглая А. С.

**Резюме.** Изучение инициальной роли оксидативного стресса в патогенезе хронического обструктивного заболевания легких на фоне гипертонической болезни дает перспективы адекватной фармакокоррекции.

**Целью исследования** была оценка глутатионного звена тиол-дисульфидной системы у пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких при артериальной гипертензии.

В рамках исследования было обследовано 59 больных, которые были распределены на 3 субгруппы: 23 больных было с диагнозом гипертоническая болезнь II стадии и хроническое обструктивное заболевание легких II стадии без клинически значимой сопутствующей патологии, средний возраст 51,72±1,22 (49,33-54,09) года (гендерный состав: 22 мужчины и 1 женщина), статус курения можно сравнить с большими хроническим обструктивным заболеванием легких.

Также обследовано 18 больных с гипертонической болезнью обоего пола в возрасте от 33 до 67 лет (средний возраст 50,74±1,49 (47,81-53,76), соотношение мужчины/ женщины 17/83%), II стадии заболевания с уровнем артериальной гипертензии I-III степени, различного кардиоваскулярного риска, без адекватной систематической антигипертензивной терапии.

У 18 пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких II стадии средний возраст составил 50,32±0,99 (48,22-52,16) лет (гендерный состав: 14 мужчин и 4 женщины), длительность заболевания 7,52±1,14. При этом 80% были активные курильщики, индекс пачко-лет 17,23±2,69, на вредоносный профессиональный фактор (производственный) указали 23,53%. Состояние тиол-дисульфидной системы изучали по содержанию окисленного и восстановленного глутатиона, SH-групп и активности ферментов – глутатион-S-трансферазы, глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы в сыворотке крови.

Соотношение восстановленных / окисленных форм глутатиона демонстрирует наибольший потенциал тиол-дисульфидной системы при артериальной гипертензии – 7,97±0,15 у.е. и низкие значения при коморбидности – 3,81±0,34 у.е., причем процентная разница между тремя группами была статистически значимой в каждом случае по данному соотношению: АГ vs. ХОЗЛ – 23,57% (P <0,05), АГ vs. АГ + ХОЗЛ – 109,19% (P <0,05), ХОЗЛ vs. АГ + ХОЗЛ – 69,29% (P <0,05).

Коморбидная патология хронического обструктивного заболевания легких и артериальной гипертензии приводит к значительным изменениям глутатионовой цепи тиол-дисульфидной системы за счет уменьшения ее восстановленных интермедиатов (значительно падает уровень глутатиона, восстановленных тиольных групп), роста уровня окисленного глутатиона и общего количества окисленных тиолов

на фоне уменьшения активности ферментов глутатион-S-трансферазы, глутатионредуктазы и глутатион пероксидазы, более существенно, чем наличие одного заболевания в виде хронического обструктивного заболевания легких или артериальной гипертензии.

**Ключевые слова:** тиол-дисульфидная система, хроническое обструктивное заболевание легких, артериальная гипертензия, глутатион, антиоксидантная система.

UDC 616-008: 547.367: 616.24-007.272-036.1

### **Condition of Glutathione Chain of the Thiol-Disulphide System in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Arterial Hypertension**

**Тягала О. С.**

**Abstract.** Studying the initial role of oxidative stress in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease on the background of arterial hypertension gives prospects for adequate pharmacological correction of this comorbid pathology taking into account all pathogenetic aspects. This is due to oxidative stress which is the causative factor in the delicate balance of the thiol-disulfide system, and also triggers the launch of the caspase mechanism of neutrophil apoptosis with progression and mutual burdening of nosologies.

*The aim of the study* was to evaluate the metabolism of a biologically active tripeptide (consisting of  $\gamma$ -glutamic acid residues, cysteine and glycinate) and thiol-disulfide balance in patients with chronic obstructive pulmonary disease and arterial hypertension.

*Material and methods.* During the study we examined 59 patients. They were divided into 3 subgroups: 23 patients were diagnosed with stage II hypertension disease and stage II chronic obstructive pulmonary disease without a clinically significant concomitant pathology, average age  $51.72 \pm 1.22$  (49.33-54.09) years, gender composition: 22 men and 1 woman, smoking status can be compared with patients with chronic obstructive pulmonary disease.

The 2<sup>nd</sup> group comprised 18 patients with hypertension disease of both sexes aged from 33 to 67 years (average age  $50.74 \pm 1.49$  (47.81-53.76), the ratio of men/ women 17/83%), stage II hypertension disease I-III degree, and different cardiovascular risk, without adequate systematic antihypertensive therapy.

The 3<sup>rd</sup> group included 18 patients with chronic obstructive pulmonary disease stage II, the average age was  $50.32 \pm 0.99$  (48.22-52.16) years (gender: 14 men and 4 women), the disease duration was  $7.52 \pm 1.14$ . At the same time, 80% were active smokers, the pack-year index was  $17.23 \pm 2.69$ , and 23.53% indicated a harmful professional factor (production). The state of the thiol-disulfide system was studied on the content of oxidized and reduced glutathione, SH-groups and the activity of enzymes - glutathione-S-transferase, glutathione reductase and glutathione peroxidase in serum.

*Results and discussion.* Enzymatic activity of glutathione-S-transferase, glutathione reductase and glutathione peroxidase in the group of patients with hypertension was maximum, while it was significantly higher than the corresponding indicators of groups of patients with chronic obstructive pulmonary disease and especially with comorbidity. The ratio of reduced/ oxidized forms of glutathione demonstrates the greatest potential of the thiol-disulfide system in hypertension –  $7.97 \pm 0.15$  u. and low values for comorbidity –  $3.81 \pm 0.34$  u., and the percentage difference between the three groups was statistically significant in each case according to this ratio: arterial hypertension vs. chronic obstructive pulmonary disease – 23.57% ( $P < 0.05$ ), arterial hypertension vs arterial hypertension + chronic obstructive pulmonary disease – 109.19% ( $P < 0.05$ ), chronic obstructive pulmonary disease vs. arterial hypertension + chronic obstructive pulmonary disease – 69.29% ( $P < 0.05$ ).

*Conclusion.* We found that comorbid pathology of chronic obstructive pulmonary disease and arterial hypertension leads to significant changes in the glutathione chain of the thiol-disulfide system due to a decrease in its reduced intermediates (the level of glutathione and reduced thiol groups decreases significantly), an increase in the level of oxidized glutathione and the total amount of oxidized thiols against a background of decreasing enzyme activity glutathione-S-transferase, glutathione reductase and glutathione peroxidase, more significantly than the presence of a single disease in the form of chronic obstructive pulmonary disease or hypertension.

**Keywords:** thiol-disulfide system, chronic obstructive pulmonary disease, arterial hypertension, glutathione, antioxidant system.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 14.11.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування