



О.К. Асмолов, Я.В. Бєсєда

Одеський національний медичний університет

Стан функції нирок у хворих на туберкульоз легень за даними генотипів GSTM1, GSTT1 та NAT2

Мета роботи — вивчення зв'язку між поліморфізмом генів детоксикації ксенобіотиків і функцією нирок у хворих на легеневий туберкульоз.

Матеріали та методи. Обстежено 75 хворих на легеневий туберкульоз, із них 56 хворих на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ) легень і 19 хворих на хронічний туберкульоз (ХТБ) легень. Виділяли ДНК із лейкоцитів периферичної крові хворих на легеневий туберкульоз і зі зскрібків букального епітелію 36 здорових осіб (контрольна група) та визначали поліморфізм GSTM1, GSTT1, NAT2 (2*4, 2*5, 2*6, 2*7).

Результати та обговорення. Через 3 міс після початку лікування у хворих відзначається істотне зростання вмісту загального білка сечі порівняно з попередніми етапами обстеження. Протягом лікування показник мікроальбумінурії зростає у всіх групах хворих порівняно з початком лікування. Через 3 міс після початку лікування у хворих на ХТБ легень спостерігається значно вищий рівень мікроальбумінурії, ніж на попередніх етапах обстеження. Встановлено, що рівень низькомолекулярних білків значно перевищує вміст високомолекулярних майже у всіх групах, за винятком генотипу NAT2*2*4. Особливу роль у розвитку патологічного стану відіграють генотипи NAT2 гомозиготи, del GSTM1 і GSTT1. Наявність алелів NAT2*2*5 і NAT2*2*6 пов'язано зі значною зміною показників ураження тканин нирок протитуберкульозними препаратами.

Висновки. У хворих на туберкульоз легень під час стандартної протитуберкульозної терапії виявлено значні порушення реабсорбційної та видільної функції нирок.

Під впливом протитуберкульозних препаратів I та II ряду одним із провокаційних чинників розвитку патології видільної системи нирок може бути наявність генотипів NAT2 гетерозиготи, NAT2 гомозиготи, del GSTM1, del GSTT1 і алеля NAT2*2*5.

Ключові слова

Туберкульоз, функція нирок, гени детоксикації ксенобіотиків.

Під час проведення стандартної протитуберкульозної терапії згідно із вимогою ВООЗ у хворих на легеневий туберкульоз виявлено значні порушення видільної функції нирок. При екскреції нирками протитуберкульозних препаратів (ПТП) важливу роль відіграє фенотип метаболізму (повільні та швидкі метаболізатори) і швидкість їхньої екскреції ферментами детоксикації. Повільне виведення призводить до токсичних ускладнень, пов'язаних із тривалою циркуляцією

високих концентрацій неметаболізованої фракції препарату. Своєю чергою, дуже висока швидкість метаболізму зумовлює прискорену втрату препаратом активної форми і підвищення частоти медикаментозної резистентності мікобактерій.

Активні продукти I фази метаболізму антибіотиків (дезацетилрифампіцин, піразинова кислота) надходять у загальний кровоплин і можуть негативно впливати на функцію систем організму. З печінки надходять у кров також продукти II фази метаболізму (дезацетилрифампіцин). Значну роль у метаболізмі ліків на етапі II фази, зокрема за взаємодії лікарських препаратів, віді-

Таблиця 1. Рівень загального білка у сечі хворих на туберкульоз легень ($M \pm m$)

Група	До лікування	Через 3 міс лікування
Хворі на туберкульоз легень (n = 75)	0,030 ± 0,006	0,068 ± 0,010*
Хворі на ВДТБ легень (n = 56)	0,027 ± 0,0007	0,065 ± 0,010*
Хворі на ХТБ легень (n = 19)	0,042 ± 0,014	0,078 ± 0,020

Примітка. * Різниця показників групи хворих до лікування та через 3 міс після його початку ($p < 0,05$).

грають ферменти суперсімейства глутатіон-S-трансферази (GST), а також ариламін-N-ацетилтрансферази 2 (NAT2) з притаманним їм генетичним поліморфізмом. Різноманітна швидкість метаболізму лікарських препаратів та їхніх продуктів перетворення зумовлена генетичними варіантами GSTM1, GSTT1 і NAT2 (2*4, 2*5, 2*6, 2*7) і визначає індивідуальний ризик та ступінь виразності гепато- і нефротоксичності на тлі вживання ПТП.

У нирках експресуються три класи цитозольних ферментів: кислі, нейтральні й основні глутатіон-3-трансферази, що відрізняються структурно та функціонально. Основні глутатіон-S-трансферази, також відомі як лігандини, містяться у проксимальних звитих каналцях. У нормі цей клас не виявляють у сечі, але кислі й основні форми глутатіон-3-трансферази з'являються за таких форм ураження каналців, як ішемія, токсичність Cis-platinum, токсичне ураження гентаміцином та іншими ПТП.

Зазначені ферменти токсичних метаболітів порушують видільну функцію нирок та фармакодинаміку препаратів.

Мета роботи — вивчення зв'язку між поліморфізмом генів детоксикації ксенобіотиків і функцією нирок у хворих на легеневиї туберкульоз.

Матеріали та методи

Обстежено 75 хворих на легеневиї туберкульоз, які лікувалися в Одеській обласній протитуберкульозній клінічній лікарні з відділенням для ІВВВ (ООПКЛ), із них 56 хворих — на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ) легень і 19 хворих на хронічний туберкульоз (ХТБ) легень. Згідно зі стандартною схемою DOTS хворі отримували препарати I (ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, стрептоміцин, етамбутол) та II (офлоксацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин, канаміцин, амікацин, капреоміцин, етіонамід, протіонамід, тіоацетазон, кислоту парааміносаліцилову (ПАСК), циклосерин, рифабутин) ряду залежно від захворювання. Клі-

ніко-лабораторні аналізи та спеціальні біохімічні дослідження крові було проведено на базі клінічної лабораторії Одеської ОПКЛ.

Виділяли ДНК із лейкоцитів периферичної крові хворих на легеневиї туберкульоз і зскрібків букального епітелію 36 здорових осіб (контрольна група). Визначення поліморфізму GSTM1 і GSTT1 за допомогою мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) проведено за протоколом для одномоментного аналізу поліморфізму за методом M. Arant і співавт. (1996). Поліморфізм генів NAT2 (2*4, 2*5, 2*6, 2*7) визначали за допомогою ПЛР за методом N.K. Spurr і співавт. (1995). Реакцію ампліфікації проведено на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-технологія», Москва) з використанням локус-специфічних олігонуклеотидних праймерів («Литех», Москва). Аналіз продуктів ПЛР проведено шляхом електрофорезу в 1 % агарозному гелі з подальшим забарвленням етидіумбромідом та візуалізацією в УФ-світлі.

Статистичний аналіз результатів проводили з використанням критеріїв Стьюдента (коефіцієнта ймовірності) та Пірсона (критерій відповідності).

Результати та обговорення

Під час обстеження хворих на туберкульоз легень виявлено значне підвищення показників загального білка сечі у частини обстежених (табл. 1).

Нормальний рівень загального білка сечі спостерігається у 52 % (39 із 75) хворих на легеневиї туберкульоз на початку терапії ПТП. Через 3 міс кількість таких хворих зменшилася до 25,6 % (10 із 39).

Таким чином, після інтенсивної фази лікування (3 міс) кількість хворих з нормальним рівнем білка у сечі зменшилася на 26,4 %.

Через 3 міс після початку лікування у хворих суттєво зростає вміст загального білка сечі порівняно з попередніми етапами обстеження.

Кількість хворих із підвищеними показниками мікроальбумінурії (81,4 %) значно більша, ніж хворих з підвищеним вмістом загального білка в сечі (48 %) на початку лікування та через 3 міс (96,5 проти 68,75 % відповідно).

Рівень низькомолекулярних білків у сечі в усіх групах хворих на легеневиї туберкульоз вірогідно вищий, ніж у контролі (табл. 2).

Протягом лікування показник мікроальбумінурії зростає в усіх групах хворих порівняно з його початком. Через 3 міс після початку лікування у хворих на ХТБ легень спостерігається значно вищий рівень мікроальбумінурії, ніж на попередніх етапах обстеження. Проте показники залишкового азоту крові не мали інформа-

ційної цінності для ранньої та подальшої діагностики порушення функцій нирок у хворих на туберкульоз легень. Так, у здорових його показник становив $(18,9 \pm 0,3)$ ммоль/л, у хворих на туберкульоз легень до початку лікування — $(18,7 \pm 0,2)$ ммоль/л та через 3 міс лікування — $(19,7 \pm 0,9)$ ммоль/л.

Кількість хворих із загальним білком у сечі вірогідно зросла у хворих із генотипами NAT2 гетерозиготи, del GSTM1 та за наявності алеля NAT2*2*5 через 1 міс від початку лікування (табл. 3).

Через 3 міс після госпіталізації до ООПТЛ спостерігається збільшення патології у хворих із генотипами NAT2 гомозиготи, del GSTT1 та за наявності алеля NAT2*2*5.

Незалежно від поліморфізму генів у всіх хворих на туберкульоз легень спостерігалися патологічні зміни у вигляді мікроальбумінурії через 3 міс після початку лікування ПТП. Це вказує на незначні порушення та підвищення проникності клітинних мембран ниркових клубочків.

Таблиця 2. Рівень мікроальбумінурії у хворих на легеневи туберкульоз (M ± m)

Група	До лікування	Через 3 міс лікування
Хворі на туберкульоз легень (n = 75)	$0,18 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,03^{**}$
Хворі на ВДТБ легень (n = 56)	$0,17 \pm 0,01$	$0,26 \pm 0,04^{**}$
Хворі на ХТБ легень (n = 19)	$0,21 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,03^{**}$
Контрольна (n = 36)	$0,015 \pm 0,010^*$	

Примітка. * Різниця показників групи хворих на туберкульоз легень і групи контролю ($p < 0,05$); ** різниця показників хворих на туберкульоз легень до лікування та через 3 міс після його початку ($p < 0,05$).

У кількох групах хворих із генотипами NAT2 гомозиготи, del GSTM1 кількість хворих із високим рівнем мікроальбумінурії до лікування була дещо нижчою за таку в групах хворих з іншими генотипами GST і NAT2 (різниця показників у групі хворих до лікування та через 3 міс після його початку) (табл. 4).

Таблиця 3. Рівень загального білка у сечі хворих на туберкульоз легень із різними генотипами GSTT1, GSTM1 та NAT2

Група	До лікування		При лікуванні через 3 міс	
	Хворі із наявністю білка, %	Вміст білка (M ± m)	Хворі із наявністю білка, %	Вміст білка (M ± m)
Хворі на ХТБ легень (n = 7), NAT2 гетерозиготи	14,3	$0,019 \pm 0,010$	75*	$0,049 \pm 0,030$
Хворі на ТБ легень (n = 45), NAT2 гомозиготи	42	$0,040 \pm 0,009$	77,8*	$0,07 \pm 0,01$
Хворі на ВДТБ легень (n = 33), NAT2 гомозиготи	36,4	$0,030 \pm 0,009$	71,4**	$0,060 \pm 0,017$
Хворі на ХТБ легень (n = 14), del GSTM1	42,9	$0,05 \pm 0,01$	80	$0,07 \pm 0,02$
Хворі на ТБ легень (n = 25), del GSTT1	36	$0,020 \pm 0,009$	75*	$0,06 \pm 0,01$
Хворі на ВДТБ легень (n = 18), del GSTT1	33,3	$0,024 \pm 0,010$	77,8*	$0,06 \pm 0,02$
Хворі на ХТБ легень (n = 16), NAT2*2*5	37,5	$0,033 \pm 0,014$	83	$0,09 \pm 0,02$
Хворі на ТБ легень (n = 51), NAT2*2*5	39,2	$0,024 \pm 0,006$	73,1*	$0,076 \pm 0,010$
Хворі на ВДТБ легень (n = 35), NAT2*2*5	40	$0,019 \pm 0,007$	70*	$0,070 \pm 0,014$

Примітка. * Різниця показників групи хворих до лікування та через 3 міс після його початку ($p < 0,05$).

Таблиця 4. Рівень мікроальбумінурії у хворих на туберкульоз легень із різними генотипами GSTT1, GSTM1 та NAT2

Група	До лікування		При лікуванні	
	Хворі із високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка (M ± m)	Хворі із високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка (M ± m)
Хворі на ТБ легень (n = 45), NAT2 гомозиготи	88,9*	$0,20 \pm 0,02$	100	$0,27 \pm 0,03$
Хворі на ВДТБ легень (n = 33), NAT2 гомозиготи	87,9*	$0,18 \pm 0,02$	100	$0,25 \pm 0,04$
Хворі на ТБ легень (n = 38), del GSTM1	86,8*	$0,17 \pm 0,02$	100	$0,26 \pm 0,04$
Хворі на ТБ легень (n = 25), del GSTT1	100	$0,24 \pm 0,03$	100	$0,32 \pm 0,03$
Хворі на ВДТБ легень (n = 18), del GSTT1	100	$0,20 \pm 0,02$	100	$0,29 \pm 0,04$
Хворі на ХТБ легень (n = 7), del GSTT1	100	$0,30 \pm 0,09$	100	$0,37 \pm 0,07$
Контрольна (n = 36)	0	$0,015 \pm 0,010^{**}$	—	—

Примітка. * Різниця показників у хворих до лікування та через 3 міс після його початку ($p < 0,05$); ** різниця показників групи хворих на туберкульоз легень та групи контролю ($p < 0,05$).

У хворих із делецією гена GSTT1 виявили 100 % частоту порушення видільної функції нирок ще на етапі звернення до ООПТЛ.

Під час порівняння кількості хворих із загальним білком у сечі та високим рівнем мікроальбумінурії в групах, розподілених за генотипами на ідентичних етапах лікування, встановлено, що рівень низькомолекулярних білків значно перевищує внесок високомолекулярних майже в усіх групах, за винятком генотипу NAT2*2*4. Особливу роль у розвитку патологічного стану відіграють генотипи NAT2 гомозиготи, del GSTM1 і GSTT1. Наявність алелів NAT2*2*5 і NAT2*2*6 пов'язана зі значною

зміною показників ураження тканин нирок ПТП.

Висновки

У хворих на туберкульоз легень під час стандартної протитуберкульозної терапії виявлено значні порушення реабсорбційної та видільної функцій нирок.

Під впливом протитуберкульозних препаратів I та II рядів одним із провокаційних чинників розвитку патології видільної системи нирок може бути наявність генотипів NAT2 гетерозиготи, NAT2 гомозиготи, del GSTM1, del GSTT1 і алеля NAT2*2*5.

Список літератури

1. Гомеостаз / Под. ред. П.Д. Горизонтова.— М.: Медицина, 1976.— 96 с.
2. Данилова Л.А. Анализы крови и мочи: 4-е изд., исправ. и доп.— СПб: Салит-Медкнига, 2003.— 128 с.
3. Медведев В.В., Волчек Ю.З. Клиническая лабораторная диагностика: Справочник для врачей / Под ред. В.А. Яковлева.— СПб: Гиппократ, 2006.— 360 с.
4. Фещенко Ю.И., Черенько С.А., Мальцев В.И. и др. Оценка значимости побочных реакций противотуберкулезных пре-

паратив при лечении туберкулеза // Укр. мед. часопис.— 2008.— Т. 65, № 3.— С. 117—125.

5. Budha N.R., Lee R.E., Meibohm B. Biopharmaceutics, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antituberculosis Drugs // Curr. Med. Chem.— 2008.— Vol. 15, N 8.— P. 809—825.
6. Chuand S., Chu P., Sugimura J. et al. Overexpression of Glutathione S-Transferase α in Clear Cell Renal Cell Carcinoma // Am. J. Clin. Patol.— 2005.— Vol. 123, N 3.— P. 421—429.
7. Laborde E. Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death // Cell Deat and Differentiation.— 2010.— Vol. 17, N 9.— P. 1373—1380.

А.К. Асмолов, Я.В. Беседа

Состояние функции почек у больных туберкулезом легких по данным генотипов GSTM1, GSTT1 и NAT2

Цель работы — изучение связи между полиморфизмом генов детоксикации ксенобиотиков и функцией почек у больных легочным туберкулезом.

Материалы и методы. Обследовано 75 больных легочным туберкулезом, из них 56 больных имели впервые диагностированный туберкулез (ВДТБ) легких и 19 больных — хронический туберкулез (ХТБ) легких. Выделяли ДНК из лейкоцитов периферической крови больных легочным туберкулезом и из соскобов буккального эпителия 36 здоровых лиц (контрольная группа) и определяли полиморфизм GSTM1, GSTT1, NAT2 (2*4, 2*5, 2*6, 2*7).

Результаты и обсуждение. Через 3 мес после начала лечения у больных отмечается существенный рост содержания общего белка мочи сравнительно с предыдущими этапами обследования. На протяжении лечения показатель микроальбуминурии возрастает во всех группах больных по сравнению с началом лечения. Через 3 мес после начала лечения у больных ХТБ легких наблюдается значительно высший уровень микроальбуминурии, чем на предыдущих этапах обследования. Установлено, что уровень низкомолекулярных белков значительно превышает содержание высокомолекулярных почти во всех группах, за исключением генотипа NAT2*2*4. Особую роль в развитии патологического состояния играют генотипы NAT2 гомозиготы, del GSTM1 и GSTT1. Наличие аллелей NAT2*2*5 и NAT2*2*6 связано со значительным изменением показателей поражения тканей почек противотуберкулезными препаратами.

Выводы. У больных туберкулезом легких при стандартной противотуберкулезной терапии выявлены значительные нарушения реабсорбционной и выделительной функций почек.

Под влиянием противотуберкулезных препаратов I и II ряда одним из провокационных факторов развития патологии выделительной системы почек может быть наличие генотипов NAT2 гетерозиготы, NAT2 гомозиготы, del GSTM1, del GSTT1 и аллеля NAT2*2*5.

O.K. Asmolov, Ya.V. Beseda

Status of function of kidneys in patients with pulmonary tuberculosis according to genotypes GSTM1, GSTT1 and NAT2

Objective: to study relation between polymorphism of genes of detoxification of xenobiotics and function of kidneys in patients with pulmonary tuberculosis.

Materials and methods. The study included 75 patients with pulmonary tuberculosis, 56 of them had new-onset pulmonary tuberculosis and 19 patients had chronic pulmonary tuberculosis. DNA-extraction was carried out from the leucocytes of peripheral blood in patients with pulmonary tuberculosis and from scrapes of orap cavity epithelium in 36 healthy persons (control group) with further determining of polymorphism of GSTM1, GSTT1, NAT2 (2*4, 2*5, 2*6, 2*7).

Results and discussion. In 3 months after the initiation of treatment in patients essential growth of contained general fiber of urine compared with the previous stages of inspection is marked. The indicator microalbuminuria increases in all groups of the surveyed patients throughout the treatment in comparison with the beginning of treatment. In 3 months after the start of treatment patients with chronic tuberculosis presents the higheer level of microalbuminuria, than in the previous stages. The study showed that level of low-molecular fibers considerably exceeds amount of high-molecular fibers except for genotype NAT2*2*4 almost in all groups. Genotypes NAT2 of homozygote, del GSTM1 and GSTT1 play the special role in development of the pathological status. Presence of NAT2*2*5 and NAT2*2*6 alleles is connected with considerable changes in drug-induced kidney tissue impairment indicators.

Conclusions. Standard antituberculosis therapy of pulmonary tuberculosis is revealed to affect considerably kidney reabsorbtion and secretion functions.

Presence of genotypes NAT2 of heterozygote, NAT2 of homozygote, del GSTM1, del GSTT1 and NAT2*2*5 allele may be one of provocative factors of development of kidneys secretory system impairment against the background of treatment with I and II line antituberculosis drugs.

Контактна інформація:

Асмолов Олександр Костянтинович, д. мед. н., зав. кафедри фтизіопульмонології
65082, м. Одеса, Валіховський пров., 2
Тел. (048) 778-01-83
E-mail: kaftub@mail.ru

Стаття надійшла до редакції 25 вересня 2012 р.