

## Окислювальна модифікація білків у хворих з коморбідною патологією

Ю.О.Маніщенкова, О.А.Орлова, Л.В.Шкала

Луганський державний медичний університет (ректор — професор В.К.Івченко)  
Луганськ, Україна

У статті наведена інформація про вивчення оксидантного стресу у хворих із загостренням хронічного пієлонефриту, поєданого з цукровим діабетом 2 типу, шляхом визначення показників окислювальної модифікації білків. Проаналізовано вплив різних методів лікування на стан рівня антиоксидантного захисту організму. Доведено, що комплексне лікування хворих із загостренням хронічного пієлонефриту, супутнього з цукровим діабетом 2 типу, має більш виражений позитивний ефект, ніж традиційна терапія.

**Ключові слова:** поєднана патологія, цукровий діабет, хронічний пієлонефрит, окислювальна модифікація білків.

### Вступ

У даний час не викликає сумніву факт участі вільнорадикальних реакцій в ініціації і становленні патофізіологічних процесів, що лежать в основі розвитку багатьох захворювань. Дисбаланс між прооксидантними й антиоксидантними системами є основою розвитку оксидантного стресу, який супроводжується накопиченням в тканинах і біологічних рідинах активних форм кисню і вторинних продуктів окислювальної модифікації біомолекул, що відносяться до різних класів органічних сполук (білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти). Оксидантний стрес виявлений при багатьох природно-фізіологічних процесах (старіння, вагітність, фізичний і емоційний стрес), хворобах і патологічних синдромах, що останнім часом виділяються в групу вільнорадикально обумовлених патологій. У цю групу відносять різні злоякісні процеси, хронічне запалення, СНІД, цукровий діабет, неврологічну патологію, атеросклероз, ішемічну хворобу серця, наслідки інфаркту, інсульту та інші критичні термінальні стани, а також нейродегенеративні захворювання, такі як паркінсонізм, хвороба Альцгеймера та ін. [1, 2].

Загальновідомо, що будь-який патологічний процес протікає на тлі утворення активних форм кисню та інтенсифікації вільнорадикального окислення біосубстратів [3]. У літературі накопичені численні дані, що стосуються вивчення механізмів перекисного окислення

ліпідів і його ролі в нормальному й патологічному функціонуванні клітин. Однак крім головного субстрату окислення — молекул біомембран та ядерного хроматину — активні форми кисню викликають й окислювальну модифікацію білків. Вважають, що в стані оксидантного стресу атаці вільних радикалів впершу чергу піддаються не ліпіди, а білки плазматичних мембран [4]. Підтвердженням первинності перекисного окислення білка є наявність виражених змін при оксидантному стресі в області анулярних ліпідів, що говорить про провідну роль окислювальної модифікації білків у деструкції клітинної мембрани [5]. Розроблені методи оцінки спонтанного окислення білка, що характеризує окисний потенціал організму, і стимульованого, котре характеризує ступінь резервно-адаптаційних можливостей організму [6, 7].

Таким чином, окисна модифікація білків відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидантного стресу, а оксидантний стрес є важливою ланкою багатьох патологічних процесів в організмі при різноманітних захворюваннях і потребує подальшого вивчення.

Метою даної роботи є оцінка ступеня оксидантного стресу за допомогою окислювальної модифікації білків у хворих із загостренням хронічного пієлонефриту (ХП) на фоні цукрового діабету (ЦД) 2 типу під впливом комбінованої терапії, що включає препарати канефрон Н та тіотріазолін.

## Матеріали та методи дослідження

Під клінічним спостереженням знаходилось 88 хворих із загостренням ХП на фоні ЦД 2 типу віком від 43 до 80 років. Середній вік хворих склав  $65,4 \pm 2,3$  року. Більшість пацієнтів були жінки — 79,5%, чоловіки — 20,5%. Спостереження хворих літнього віку пояснюється загальною тенденцією переважання ЦД 2 типу в популяції. У 20,5% хворих ЦД 2 типу був виявлений уперше, у 39,8% давність захворювання складала 1-5 років, у 13,6% — 5-10 років, у 26,1% — більш ніж 10 років. ХП 60,2% хворих мали в анамнезі протягом 1-5 років, 20,5% — 5-10 років, та 19,3% хворих мали скарги, але ніколи не зверталися за спеціалізованою допомогою. Спостереження і лікування проводилось в умовах ендокринологічного стаціонару багатопрофільної лікарні №5 м. Луганська.

На основі даних анамнезу, клінічних проявів, лабораторних та інструментальних методів дослідження встановлювали діагноз. Усім пацієнтам виконували загальноклінічні та біохімічні обстеження. Анатомо-функціональний стан нирок досліджували за допомогою ультразвукового методу.

Для дослідження прооксидантного стану, викликаного запальним процесом у нирках, додатково проводили вивчення окислювальної модифікації білків за методом Левина в модифікації Дубініної [8]. В обстежених хворих кров брали вранці натще. Як антикоагулянт використовували розчин гепарину. У сироватці крові визначали ступінь спонтанного і металкаталізованого окислення (МКО) білків. Метод оцінки окислювальної модифікації білків заснований на реакції взаємодії окислених амінокислотних залишків з 2,4-днітрофенілгідразинном з утворенням 2,4-днітрофенілгідразонів. Для реєстрації окислювальної модифікації білків проводили заздалегідь їх осадження за допомогою 20% розчину трихлоруксусної кислоти. Оптичну щільність днітрофенілгідразонів, що утворилися, реєстрували на спектрофотометрі UNICO 2800 при довжинах хвиль 274 нм і 363 нм. Ступінь окислювальної модифікації білків

виражали в одиницях оптичної щільності.

Контрольну групу склали донори станції переливання крові без ознак запальних захворювань сечостатевої системи.

Аналіз отриманих результатів проведений шляхом математичної обробки з використанням стандартного пакета програм з визначенням критерію Стюдента.

Для оцінки впливу комбінованої терапії пацієнти були розподілені на дві групи. 1 група (43 пацієнти) отримували лише базову терапію, що складалася з антибіотика Ломадей 1 табл. (0,4 г) 1 раз на добу протягом 10 діб чи Лораксон або Емцеф 1,0 внутрішньом'язово 2 рази на добу протягом 10 діб у залежності від ступеня змін сечового синдрому, а також цукрознижувальної терапії. 2 група (45 пацієнтів) отримувала базову антибіотикотерапію, цукрознижувальну терапію, а також комбінацію канефрону Н по 50 крапель або по 2 драже 3 рази на добу внутрішньо незалежно від прийому їжі та тіотріазоліну 2,5% розчину по 2,0 мл внутрішньом'язово 1 раз на добу щоденно протягом 2 тижнів.

## Результати дослідження та їх обговорення

На процесі пероксидації білків вказує накопичення в досліджуваному матеріалі (сироватка) продуктів білкової деструкції у вигляді альдегідпохідних (АДФГ) і кетопохідних днітрофенілгідразонів (КДФГ), що є маркерами окислювальної модифікації білків.

При визначенні окислювальної модифікації білків використовують два показники: спонтанна та індукована (металкаталізована). Перший показник характеризує конститутивну активність окислювальної модифікації білків, другий вказує на кількість субстрату для окиснення і можливість його залучення в ці процеси. Його можна розглядати як показник стійкості системи до переокислення.

Аналіз вмісту продуктів спонтанної окислювальної модифікації білків у сироватці хворих обох груп до лікування показав значне підвищення рівня похідних днітрофенілгідразонів, вірогідно перевищуючий такий рівень у групі

Таблиця 1

### Спонтанна окислювальна модифікація білків сироватки крові у хворих (Е)

	До лікування		Після лікування	
	АДФГ	КДФГ	АДФГ	КДФГ
Контроль	$0,224 \pm 0,002$	$2,174 \pm 0,006$	-	-
1 група	$0,266 \pm 0,003$	$2,574 \pm 0,025$	$0,251 \pm 0,003^*$	$2,469 \pm 0,026^*$
2 група	$0,276 \pm 0,002$	$2,632 \pm 0,026$	$0,256 \pm 0,002^*$	$2,452 \pm 0,030^*$

Примітка: \* — достовірність результатів щодо групи контролю ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 2

## Металкаталізована окислювальна модифікація білків сироватки крові у хворих (Е)

	До лікування		Після лікування	
	АДФГ	КДФГ	АДФГ	КДФГ
Контроль	0,218±0,001	2,167±0,008	-	-
1 група	0,264±0,003	2,512±0,028	0,254±0,003*	2,443±0,038*
2 група	0,265±0,002	2,579±0,028	0,238±0,003*	2,220±0,055*

Примітка: \* — достовірність результатів, щодо групи контролю ( $p < 0,05$ ).

контролю (табл. 1). А саме 1 група мала підвищення АДФГ на 15,8%, КДФГ — на 15,5%, 2 група — на 18,8% та 17,4% відповідно.

Після лікування спостерігалось зниження рівня спонтанного окислення білків як у 1, так і в 2 групі, проте показники 1 групи змінювались менше, ніж 2 групи. Так, показники АДФГ 1 групи стали нижчими на 5,64%, а другої групи — на 7,25%. Значення КДФГ 1 групи зменшились на 4,08%, 2 групи — на 6,84%. Під впливом лікування спостерігалось вірогідно зниження рівня АДФГ та КДФГ, що пов'язано з більш ефективним функціонуванням системи антиоксидантного захисту. Спонтанне окислення білків у сироватці пацієнтів із загостренням ХП на тлі ЦД 2 типу супроводжується збільшенням вмісту КДФГ, що є пізнім маркером окислювальної модифікації білків і характеризує подальше окислення білків. Також спостерігалось підвищення АДФГ, що утворилися на стадії ініціації вільнорадикального окислення.

При оцінці металкаталізованої окислювальної модифікації білків було встановлено досить істотне збільшення ступеня деструкції білків. У порівнянні з групою контролю 1 група мала збільшення АДФГ на 17,4%, КДФГ — на 13,7%, 2 група — на 17,7% та 16% відповідно (табл. 2).

Після лікування рівень динітрофенілгідрозонів у сироватці крові пацієнтів знижувався. У 1 групі вміст АДФГ знизився на 3,8%, КДФГ — на 2,75%. У 2 групі АДФГ знизився на 10,2%, КДФГ — на 13,9%. Після лікування в 1 групі показники АДФГ перевищували контроль на 14,2%, КДФГ — на 11,3%, а в 2 групі — на 8,4% та 2,4% відповідно. При порівнянні показників спонтанної та металкаталізованої окислювальної модифікації білків рівень продуктів МКО

в 2 групі після лікування був нижчим, ніж в 1 групі.

Отримані дані свідчать про більш виразний позитивний ефект лікування пацієнтів 2 групи, де була застосована комплексна терапія, що включає комбінацію канефрону Н та тіотріазоліну. При оцінці металкаталізованої окислювальної модифікації білків сироватки крові було встановлено істотне збільшення ступеня деструкції білків (підвищення як АДФГ, так і КДФГ), що вказує на кількість субстрату для окислювальної модифікації білків і можливість його залучення в ці процеси.

## Висновки

1. У сироватці крові хворих із загостренням хронічного пієлонефриту на тлі цукрового діабету 2 типу має місце різке підвищення процесів окислювальної модифікації білків: спонтанного (кетопохідні динітрофенілгідрозонів) та індукованого. Це може бути пов'язано як зі збільшенням рівня активних форм кисню, що надходять у сироватку з нирок, еритроцитів, гіперглікемією, так і зі зниженням активності антиоксидантної системи організму.

2. Лікування хворих викликало гальмування процесів окислювальної модифікації білків сироватки крові, особливо для індукованого процесу, що вказує на підвищення стійкості білків до переокислення та стійкості організму до стресових факторів, а додаткове використання канефрону Н та тіотріазоліну більш істотно впливає на цей процес.

У подальших дослідженнях буде вивчатися вплив запропонованої терапії на стан антиоксидантної системи організму з метою оптимізації лікування загострень хронічного пієлонефриту, поєднаного із цукровим діабетом 2 типу.

## Література

1. Балоболкин М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета (лекция) / М.И.Балоболкин, Е.М.Клебанова // Проблемы эндокринологии. — 2000. — Т.46, №6. — С. 29-34.
2. Голиков А.П. Свободнорадикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антиоксидантами / А.П.Голиков, С.А.Бойцов, В.П.Михин, В.Ю.Полумисков // Лечащий врач. — 2003. — №4. — С. 70-74.
3. Ланкин В.З. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях / В.З.Ланкин, А.К.Тихазе, Ю.Н. Беленков. — М., 2001. — 78 с.

## ОРИГІНАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

4. Dehydroepiandrosterone and structural analogs: a new class of cancer chemopreventive agents / A.G.Schwartz, J.M.Whitcomb, J.W.Nyce [et al.] // Adv. Cancer Res. — 1999. — Vol. 51. — P. 391-424.
5. Церебропротекторные эффекты антиоксидантов при нейроиммуноэндокринных нарушениях, обусловленных токсическим действием кислородных радикалов / В.В.Дунаев, Ю.И.Губский, И.Ф.Беленичев и др. // Совр. пробл. токсикол. — 2004. — №1. — С. 7-13.
6. Effect of recombinant human growth hormone on the muscle strenght response to resistance exercise in elderly men / D.R.Taffe, I.Pruitt, J.Reim [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1974. — Vol. 79. — P. 1361-1366.
7. Inhibition of spontaneouss leukemis inF-344 rats by tetramethylthiuram disulfide (Thiram) / M.Takahashi, T.Kokubo, F.Furukawa [et al.] // Gann. — 1983. — Vol. 74. — P. 810-813.
8. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е.Дубинина, С.О.Бурмистров, Д.А.Ходов, Г.Е.Поротов // Вопросы медицинской химии. — 1995. — Т.41, №1. — С. 24-26.

**Ю.А.Манищенкова, Е.А.Орлова, Л.В.Шкала. Окислительная модификация белков у больных с коморбидной патологией. Луганск, Украина.**

**Ключевые слова:** сочетанная патология, хронический пиелонефрит, сахарный диабет, окислительная модификация белков.

В статье изложена информация об изучении оксидантного стресса у больных с обострением хронического пиелонефрита на фоне сахарного диабета 2 типа методом определения показателей окислительной модификации белков. Проанализировано влияние разных методов лечения на состояние уровня антиоксидантной защиты организма. Доказано, что комплексное лечение больных с обострением хронического пиелонефрита в сочетании с сахарным диабетом 2 типа имеет более выраженный положительный эффект, чем традиционная терапия.

**Yu.A.Manischenkova, E.A.Orlova, L.V.Shkala. Oxidative modification of proteins in patients with comorbid disorders. Lugansk, Ukraine.**

**Key words:** combined pathology, chronic pyelonephritis, diabetes mellitus, oxidative modification of proteins.

The article provides information of the study of oxidative stress in patients with exacerbation of chronic pyelonephritis combined with type 2 diabetes mellitus by the method of determining rates of oxidative modification of proteins. The influence of different treatments on the state level of antioxidant protection of the organism was analyzed. It was proved that the complex treatment of the patients with exacerbation of chronic pyelonephritis associated with type 2 diabetes mellitus has a more pronounced positive effect than conventional therapy.

Надійшла до редакції 14.12.2009 р.