

Можливості корекції порушень систем перекисного окиснення білків та антиоксидантного захисту у пацієнтів із сечокам'яною хворобою

Є.А. Литвинець, Н.Т. Скоропад

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

Сечокам'яна хвороба (СКХ) – одне з найбільш поширених урологічних захворювань, яке виявляють не менше, ніж у 2–5% населення, причому найчастіше у віці 20–50 років.

Мета дослідження: проаналізувати стан прооксидантної системи та системи антиоксидантного захисту у пацієнтів із СКХ та вивчити антиоксидантну активність фітопрепарату, зокрема при кальцій-оксалатному нефролітіазі.

Матеріали та методи. Обстежено та проліковано 56 пацієнтів, які були розподілені на дві групи: 1-а група (n=36) – хворі на СКХ віком від 18 до 65 років; 2-а група (контрольна, n=20) – здорові особи аналогічного віку. Пацієнтам із СКХ (1-а група) у комплекс лікування був включений фітопрепарат, який призначали по 45 мл 3 рази на добу протягом 1 міс. Для вивчення стану перекисного окиснення білків досліджували показники окисної модифікації білків (ОМБ) за методикою Е.Е. Дубініної та співавторів. Активність супероксиддисмутази визначали за методом С. Чеварі та співавторів. Кількісне визначення каталази у сироватці крові здійснювали за методикою А.Н. Баха і С.В. Зубкової.

Результати. Встановлено, що у пацієнтів із СКХ наявна прооксидантна активація, що проявляється достовірним підвищенням рівня окислювально-модифікованих білків. Водночас, у всіх пацієнтів послаблявся антиоксидантний захист, про що засвідчує значне зниження активності ферментів супероксиддисмутази і, особливо, каталази. Після проведеного лікування спостерігається тенденція до суттєвого зниження показників ОМБ у хворих порівняно з початковим рівнем, що свідчить про антиоксидантні властивості фітопрепарату. Також застосування фітопрепарату сприяло покращенню функціональної здатності антиоксидантної системи.

Заключення. У хворих на кальцій-оксалатний нефролітіаз спостерігають розвиток оксидативного стресу, який проявляється достовірним збільшенням та накопиченням вмісту продуктів перекисного окиснення білків на тлі зростання напруженості адаптаційних механізмів системи антиоксидантного захисту. Використання комплексної терапії із включенням фітопрепарату дозволяє коригувати метаболічні розлади, що проявляється відновленням антиоксидантної активності сироватки крові, зниженням продуктів окисної модифікації білків.

Ключові слова: оксидантно-антиоксидантна система, сечокам'яна хвороба, лікування.

Сечокам'яна хвороба (СКХ) – поліетіологічне захворювання, яке стабільно посідає друге місце в структурі причин смертності від урологічної патології [1, 3, 7]. Про неї відомо багато, але досі не з'ясовані всі причин утворення каменів. Дотепер відбуваються дискусії щодо проблеми етіології, патогенезу та профілактики як самого захворювання, так і його рецидивів. Це одне з найбільш поши-

рених урологічних захворювань і зустрічається не менше, ніж у 2–5% населення, причому найчастіше у віці 20–50 років. За даними літератури, в індустріально розвинених країнах щорічно виявляють 1500–2000 випадків первинного каменеутворення на 1 млн населення [3, 6, 10]. Поширеність СКХ в Україні посідає друге місце після інфекцій сечових шляхів серед усіх урологічних захворювань і має тенденцію до зростання [1, 2]. Кількість хворих на СКХ становить 30–45% всього контингенту урологічних стаціонарів.

Загальновідомо, що будь-який патологічний процес перебігає на фоні утворення активних форм кисню (АФК) та інтенсифікації вільнорадикального окиснення біосубстратів. Так, важливу роль у патогенезі переважної більшості захворювань сечовидільної системи, у тому числі й СКХ, відіграє окисний стрес (ОС), основною причиною якого є дисбаланс у системі оксиданти–антиоксиданти, що виражається надмірним утворенням АФК і ослабленням ефективності антиоксидантного захисту (АОЗ) [2, 4, 5, 11]. Така особливість низки урологічних нозологій зумовлена тим, що нерки піддаються постійному безпосередньому впливу екзогенних оксидантів (ксенобіотиків), які знаходяться в навколишньому середовищі та потрапляють різними шляхами; ненасичені жирні кислоти служать субстратом для реакції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ); мікроорганізми викликають активацію фагоцитів, які продукують при цьому значну кількість АФК.

Порушення функціонування АОЗ призводить до утворення великої кількості АФК. Володіючи високою реакційною здатністю, АФК можуть незворотно пошкоджувати біологічно важливі молекули, викликаючи запалення внаслідок активації акумульованих у нерках фагоцитів, у результаті чого виникає оксидативний стрес.

На сьогодні доведено, що в стані окисного стресу під дією АФК перекисному окисненню підлягають не тільки ліпіди, а й білки плазматичних мембран [4, 8, 9]. Вважається, що негативний ефект окисно-модифікованих білків у клітинах пов'язаний з тим, що окиснені білки є джерелом вільних радикалів, які виснажують запаси клітинних антиоксидантів. Продукти вільнорадикального окиснення білків призводять до окисного ураження ДНК. При цьому перекисне окиснення білків (ПОБ) є не тільки пусковим механізмом патологічних процесів під час стресу, а й найбільш раннім маркером окисного стресу. Динаміка змін продуктів ПОБ є відображенням ступеня окисного ураження клітин та резервно-адаптаційних можливостей організму. Вважається, що рівень показників окисної модифікації білків (ОМБ) порівняно з рівнем ПОЛ, є інформативнішим маркером наявності окисного стресу в організмі [4, 5, 8].

Механізми вільнорадикального окиснення макромолекул у перебігу СКХ залишаються маловивченими і до кінця

Стан перекисного окиснення білків у хворих на кальцій-оксалатний нефролітіаз до та після лікування (M±m)

Показник	Хворі на СКХ до лікування, n=36	Хворі на СКХ після лікування, n=36	Здорові, n=20
ОМБ-356, ум. од	0,295±0,006	0,218±0,012	0,212±0,011 p ₁₋₂ <0,001
ОМБ-370, ум. од	0,382±0,005	0,271±0,011	0,262±0,010 p ₁₋₂ <0,001
ОМБ-430, ум. од	0,184±0,004	0,152±0,008	0,143±0,006 p ₁₋₂ <0,001
ОМБ-530, ум. од	0,052±0,001	0,051±0,003	0,050±0,004

Примітка: вірогідність різниці показників по відношенню до величин у пацієнтів із хворими на СКХ.

Показники активності каталази та супероксиддисмутази у здорових та хворих на кальцій-оксалатний нефролітіаз

Показник	Хворі на СКХ до лікування, n=36	Хворі на СКХ після лікування, n=36	Здорові, n=20
СОД, МО/мг	38,96±2,16	48,56±2,62	49,05±2,51 p ₁₋₂ <0,001
Каталаза, ум.од	4,62±0,22	6,04±0,32	6,61±0,28 p ₁₋₂ <0,05

не розкритими. Сьогодні наявні лише поодинокі публікації про стан процесів пероксидації білків при СКХ. Отже, взаєморівновага в оксидантно-антиоксидантній системі є важливою ланкою у підтриманні гомеостазу взагалі та при патології нирок зокрема, зумовлює включення в комплексне лікування середників антиоксидантної дії [2, 4].

Перспективним можна вважати застосування фітопрепаратів з високим вмістом біофлавоноїдів та антиоксидантних вітамінів [6]. Біофлавоноїди – це екзогенні природні, низькомолекулярні антиоксиданти з властивостями попереджувати виникнення та знешкоджувати біореактивні форми кисню (РФК) шляхом запобігання пероксидації ліпідів та утворення хелатних комплексів з металами. Флавоноїди пригнічують активність ферментів у циклі арахідонової кислоти, знижують утворення РФК, синергійно взаємодіють з антиоксидантними вітамінами (А, Е, β-каротином), посилюючи їхній антиоксидантний потенціал. Фенольна структура флавоноїдів надає можливість молекулі взаємодіяти з вільними радикалами, зменшуючи інтенсивність ПОЛ. Це спричинює гальмування утворення основного негативного фактора – малонового діальдегіду.

Флавоноїди регулюють функціональний стан стінок капілярів, зменшуючи їхню крихкість, що важливо для відновлення мікроциркуляції в органах. Мають протизапальну, антибактеріальну, спазмолітичну, гіпотензивну, антипротеїнуричну, антигематуричну дію. Для флавоноїдів характерною є мембраностабілізуюча дія. Вони також пригнічують агрегацію тромбоцитів та їхню адгезію до ендотелію судин, поліпшують реологічні властивості крові, захищають мікросудини та тканини від деструкції, діють як гепатопротектори. Метаболічна дія флавоноїдів пов'язана із стимуляцією синтезу білка і прискорення регенерації пошкоджених клітин, що мають домінуюче значення для відновлення клітин. Флавоноїди виявляють також протиалергічну та сечогінну дію. І, нарешті, ще одна позитивна властивість флавоноїдів – потенціювати дію аскорбінової кислоти і можливість спільного призначення з фізіологічно активними речовинами рослин (алкалоїдами, сапонінами, пектинами тощо) [4, 6].

Мета дослідження: проаналізувати стан прооксидантної системи та системи антиоксидантного захисту у пацієнтів з СКХ та вивчити антиоксидантну активність фітопрепарату, зокрема при кальцій-оксалатному нефролітіазі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на базі відділу урології та імунологічної лабораторії Івано-Франківської обласної клінічної лікарні. Обстежено 56 пацієнтів, які були розподілені на дві групи: 1-а група (n=36) – хворі на СКХ (кальцій-оксалатний нефролітіаз) віком від 18 до 65 років; 2-а група (контрольна, n=20) – здорові особи аналогічного віку. Поряд із вивченням даних анамнезу, об'єктивним оглядом хворі підлягали інструментальному та лабораторному обстеженню згідно з протоколом, затвердженим Наказом МОЗ України № 1-1/152(п.а2) від 06.03.2003 р. «Сечокам'яна хвороба, камені нирки».

Пацієнтам з СКХ (1-а група) у комплекс лікування був включений фітопрепарат, 100 мл розчину якого містять: 100 мл водного екстракту (2:1), отриманого із суміші лікарських рослин: стебла хвоща польового (*Equisetum arvense*) 570 мг, рослини торичника червоного (*Spergularia rubra*) 330 мг, листя болдо (*Peumus boldus*) 280 мг, квітки опунції (кактус) інжирової (*Opuntia ficus-indica*) 170 мг, квітки залізнички вузьколістої (*Sideritis angustifolia*) 170 мг, листя розмарину аптечного (*Rosmarinus officinalis*) 170 мг, коріння пальчатника (бермудська трава) (*Cymodon dactylon*) 170 мг, листя меліси аптечної (*Meliss Officiflis*) 170 мг; екстракт – вода.

Препарат призначали по 45 мл 3 рази на добу протягом 1 міс.

Усі пацієнти обстежувалися після отримання у них інформаційної згоди відповідно до вимог GCP ІНС.

Для вивчення стану ПОБ досліджували показники ОМБ за методикою Е.Е. Дубініної та співавторів. Оптичну густину реєстрували на спектрофотометрі при довжині хвилі 356 нм і 370 нм (кетонпохідні нейтрального характеру) та 430 нм і 530 нм (альдегідопохідні основного характеру). Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом С. Чеварі та співавторів. 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 СКХ (кальцій-оксалатний нефролітіаз) вмісту продуктів

ПОБ до лікування свідчить на користь наявності у них оксидативного стресу (табл. 1).

Так, вміст ОМБ-356 в обстежених із СКХ (1-а група) вірогідно перевищував рівень аналогічного показника у здорових. Так, показник ОМБ-356 ($0,295 \pm 0,0060$ ум.од.) був достовірно вищим проти $0,212 \pm 0,011$ ум.од. у порівнянні зі здоровими ($p_N < 0,05$).

Дослідження вмісту ОМБ-370 у сироватці крові хворих на кальцій-оксалатний нефролітиаз дозволило встановити, що у цій групі мало місце збільшення його рівня порівняно зі здоровими, і ця відмінність була достовірною ($p_N < 0,05$). Відтак, максимальне значення показника ОМБ-430 зареєстроване в групі пацієнтів із кальцій-оксалатним нефролітазом. Цей показник вірогідно перевищував аналогічні в обстежених здорових ($p_N < 0,05$).

Щодо вмісту ОМБ-530, то його рівень у хворих на СКХ практично не відрізнявся від показника групи контролю ($p_N < 0,05$).

Таким чином, аналіз показників стану ПОБ у пацієнтів із СКХ до лікування виявив його значну активацію. Утім, якісно односпрямовані зміни були кількісно нерівнозначними. Аналіз залежності рівня показників ОМБ продемонстрував виражені зміни стану біологічних мембран, що індукує виснаження захисних механізмів. Дослідження вмісту ферментативних антиоксидантів у пацієнтів із СКХ свідчить, що АО характеризувався вірогідним зменшенням активності каталази з $6,61 \pm 0,28$ ум.од. у здорових до $4,62 \pm 0,22$ ум.од. у пацієнтів із СКХ ($p_N < 0,05$) та СОД з $38,96 \pm 2,16$ МО/мг у хворих проти $49,05 \pm 2,51$ О/мг у здорових ($p_N < 0,001$), що свідчить про досягнення функціонального виснаження ферментативного ланцюга АОЗ у цієї категорії пацієнтів (табл. 2).

Отже, отримані результати до лікування демонструють системну активацію процесів ПОБ у пацієнтів із СКХ. Посилення процесів ПОБ супроводжується ослабленням АОЗ, що проявляється зниженням активності СОД, яка каталізує дисмутацію супероксидних аніон-радикалів та антиоксидантного бар'єру першої лінії захисту – каталази, засвідчує значне послаблення захисту клітин нирки при СКХ від накопичення активних форм кисню.

На ранніх етапах перебігу СКХ інтенсифікація продуктів ПОБ є незначною. У результаті прогресування СКХ

активізація ПОБ стає більш вагомою, що частково можна пояснити послабленням функціонування АО механізмів.

Активізація оксидативних механізмів у пацієнтів з СКХ поряд із прямою токсичністю (деградація ДНК, запуск ланцюгової реакції ПОЛ) опосередковано впливає на велику кількість інших негативних процесів в організмі: пошкоджуються фібробласти, знижується активність місцевого захисту, стимулюється утворення тромбоксану, підвищується проникливість епітелію і ендотелію, підсилюється секреція слизу тощо. 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 з ланок патогенезу СКХ [1, 3, 7].

Після проведеного лікування спостерігають тенденцію до суттєвого зниження показників ОМБ у наших хворих у порівнянні з початковим рівнем ($p < 0,05$). Так, ОМБ-356, ОМБ-370, ОМБ-430 наблизилися до значень групи контролю (див. табл. 1) ($p > 0,05$), що свідчить про антиоксидантні властивості фітопрепарату. Застосування фітопрепарату сприяло покращенню функціональної здатності АОС. Так, рівень К зріс до $6,04 \pm 0,321$ ум.од., а СОД – до $48,56 \pm 2,62$ МО/мг ($p < 0,05$), що наближається до показників здорових (див. табл. 2).

Проведені нами дослідження АОС у пацієнтів із СКХ довели, що ферменти АОС виснажується під час захворювання і ці зміни поглиблюються залежно від тривалості захворювання. Застосування фітопрепарату сприяло суттєвому підвищенню досліджуваних ферментів.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на кальцій-оксалатний нефролітиаз спостерігають розвиток оксидативного стресу, який проявляється достовірним збільшенням та накопиченням вмісту продуктів перекисного окиснення білків на тлі зростання напруженості адаптаційних механізмів системи антиоксидантного захисту.

2. Використання комплексної терапії із включенням фітопрепарату дозволяє коригувати метаболічні розлади, що проявляється відновленням антиоксидантної активності сироватки крові, зниженням продуктів окисної модифікації білків.

Возможности коррекции нарушенной системы перекисного окисления белков и антиоксидантной защиты у пациентов с мочекаменной болезнью

Е.А. Литвинец, Н.Т. Скоропад

Мочекаменная болезнь (МКБ) – одно из наиболее распространенных урологических заболеваний, которое диагностируют не менее чем у 2–5% населения, причем наиболее часто в возрасте 20–50 лет.

Цель исследования: анализ состояния прооксидантной системы и системы антиоксидантной защиты у пациентов с МКБ и изучить антиоксидантную активность фитопрепарата у больных с кальций-оксалатным нефролитиазом.

Материалы и методы. Обследовано и проведено лечение 56 пациентам, которые были разделены на две группы: 1-я группа ($n=36$) – больные с МКБ в возрасте от 18 до 65 лет; 2-я группа (контрольная, $n=20$) – здоровые пациенты аналогичного возраста. Пациентам с МКБ (1-я группа) в комплекс лечения был включен фитопрепарат, который назначали по 45 мл 3 раза в сутки на протяжении 1 мес. Для изучения состояния перекисного окисления белков исследовали показатели окислительной модификации белков (ОМБ) по методике Е.Е. Дубининой и соавторов. Активность супероксиддисмутазы определяли по методу С. Чевари и соавто-

ров. Количественное определение каталазы в сыворотке крови совершали по методике А.Н. Баха и С.В. Зубковой.

Результаты. Установлено, что у пациентов с МКБ наблюдается прооксидантная активация, проявляющаяся достоверным повышением уровня окислительно-модифицированных белков. В то же время у всех пациентов ослабевала антиоксидантная защита, о чем свидетельствует значительное снижение активности ферментов супероксиддисмутазы и, особенно, каталазы. После проведенного лечения отмечена тенденция к существенному снижению показателей ОМБ в сравнении с начальным уровнем, что свидетельствует о антиоксидантных свойствах фитопрепарата. Также применение фитопрепарата привело к улучшению функциональной способности АОЗ.

Заключение. У больных с кальций-оксалатным нефролитиазом наблюдают развитие оксидантного стресса, который проявляется достоверным увеличением и накоплением продуктов перекисного окисления белков на фоне увеличения напряженности адаптационных механизмов системы антиоксидантной защиты. Использование комплексной терапии с включением фитопрепарата разрешает корригировать метаболические нарушения, что проявляется обновлением антиоксидантной активности сыворотки крови и снижением продуктов окислительной модификации белков.

Ключевые слова: оксидантно-антиоксидантная система, мочекаменная болезнь, лечение.

Possibilities of correction of protein peroxidation and antioxidant defense in patients with urolithiasis

Ye.A. Lytvynets, N.T. Skoropad

Urolithiasis is one of the most spread urological diseases and occurs not less than in 2–5% of population, most often in age of 20–50 years. **The objective:** research the condition of prooxidant system and the system of antioxidant defense in patients with urolithiasis and antioxidant activity of phytomedications, in particular in calcium-oxalate nephrolithiasis.

Patients and methods. Materials and methods. 56 patients, which were examined and treated we divided into groups: 1 group (n=36) patients with urolithiasis aged from 18 to 65 years; 2 group (n=20), which is a control group. 20 healthy people of the same age are in this group. In first group, in complex treatment of patients with urolithiasis was included phytomedication. Medication was prescribed by по 45 ml 3 times per day for 1 month. For study the condition of peroxidation of proteins we researched indexes of oxidative modification of proteins. For study of the state of peroxidation of proteins we researched the indexes of oxidative modification of proteins according to the method of Dubinina Dubinina E.E. and coauthors. Activity of superoxide dismutase we identified according to the method of Chevare

S. and coauthors. Assay of catalase in blood serum was performed by the method of Bah Bah A.N. and Zubkov Zubkov S.

Results. Found that in patients with urolithiasis occurs oxidative activation, shown a significant increase in the level of oxidation-modified proteins. However, in all patients antioxidant defense weakened, which demonstrates a significant reduction in enzyme activity of superoxide dismutase and especially catalase. After treatment we indicated the tendency to significantly decrease of oxidation-modified proteins in our patients compared to the original level, which shows the antioxidant features of phytomedication. Also usage of phytomedication leads to improvement of functional capacity of antioxidant system.

Conclusion. In patients with calcium-oxalate nephrolithiasis there is development of oxidative stress, which appears a significant increase in content and accumulation of protein peroxidation products amid growing tension adjustment mechanisms of antioxidant defense system. Using of complex therapy with inclusion of proposed phytomedication allows adjust metabolic disorders, which manifested by recovery of antioxidative activity of blood serum, decrease of the oxidative modification of proteins system.

Key words: oxidative-antioxidative system, urolithiasis, treatment.

Сведения об авторах

Литвинец Евгений Антонович – Ивано-Франковский национальный медицинский университет, 76018, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2; тел.: (0342) 52-59-80.

Скоропад Назар Тарасович – Ивано-Франковский национальный медицинский университет, 76018, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2; тел.: (0342) 52-59-80.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Возианов А. Ф. Атлас: руководство по урологии: в 3 т. / А. Ф. Возианов, А. В. Люлько. – Днепропетровск: РИА «Днепр-VAL», 2001. – 195 с.
2. Литвинець Є.А., Зеляк М.В., Солончак Д.Б. та ін. Стан перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту при патології сечовидільної системи та доцільність використання біофлавоноїдів у комплексному лікуванні // Галицький лікарський вісник. – 2004. – № 3. – С. 110–113.
3. Мочекаменная болезнь: этиопатогенез, диагностика, лечение и метафилактика: пособие / В. И. Вошула [и др.]; под. общ. ред. В. И. Вошулы. – Минск: Зималето, 2010. – 220 с.
4. Карімов Карімов І.З. Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології / І.З. Карімов // Лабораторна діагностика. – 2005. – № 1 (31). – С. 7–13.
5. Соодаева С.К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания / С.К. Соодаева // Пульмонология. – 2006. – № 5. – С. 122–126.
6. Черненко В.В. Підвищення ефективності реабілітації у хворих на сечокам'яну хворобу після проведення літотрипсії / В.В. Черненко, Д.В. Черненко // Урологія. – 2015. – № 4. – С. 14–20.
7. Borysewicz-Sanczyk H. Urolithiasis risk factors in obese and overweight children / H. Borysewicz-Sanczyk, T. Porowski, A. Hryniewicz // *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* – 2012. – Vol. 18, N 2. – P. 53–57.
8. Knoll T. Epidemiology, Pathogenesis, and Pathophysiology of Urolithiasis / T. Knoll // *Eur. Urol. Suppl.* – 2010. – Vol. 9. – P. 802–806.
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. Rink L. Zinc-altered immune function and cytokine production / L. Rink, H. Kirchner // *J. Nutr.* 2008. – Vol. 130. – P. 1407–1411.
11. Pearle M.S. Urologic diseases in America project: Urolithiasis / M.S. Pearle, E.A. Calhoun, G.C. Curhan // *J. Urol.* – 2005. – Vol. 173. – P. 848–857.
12. Williams K.J., Fisher E.A. Oxidation, lipoproteins and atherosclerosis // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Care.* – 2005. – Vol. 8. – P. 139–147.

Статья поступила в редакцию 22.05.17