

## ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ ЛЕГЕНЕВОГО ЕКСПІРАТУ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ПРИ КРИТИЧНИХ СТАНАХ

Ю.Б. Яценко

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** У роботі представлені результати дослідження окисної модифікації білків у легеневому експіраті новонароджених при гострому ушкодженні легень. Доведена діагностична цінність даного лабораторного тесту в діагностиці дебюту розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому у новонароджених при критичних станах.

**Ключові слова:** окисна модифікація білків, гостре ушкодження легень, новонароджені.

### Вступ

Критичні стани будь-якої етіології супроводжуються активацією вільнорадикальних процесів в органах та тканинах хворого [1,8]. Особливу групу ризику щодо розвитку вільнорадикальних уражень складають новонароджені діти, яким притаманна фізіологічна недостатність систем антиоксидантного захисту, висока частота гіпоксично-ішемічних уражень, які потребують застосування високих концентрацій кисню під час проведення реанімаційних заходів та подальшого лікування дихальної недостатності [3].

На сьогодні в літературних джерелах накопичено достатньо даних про механізми перекисного окислення ліпідів, їх значення в нормальному функціонуванні клітин та в патогенезі різних захворювань (Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О.). Але слід зазначити, що в умовах окисного стресу активні форми кисню мають ушкоджуючу дію на всі біологічні структури. Тому в останні роки підвищився інтерес до вивчення механізмів взаємодії активних форм кисню з білками. Це обумовлено перш за все тим, що саме білки є основою усіх ферментів, які забезпечують численні метаболічні та регуляторні процеси [11].

Доведено, що в умовах окисного стресу та неконтрольованої генерації активних форм кисню домінуючими стають процеси неконтрольованої модифікації білків, що призводить до втрати їх біологічної активності (ферментативної, рецепторної та транспортної функцій). Окисна модифікація білків генерує нові антигени та провокує імунну відповідь. Продукти такої модифікації можуть стати причиною вторинного ушкодження інших молекул. Тому при патологічних станах, які супроводжуються розвитком окисного стресу, процеси окисної модифікації білків повинні знаходитися під постійним лабораторним моніторингом [6].

Провідне місце в стимуляції реакцій вільнорадикального окислення займає гіпоксія: її глибина в багатьох випадках визначає не тільки важкість, але й вихід із критичного стану. Так, у хворих реанімаційного профілю, у яких внаслідок гіпоксії спостерігаються порушення метаболізму, процеси вільнорадикального окислення перебігають більш інтенсивно, а механізми зв'язування токсичних продуктів значно знижені. Тому при глибокій гіпоксії відновлення доставки до тканин кисню може сприяти подальшому ушкодженню клітинних структур внаслідок активації перекисного окислення.

Важку, іноді фатальну, прогресуючу дихальну недостатність внаслідок гіпоксії, резистентної до оксигеноте-

рапії, інтерстиціального набряку легень, мікроемболій та ателектазів з пошкодженням сурфактанту та приєднанням інфекції виділяють в особливу патологічну форму — респіраторний дистрес-синдром дорослих (РДСД) або гостре ушкодження легень (ГУЛ). Незважаючи на те, що особливості розвитку ГУЛ великою мірою визначаються природою патогенетичного фактора (сепсис, політравма, гостра крововтрата та гіповолемія, аспірація та ін.), випадки даного клінічного синдрому мають загальний патофізіологічний генез [2].

Враховуючи актуальність даної проблеми, метою дослідження було вивчити особливості окисної модифікації білків у новонароджених при критичних станах, у яких клінічно визначався респіраторний дистрес-синдром важкого ступеня.

### Матеріал і методи дослідження

Дослідження проведено серед 25 новонароджених дітей, які знаходилися на лікуванні у відділенні інтенсивної терапії новонароджених. Всі діти перебували у критичному стані (синдром поліорганної невідповідності), що вимагало проведення медикаментозної інотропної серцевої дотації та апаратного протезування дихальної функції. Діагноз «синдром гострого пошкодження легень» та/або «гострий респіраторний дистрес-синдром» виставлявся на підставі клінічної картини гострої дихальної недостатності, функціональних, лабораторних та рентгенологічних методів дослідження [10].

Окисну модифікацію білків за показником вмісту в білках карбонілів досліджували в плазмі крові та в конденсаті повітря, що видихається (КВП). Вибір останнього біологічного середовища для дослідження був зумовлений перш за все неінвазивністю способу його отримання та гіпотетично високою інформативністю [9]. Легеневі експірати збирали з системи дихального контуру на видиху.

Для дослідження оцінки інтенсивності окисної модифікації білків нами було застосовано метод спектрофотометричного аналізу карбонільних груп, які утворюються при взаємодії активних форм кисню із залишками амінокислот з використанням 2,4-динітрофенілгідразину. Утворення 2,4-динітрофенілгідразону реєстрували при довжині хвилі 370 нм, а рівень карбонільних груп розраховували використовуючи коефіцієнт молярної екстинції 21000 М<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup> [7].

Статистична обробка результатів дослідження проводилася за допомогою статистичної програми Statistica v5.5A в статистичному модулі «Непараметрична статистика».

### Результати досліджень та їх обговорення

Проведення дослідження сироватки крові здорових дітей, які знаходилися на реабілітаційному лікуванні у відділенні патології новонароджених з приводу постгіпоксичного ураження ЦНС, показало наявність в плазмі крові продуктів окислення білків (ПОБ), які прореагували з 2,4-динітрофенілгидразином. Вміст карбонілів в плазмі крові у новонароджених цієї групи (12 дітей) склав  $1.15 \pm 0.08$  ммоль/г білка, при загальному рівні білка плазми крові  $58.1 \pm 3.8$  г/л.

Основна група спостереження була поділена на дві підгрупи. До I підгрупи ввійшли діти, які клінічно знаходилися в стадії дебюту розвитку РДСД – стадія гострого ушкодження легень (12 дітей). У всіх дітей були скореговані системний кровотік та мікроциркуляторні порушення, за показниками пульсоксиметрії киснева резистентність не спостерігалася. II підгрупу (13 дітей) склали новонароджені, які знаходилися у вкрай важкому стані, що проявлялося перш за все гіпоксією внаслідок кисневої резистентності, що не корегувалася, та наявністю клінічно та рентгенологічно легеневого ушкодження (дифузна двобічна інфільтрація). Рівні досліджуваних продуктів окислення білків відповідно становили:  $1.04 \pm 0.03$  мм/г білка та  $2.52 \pm 0.45$  мм/г білка ( $p < 0.05$ ).

Таким чином, як показують результати дослідження, у новонароджених із синдромом гострого респіраторного дистрес-синдрому за патофізіологічним механізмом дорослих відмічається підвищення рівня окисної модифікації білків плазми крові. Проте в дебюті розвитку синдрому, коли має місце синдром гострого ураження легень, спостерігається тенденція до зниження утворення карбонільних похідних білків ( $1.04 \pm 0.03$  мм/г білка проти  $1.15 \pm 0.08$  мм/г білка). Наявність даної тенденції може свідчити про те, що при синдромі ГУЛ має місце або попереднє виснаження ПОБ, або підвищення загальної антиоксидантної активності сироватки крові внаслідок активації процесів перекисного окислення білків. На користь даного припущення свідчить виявлена висока достовірна кореляція за методом Спірмена між показниками ПОБ плазми крові та конденсації повітря, що видихається ( $R = -0.95$ ;  $p\text{-level} = 0.05$ ).

Враховуючи дані результати, доцільним було проведення дослідження вмісту карбонілів у білках легеневого експірату у новонароджених основної групи спостереження. Аналіз отриманих даних показав, що у дітей при критичних станах спостерігається підвищення вмісту кар-

бонільних похідних білків. Причому, залежно від ступеня важкості проявів синдрому, характерними є і особливості рівня ПОБ. Так, в дебюті розвитку синдрому гострого ушкодження легень рівні показників ПОБ склали в середньому  $1.28 \pm 0.06$  мм/г білка, тоді як при реалізованому респіраторному дистрес-синдромі показник ПОБ становив  $2.74 \pm 0.3$  мм/г білка ( $p < 0.05$ ).

Таким чином, у новонароджених при критичних станах відмічається підвищення рівня окислювальної модифікації білків плазми крові та легеневого експірату. Це показує, що «кисневий вибух», який виникає на фоні поліетиологічної системної відповіді, призводить до модифікації первинної структури білка, що в свою чергу призводить до агрегації та фрагментації білків. Процеси нерегульованої модифікації білків призводять не тільки до втрати їхньої біологічної активності, але й до генерації нових антигенів та провокації імунної відповіді. Продукти такої модифікації можуть ініціювати вторинне ушкодження інших біологічних молекул. Крім того, наслідком таких структурних ушкоджень є різке підвищення чутливості білків, перш за все до протеолітичної деградації, що надалі призводить й до змін у системі фібринолізу. Сучасні дослідження свідчать, що швидкість протеолітичного розщеплення ОН-модифікованих білків протеазами підвищується в 50 разів [4–6]. Тому, враховуючи дані літератури про патогенетичні ланцюги синдрому ГУЛ [5], можна вважати, що стимуляція вільнорадикального перекисного окислення поряд з ініційованим локальним легенеvim дисбалансом протеїназно-фібринолітичної активності є одним з факторів розвитку синдрому ГУЛ. Вважаємо доцільними дослідження у цьому напрямку.

### Висновки

Ми вважаємо, що подальші дослідження в даному напрямку дозволять зробити узагальнюючі висновки щодо участі ушкоджуючої дії активних форм кисню на білки при формуванні критичних станів. Крім того, оцінку окисної модифікації білків легенеvim експіратів доцільно використовувати як для діагностики синдрому гострого респіраторного дистрес-синдрому, так і для проведення моніторингу ефективності терапевтичних заходів. Специфічність діагностичного тесту дослідження перекисного окислення білків в легенеvim експіраті для підтвердження гострого ураження легень за нашими даними становить 85,7% при чутливості даного тесту 80% (діагностична межа – 2 мм/г білка).

### ЛІТЕРАТУРА

1. Биорегуляторные молекулы и цитокиновый профиль у больных с респираторным дистресс-синдромом взрослых / В.Б.Шуматов, Т.А.Шуматова, Е.В.Маркелова, В.П.Павлов // Вестн. интенсивной терапии. – 2002. – №1. – С.9-11.
2. Вермель А.Е. Острые респираторный дистресс-синдром // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. – 2003. – №5. – С.57–63.
3. Добрянський Д.О. Перекисне окислення ліпідів, антиоксидантний захист і легенеve ураження у новонароджених дітей // ПАГ. – 2000. – №6. – С.15-21.
4. Карімов І.З. Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології // Лабораторна діагностика. – 2005. – Т.31, №1. – С.7-13.
5. Кирсанова А.К. Механизмы нарушения функций эндотелия сосудов при септических состояниях // Анестезиология и реаниматология. – 2003. – №6. – С. 72-75.
6. Окислительная модификация белков плазмы крови у больных в критических состояниях / Г.А.Рябов, Ю.М.Азизов, С.И.Дорохов и др. // Анестезиология и реаниматология. – 2000. – №2. – С. 72-75.
7. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е.Дубинина, С.О.Бурмистров, Д.А.Ходов, И.Г.Поротов // Вопросы мед. химии. – 1995. – Т.4, №1. – С.24-26.
8. Окислительный стресс и эндогенная интоксикация у больных в критических состояниях / Г.А.Рябов, Ю.М.Азизов, И.Н. Пасечник и др. // Вестн. интенсивной терапии. – 2002. – №4. – С. 4-7.
9. Респираторное влаговыведение и значение его исследования в пульмонологии / Б.И.Гельцер, Л.Е.Кривенко, В.А.Незорова, П.А.Лукьянов // Терапевт. архив. – 2000. – Т.72, №3. – С.46-50.
10. Bernard G.R., Artigas A., Brigham K.L. et al. The American-European Consensus Conference on ARDS: definition, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination // Am. J. Respirat. Crit. Care Med. – 1994. – Vol.149, №3. – P. 818-824.
11. Brame C.J., Boutaud O., Davies S.S. et al. Modification of proteins by isoketals-containing oxidized phospholipids // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol.279, №4. – P. 13447-13451.

**ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ ЛЕГОЧНОГО ЭКСПИРАТА У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ**

Ю.Б. Яценко

**Резюме.** В работе представлены результаты исследования окислительной модификации белков в легочном экспирате новорожденных при остром повреждении легких. Показана диагностическая значимость данного лабораторного теста в диагностике дебюта развития острого респираторного дистресс-синдрома у новорожденных при критических состояниях.

**Ключевые слова:** окислительная модификация белков, острое повреждение легких, новорожденные.

**OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS OF EXHALED AIR CONDENSATE IN NEWBORNS WITH CRITICAL STATES**

Yu. B. Yashchenko

**Summary.** The results of the investigation of the oxygen modification of the proteins of the lung expirate in newborns with acute lung injury are presented in the article. The diagnostic value of this laboratory test in the diagnostics of the onset of the acute respiratory distress syndrome in newborns with critical states was proven.

**Key words:** oxidative modification of proteins, acute lung injury, newborns.

**НОВОСТИ****Витамин D3 повышает чувствительность больных тяжелыми формами астмы к лекарствам**

Положение больных, страдающих особо тяжелыми формами астмы, устойчивыми к медикаментозному воздействию, можно облегчить при помощи пищевых добавок, содержащих витамин D3. К таким выводам пришли сотрудники лондонского Королевского колледжа, отчет об исследовательской работе которых опубликован в британском Journal of Clinical Investigation.

Тяжелые формы астмы, как правило, поддаются воздействию стероидных препаратов. Большинство больных применяют содержащие стероиды ингаляторы, при более тяжелых формах болезни используются стероиды в виде таблеток. В последнем случае весьма велика вероятность опасных для здоровья побочных эффектов.

Однако существуют формы астмы, устойчивые даже к воздействию стероидных препаратов высокой концентрации. Жизнь таких больных находится в постоянной опасности, поскольку каждый приступ астмы может стать для них последним.

По данным британских ученых, лечебный эффект стероидов отчасти обусловлен их способностью активизировать Т-клетки иммунной системы, продуцирующие сигнальные молекулы под названием IL-10. Эти молеку-

лы приостанавливают иммунную реакцию, которая является причиной опасных для жизни симптомов астмы, и, прежде всего, затруднений в дыхании.

В отличие от Т-клеток здоровых людей, или астматиков, чувствительных к воздействию стероидов, искусственно выращенная колония Т-клеток, взятых у людей, страдающих стероид-резистентной астмой, не выделяет IL-10, если находится в среде, насыщенной стероидным препаратом под названием дексаметазон. Однако, как выяснили ученые, при добавлении в среду витамина D3 нормальное функционирование Т-клеток полностью восстанавливается.

Пациенты со стероид-резистентной астмой, получавшие в течение 7 дней повышенные дозы витамина D3, также проявляли большую чувствительность к воздействию стероидов.

В настоящее время, по словам руководителя группы исследователей Катрин Гаврилович (Catherine Hawrylowicz), вопрос о возможности клинического применения витаминной терапии находится на стадии разработки. Однако предварительные результаты, полученные в ходе лабораторных исследований, являются весьма обнадеживающими.

*Источник: mednovosti.ru*