

УДК 616.248+613.95+616.092

ЛИТВИНЕЦЬ Л.Я.

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

ОКИСЛЮВАЛЬНИЙ СТРЕС ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ У ДІТЕЙ ІЗ РІЗНИМ СТУПЕНЕМ КОНТРОЛЮ ЗА БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ

Резюме. В статті викладено результати дослідження показників окисної модифікації білків (ОМБ) та активності антиоксидантних ферментів у дітей із бронхіальною астмою (БА) залежно від ступеня контрольованості захворювання. Обстежено 107 дітей віком від 10 до 18 років, хворих на БА в стадії загострення. Встановлено, що у дітей із низьким ступенем контролю має місце прооксидантна активація, що проявляється вірогідним підвищенням рівня окислювально-модифікованих білків. Так, показник ОМБ-356, становивши $0,293 \pm 0,006$ ум.од., був вірогідно вищим у дітей із неконтрольованою бронхіальною астмою (НКБА) порівняно з пацієнтами інших груп ($p < 0,05$). Максимальне значення показника ОМБ-370 зареєстроване в групі пацієнтів із НКБА. Цей показник вірогідно перевищував аналогічні в обстежених із вищим рівнем контролю за захворюванням ($p < 0,05$). Іншу тенденцію відмічали щодо показників вмісту ОМБ-430. Так, вірогідне підвищення його рівня мало місце тільки у дітей із НКБА ($p_N < 0,05$). Вміст ОМБ-530 у дітей із НКБА практично не відрізнявся від показника групи контролю, а у дітей із частково контрольованою та контрольованою бронхіальною астмою відмічалось вірогідне зниження показників порівняно зі здоровими ($p_N < 0,05$). Водночас у цих пацієнтів послаблюється антиоксидантний захист, про що свідчить значне зниження активності ферментів супероксиддисмутазу і особливо каталази.

Ключові слова: оксидантно-антиоксидантна система, бронхіальна астма, діти.

Важливу роль у патогенезі переважної більшості захворювань респіраторного тракту, в тому числі бронхіальної астми (БА), відіграє окислювальний стрес (ОС), основною причиною якого є дисбаланс у системі «оксиданти-антиоксиданти», що виражається надмірним утворенням активних форм кисню (АФК) і ослабленням ефективності антиоксидантного захисту (АОЗ) [1, 2, 4, 6, 7]. Така особливість респіраторної патології зумовлена тим, що респіраторний тракт (РТ) піддається постійному безпосередньому впливу екзогенних оксидантів, які знаходяться у повітрі (ксенобіотиків); ненасичені жирні кислоти легеневої тканини служать субстратом для реакції перекисного окислення ліпідів (ПОЛ); полутанти та мікроорганізми викликають активацію фагоцитів, які продукують при цьому значну кількість АФК.

Доведено, що основна частина АОЗ легень сконцентрована в рідині, що вистилає епітелій РТ. Порушення функціонування АОЗ призводить до утворення великої кількості АФК. Маючи високу реакційну здатність, АФК можуть оборотно пошкоджувати біологічно важливі молекули, ви-

кликаючи запалення внаслідок активації акумульованих у нижніх відділах РТ фагоцитів, і, як наслідок, — виникає оксидативний стрес.

Сьогодні доведено, що в стані окислювального стресу під впливом АФК перекисному окисленню підлягають не тільки ліпіди, але й білки плазматичних мембран [1, 4, 6, 13]. Вважається, що негативний ефект окислювально-модифікованих білків у клітинах пов'язаний із тим, що окислені білки є джерелом вільних радикалів, які виснажують запаси клітинних антиоксидантів. Продукти вільнорадикального окислення білків призводять до окислювального ураження ДНК. При цьому перекисне окислення білків (ПОБ) є не тільки пусковим механізмом патологічних процесів при стресі, але й найбільш раннім маркером окислювального стресу. Динаміка змін продуктів ПОБ є відображенням ступеня окислювального ураження клітин та резервно-адаптаційних можливостей організму.

© Литвинець Л.Я., 2013

© «Здоров'я дитини», 2013

© Заславський О.Ю., 2013

Вважається, що рівень показників окисної модифікації білків (ОМБ) порівняно з рівнем ПОЛ є інформативнішим маркером наявності окисного стресу в організмі [2, 3, 7].

Механізми вільнорадикального окислення макромолекул у перебігу БА залишаються маловивченими і до кінця не розкритими. Нині наявні лише поодинокі публікації про стан процесів пероксидації білків при БА у дітей, що і зумовило вибір напрямку дослідження.

Мета роботи: вивчити стан прооксидантної системи та системи антиоксидантного захисту у дітей із різним ступенем контролю за БА.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 107 дітей віком від 10 до 18 років, хворих на БА в стадії загострення, які перебували на стаціонарному лікуванні в ОДКЛ м. Івано-Франківська. Діагноз БА встановлювали згідно з «Протоколом діагностики і лікування БА у дітей» (Наказ МОЗ України № 767 від 27.12.2005 р.). За результатами застосування астма-тест-контролю (GINA, 2011) щодо рівня контрольованості БА діти були розподілені так: 34 (31,8 %) — із контрольованою (КБА), 47 (43,9 %) — із частково контрольованою (ЧКБА) та 26 (24,3 %) — із неконтрольованою бронхіальною астмою (НКБА). Контрольну групу становили 10 практично здорових дітей аналогічного віку.

Усі пацієнти обстежувались після отримання інформаційної згоди від дитини та її батьків відповідно до вимог GCP ІНС.

Для вивчення стану ПОБ досліджували показники ОМБ за методикою Е.Е. Дубініної і співавт. Оптичну густину реєстрували на спектрофотометрі при довжині хвилі 356 і 370 нм (кетоніоподібні нейтрального характеру) та 430 і 530 нм (альдегідіоподібні основного характеру). Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом С. Чеварі та співавт. Кількісне визначення каталази у сироватці крові здійснювали за методикою А.Н. Баха і С.В. Зубкової.

Одержані результати аналізували за допомогою комп'ютерних пакетів ліцензійної програми Statistica StatSoft Inc. та Excel XP для Windows з використанням параметричних та непараметричних методів обчислення.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз результатів визначення у сироватці крові хворих на БА вмісту продуктів ПОБ свідчить на користь наявності у них оксидативного стресу, ступінь вираженості якого певною мірою детермінований рівнем контролю за БА (табл. 1).

Так, вміст ОМБ-356 в обстежених усіх груп із БА вірогідно перевищував рівень аналогічного показника у здорових ($p_N < 0,05$). При цьому показник ОМБ-356, становивши $0,293 \pm 0,006$ ум.од., був вірогідно вищим у дітей із НКБА порівняно з пацієнтами інших груп ($p < 0,05$).

Дослідження вмісту ОМБ-370 у сироватці крові дітей із різним ступенем контролю за БА дозволило встановити, що в усіх групах мало місце збільшення його рівня порівняно зі здоровими, причому у дітей із КБА та НКБА ця відмінність була вірогідною ($p_N < 0,05$). Відтак максимальне значення показника ОМБ-370 зареєстровано в групі пацієнтів із НКБА. Цей показник вірогідно перевищував аналогічні в обстежених із вищим рівнем контролю за захворюванням ($p < 0,05$).

Дещо іншу тенденцією відмічали щодо показників вмісту ОМБ-430. Так, вірогідне підвищення його рівня мало місце тільки у дітей із НКБА ($p_N < 0,05$). В інших групах обстежених із БА показники ОМБ-430 були наближеними до таких у здорових.

Щодо вмісту ОМБ-530, то його рівень у дітей із НКБА практично не відрізнявся від показника групи контролю, а в дітей із ЧКБА та КБА відмічалось вірогідне зниження показників порівняно зі здоровими ($p_N < 0,05$).

Таким чином, аналіз показників стану ПОБ у дітей із БА засвідчив його значну активацію. Втім якісно односпрямовані зміни були кількісно нерівнозначними. Аналіз залежності рівня показників ОМБ від ступеня тяжкості БА показав, що нижчий ступінь контролю за недугою призводить до більш вираженої зміни стану біологічних мембран, що індукує виснаження захисних механізмів.

Дослідження вмісту ферментативних антиоксидантів у дітей із різним ступенем контролю за БА показало, що у хворих із НКБА та ЧКБА антиоксидантний захист характеризувався вірогідним зменшенням активності каталази та СОД ($p_N < 0,05$), що свідчить про досягнення функціонального виснаження ферментативного ланцюга АОЗ у цієї категорії пацієнтів. При цьому в обстежених із КБА показники АОЗ були наближеними до таких у групі здорових (табл. 2).

Таким чином, отримані результати демонструють системну активацію процесів ПОБ у дітей із БА, що може бути наслідком тривалого запального процесу. Посилення процесів ПОБ супроводжується ослабленням АОЗ, що проявляється зниженням активності СОД, який каталізує дисмутацію супероксидних аніон-радикалів та антиоксидантного бар'єра першої лінії захисту — каталази — засвідчує значне послаблення захисту респіраторного тракту при БА від накопичення активних форм кисню.

На ранніх етапах перебігу БА при високому ступені контролю за захворюванням інтенсифікація продуктів ПОБ є незначною. В міру прогресування БА активація ПОБ стає більш вагомою, що частково можна пояснити послабленням функціонування антиоксидантних механізмів.

Активізація оксидативних механізмів у дітей із БА може стимулювати розвиток бронхо- та вазоконстрикції. Поряд із прямою токсичністю (деградація ДНК, запуск ланцюгової реакції ПОЛ)

Таблиця 1. Стан перекисного окиснення білків у здорових та дітей із різним ступенем контролю за БА (M ± m)

Показник	НКБА ¹ (n = 26)	ЧКБА ² (n = 47)	КБА ³ (n = 34)	Здорові ⁴ (n = 10)
ОМБ-356, ум.од.	0,293 ± 0,006	0,281 ± 0,002 P ₁₋₂ < 0,001	0,261 ± 0,010 P ₂₋₃ < 0,001	0,212 ± 0,011 p ₁₋₄ < 0,001 P ₂₋₄ < 0,05 P ₃₋₄ < 0,05
ОМБ-370, ум.од.	0,374 ± 0,005	0,283 ± 0,004 P ₁₋₂ < 0,001	0,330 ± 0,009 p ₁₋₃ < 0,05 P ₂₋₃ < 0,001	0,262 ± 0,010 P ₁₋₄ < 0,001 P ₃₋₄ < 0,001
ОМБ-430, ум.од.	0,181 ± 0,004	0,150 ± 0,002 p ₁₋₂ < 0,001	0,158 ± 0,007 P ₁₋₃ < 0,001	0,143 ± 0,006 P ₁₋₄ < 0,001
ОМБ-530, ум.од.	0,051 ± 0,001	0,038 ± 0,003 P ₁₋₂ < 0,001	0,043 ± 0,002 p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001	0,050 ± 0,004 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,02

Примітка: тут і в табл. 2: p — вірогідність різниці показників щодо величин у пацієнтів із НКБА (1), ЧКБА (2), КБА (3) та здорових (4).

Таблиця 2. Показники активності каталази та супероксиддисмути у здорових та дітей із різним ступенем контролю за БА

Показник	НКБА ¹ (n = 26)	ЧКБА ² (n = 47)	КБА ³ (n = 34)	Здорові ⁴ (n = 10)
СОД, МО/мг	39,88 ± 2,14	40,63 ± 1,36	47,63 ± 2,30 p ₁₋₃ < 0,05	49,05 ± 2,51 P ₁₋₄ < 0,001 P ₂₋₄ > 0,05
Каталаза, ум.од.	4,57 ± 0,23	4,80 ± 0,27	5,30 ± 0,30 p ₁₋₃ < 0,001	6,61 ± 0,28 P ₁₋₄ < 0,05 P ₂₋₄ < 0,05

оксиданти опосередковано впливають на велику кількість інших негативних процесів в організмі: пошкоджують фібробласти, знижують активність сурфактанта, стимулюють утворення тромбоксану, підвищують проникність епітелію й ендотелію, сприяють підсиленню секреції слизу, призводять до активації тучних клітин, погіршення функції β-адренорецепторів та ін. Викликане окисним пошкодженням інгібування активності мембранних ферментів поглиблюється змінами фізико-хімічних властивостей ліпідного біошару. Такий механізм лежить в основі процесів оксидантного стресу і є однією із ключових ланок патогенезу БА [2, 10, 13].

Висновки

1. У дітей із КБА має місце розвиток оксидативного стресу, що проявляється вірогідним збільшенням та накопиченням вмісту продуктів ПОБ на тлі зростання напруженості адаптаційних механізмів контактної-захисної системи АОЗ.

2. БА у дітей характеризується гетерогенністю механізмів пероксидації та ферментативного забезпечення прооксидантної системи, що визначається тяжкістю перебігу недуги і може скласти патогенетичну основу прогнозування тяжкості БА у дітей.

Перспективи подальших досліджень

Подальше вивчення показників ПОБ та АОЗ при БА у дітей із різним ступенем контролю може

бути використано в системі клінічної діагностики, прогнозування та індивідуалізованої корекції цих порушень у хворих на БА дітей.

Список літератури

1. Годованець О.І. Стан прооксидантної системи та систем антиоксидантного захисту ротової рідини у дітей із клінічними проявами гінгівіту за умов надмірного надходження в організм нітратів / О.І. Годованець, М.М. Рожко, А.М. Ерстенюк // Буківинський медичний вісник. — 2007. — Т. 11, № 2. — С. 31-33.
2. Динамика показателів окислювального стресу у больных, переносящих обострение бронхиальной астмы на фоне ингаляционной терапии липосомальными препаратами / А.В. Лисица, С.К. Соодаева, И.А. Климанов, А.Г. Чучалин // Пульмонология. — 2010. — № 1. — С. 74-79.
3. Карімов І.З. Окисна модифікація білків і перекисне окиснення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології / І.З. Карімов // Лабораторна діагностика. — 2005. — № 1(31). — С. 7-13.
4. Мельничук А.С. Показники окисної модифікації білків та антиоксидантного захисту у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит з частковою втратою зубів / А.С. Мельничук, М.М. Рожко, Г.М. Ерстенюк // Новини стоматології. — 2012. — № 4. — С. 96-98.
5. Соодаева С.К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания / С.К. Соодаева // Пульмонология. — 2006. — № 5. — С. 122-126.
6. Стан активності перекисного окислення білків у дітей, хворих на цукровий діабет, у динаміці захворювання / Г.О. Леженко, О.Є. Пашкова, О.М. Чакмазова, А.В. Каменчик // Здоровье ребенка. — 2008. — № 6(15). — С. 46-49.
7. Dietary antioxidants and magnesium in type 1 brittle asthma: a case control study / J.C. Baker, W.S. Tunnicliffe, R.S. Duncanson, J.C. Ayres // Thorax. — 2006. — Vol. 281(22). — P. 115-118.
8. Disorders of mineral metabolism / F.R. Bringham [et al.] // Williams Textbook of Endocrinology. — St. Louise, No: WB Saunders, 2008. — Vol. 11. — P. 27.

9. Elsas L.J. *Approach to inborn errors of metabolism* / L.J. Elsas, L. Gladman, D. Ausiello // *Cecil Medicine*. — Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2008. — P. 216.

10. *Global initiative for asthma / Pocket guide for asthma management and prevention*. — 2009. — 30 p.

11. Garcia-Aymerich J. *Phenotypic heterogeneity of chronic obstructive pulmonary disease*. / J. Garcia-Aymerich, A. Agusti, J.A. Barbera et al. // *Arch. Bronconeumol*. — 2009. — Vol. 45. — S. 93. — P. 133-142.

12. Just J. *Air pollution and asthma in children* / J. Just, L. Nisakovic, Y. Laoudi, A. Grimfeld // *Arch Pediatr*. — 2006. — Vol. 7. — P. 1055-1060.

13. *Preterm resuscitation with low oxygen causes less oxidative stress, inflammation and chronic lung disease* / M. Vento, M. Moro, R. Escring [et al.] // *Pediatrics*. — 2009. — Vol. 124. — P. 439-449.

14. Rink L. *Zinc-altered immune function and cytokine production* / L. Rink, H. Kirchner // *J. Nutr*. 2008. — Vol. 130. — P. 1407-1411.

15. Williams K.J., Fisher E.A. *Oxidation, lipoproteins and atherosclerosis* // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Care*. — 2005. — Vol. 8. — P. 139-147.

Отримано 20.10.13 □

Литвинец Л.Я.

ГВУЗ «Івано-Франківський національний медичинський університет»

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА У ДЕТЕЙ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ КОНТРОЛЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Резюме. В статье приведены результаты исследования показателей окислительной модификации белков (ОМБ) и активности антиоксидантных ферментов у детей с бронхиальной астмой (БА) в зависимости от степени контроля заболевания. Обследованы 107 детей в возрасте от 10 до 18 лет, больных БА в стадии обострения. Установлено, что у детей с низкой степенью контроля имеет место прооксидантная активация, проявляющаяся достоверным повышением уровня окислительно-модифицированных белков. Так, показатель ОМБ-356, составив $0,293 \pm 0,006$ усл.ед., был достоверно выше у детей с неконтролируемой бронхиальной астмой (НКБА) по сравнению с пациентами других групп ($p < 0,05$). Максимальное значение показателя ОМБ-370 зарегистрировано в группе пациентов с НКБА. Этот показатель достоверно превышал аналогичные у обследованных с более высоким уровнем контроля заболевания ($p < 0,05$). Другую тенденцию наблюдали относительно показателей состава ОМБ-430. Так, достоверное повышение его уровня имело место только у детей с НКБА ($p_N < 0,05$). Содержание ОМБ-530 у детей с НКБА практически не отличалось от показателя группы контроля, а у детей с частично контролируемой и контролируемой бронхиальной астмой отмечали достоверное снижение показателей по сравнению со здоровыми ($p_N < 0,05$). В то же время у этих пациентов слабеет антиоксидантная защита, о чем свидетельствует значительное снижение активности ферментов супероксиддисмутазы и особенно каталазы.

Ключевые слова: оксидантно-антиоксидантная система, бронхиальная астма, дети.

Lytvynets L.Ya.

State Higher Educational Institution «Ivano-Frankivsk National Medical University», Ivano-Frankivsk, Ukraine

OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN CHILDREN WITH VARYING DEGREES OF BRONCHIAL ASTHMA CONTROL

Summary. The article presents the results of researches of indicators of oxidative modification of proteins (OMP) and antioxidant enzymes activity in children with bronchial asthma (BA), depending on the degree of disease control. The study involved 107 children aged from 10 to 18 years, who suffered from BA in the exacerbation phase. We found that children with a low degree of control have a prooxidant activation, manifested by a significant increase of the level of oxidation-modified proteins. Thus, index of OMP-356 0.293 ± 0.006 c.u. was significantly higher in children with uncontrolled bronchial asthma (UCBA) compared with patients from other groups ($p < 0.05$). The maximum value of the OMP-370 was registered in the group of patients with UCBA. This parameter was significantly higher than thereof in the patients with the highest level of disease ($p < 0.05$). Another trend was observed in terms of indicators of OMP-430 content. Thus, significant increase in its level occurred only in children with UCBA ($p_N < 0.05$). Content of OMP-530 in children with UCBA have much in common with the rate of the control group, and in children of partially controlled and controlled bronchial asthma we noted probable decline of indices compared with healthy persons ($p_N < 0.05$). At the same time, in these patients the antioxidant protection was diminished, confirming a significant reduction in activity of superoxide dismutase enzymes and especially catalase.

Key words: oxidant-antioxidant system, bronchial asthma, children.