

## ОКИСЛЕННЫЕ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ БЕЛКИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ НА ФОНЕ ГИПЕРТЕНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Ю. А. Котова, А. А. Зуйкова, А. Н. Пашков

ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»  
Минздрава России

Поступила в редакцию 25.05.2015 г.

**Аннотация.** Рассмотрена роль окисленных модифицированных белков у больных с дислипидемией на фоне гипертонической болезни. Установлена взаимосвязь между окислительной модификацией белков и антиоксидантной активностью у данных пациентов.

**Ключевые слова:** Гипертоническая болезнь. Окислительная модификация белков. Супероксид-дисмутаза.

**Abstract.** Considers the role of oxidative modification of proteins in patients with dyslipidemia on the background of hypertension. The relationship between oxidative modification of proteins and the activity of antioxidant system in these patients.

**Keywords:** Hypertension. Oxidative modification of proteins. Superoxide dismutase.

Гипертоническая болезнь (ГБ) относится к одним из самых распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Выявлено, что возникновение и развитие ГБ тесно связано с наличием дислипидемии [1]: в среднем у 40% больных с ГБ выявляется гиперхолестеринемия [2]. Стоит отметить, что ГБ соотносится непосредственно с уровнем атерогенных фракций, а также ранним развитием атеросклероза [3].

Сформулировано множество теорий атерогенеза [4], но наиболее яркая – это свободно-радикальная теория, которая подразумевает под собой, что липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), подвергшиеся модификации вследствие свободно-радикального окисления, активно «цепляются» за стенки сосуда, тем самым способствуют прогрессированию атеросклероза [5]. Важно от-

метить, что в современной науке наибольшее внимание уделено перекисному окислению липидов, а данных о роли окислительной модификации белков недостаточно [6].

Таким образом, целью настоящего исследования явилось оценить выраженность окисленной модификации белков (ОМБ) у пациентов с гиперлипидемией на фоне гипертонической болезни, а также определить их связь с активностью антиоксидантной системы.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Материалом для исследования послужили результаты обследования 150 человек. В исследовании приняли участие 30 клинически здоровых лиц, студентов шестого курса лечебного и педиатрического факультетов ВГМА им. Н. Н. Бурденко в 2014 г. и 120 пациентов с гипертонической болезнью, поступивших для обследования и лечения в кардиологическое отделение №2 БУЗ

ВО «Воронежская городская клиническая больница скорой медицинской помощи №1» в течение 2014 - 2015 гг. Диагноз гипертонической болезни, стадия и степень устанавливались на основании национальных рекомендаций по диагностике и лечению артериальной гипертонии 2008 г. и в соответствии с положениями Международной классификации болезней X пересмотра (МКБ-10). Пациенты с ГБ были разделены на 2 группы: 1 – пациенты с ГБ 2 ст., 2 ст., 2 – пациенты с ГБ 2 ст., 2 ст. и дислипидемией. По возрасту, полу, длительности заболевания различий в группах не было.

Всем обследуемым проводили определение показателей липидограммы: общий холестерин (ОХ), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), триглицериды (ТГ).

Определение окислительной модификации белков в сыворотке крови проводили по методике Дубининой [6] (реакция взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4 - динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) с образованием производных 2,4 – динитрофенилгидразонов) в следующей модификации: к 100 мкл сыворотки крови добавляли 1 мл 2,4-ДНФГ, растворенного предварительно в 2 М HCl. Инкубировали в течение часа при комнатной температуре. Затем в пробу вносили 1 мл 20% HClO<sub>4</sub> для осаждения белков. Центрифугировали 15 – 20 минут. Отбирали надосадочную жидкость. Осадок 3 раза промывали раствором этанол : этилацетат (1 : 1) для удаления липидов, а также 2,4 – ДНФГ, не прореагировавшего с карбонильными группами окисленных белков. Осадок оставляли подсохнуть. К полученному осадку добавляли 3 мл 8М мочевины, размешивали и ставили на водяную баню до полного растворения осадка. Оптическую плотность 2,4 - динитрофенилгидразонов регистрировали на приборе спектрофотометр СФ – 36 на длине волн: 356 нм, 370 нм, 430 нм и 530 нм. При длине волны 356

нм и 370 нм определялось содержание альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов нейтрального характера (АДФГн и КДФГн), при длине волны 430 нм 530 нм – альдегидо- и кетонпроизводных основного характера (АДФГо и КДФГо).

Активность антиоксидантной системы оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД). Определяли ее следующим методом: к 2,7 мл буфера добавляли 70 мкл люминола, 70 мкл метионина, 80 мкл рибофлавина 3 мкл сыворотки крови. В контроле вместо сыворотки крови добавляли 3 мкл дистиллированной воды. Оптическую плотность определяли на приборе Spekol Carl Zeiss Epa с хемилюминисцентной приставкой. Расчет производился по формуле:

$$\% \text{ гашения} = 100 - \text{опыт} * 100 / \text{контроль}.$$

Статистическая обработка результатов исследования проводилась на ПЭВМ Pentium III-500, с помощью пакетов программ Microsoft Excel 2003, Statistica, SPSS 17.0 for Windows. Характер распределения определялся с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении различия между группами определялись с помощью t-критерия Стьюдента (достоверные различия при  $p < 0.05$ ). Для оценки корреляционных связей между параметрами использовался критерий Пирсона (слабая связь –  $r \leq 0.25$ , умеренная –  $r < 0.75$ , сильная –  $r \geq 0.75$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При оценке результатов липидограммы были определены достоверные различия между группой здоровых и остальными группами. Важно отметить, что также выявлены достоверные различия между группой больных с ГБ и группой больных с дислипидемией на фоне ГБ по показателям ОХС, ЛПНП и ТГ. Статистически значимых различий по показателю ЛПВП между группами не обнаружено (табл. 1).

Таблица 1

Показатели липидограммы

Показатель	Здоровые (n=30)	ГБ (n=60)	ГБ + дислипидемия (n=60)
ОХС, ммоль/л	4.34 ± 0.08* p < 0.05	5.36 ± 0.02* ** p < 0.05	6.5 ± 0.09* ** p < 0.05
ЛПНП, ммоль/л	2.6 ± 0.04 * p < 0.05	2.91 ± 0.03* ** p < 0.05	3.74 ± 0.04* ** p < 0.05
ТГ, ммоль/л	1.3 ± 0.03* p < 0.05	1.66 ± 0.003* ** p < 0.05	2.1 ± 0.06* ** p < 0.05
ЛПВП, ммоль/л	1.3 ± 0.02* p < 0.05	1.17 ± 0.01* ** p < 0.05	1.0 ± 0.03* ** p < 0.05

Обозначения: \* p < 0.05 между всеми группами, \*\* p < 0.05 между группами ГБ и ГБ + дислипидемия

При оценке уровня окислительной модификации белков были выявлены следующие различия: уровень АДФГн здоровых был меньше АДФГн остальных групп в 4.3 раза. Уровень АДФГо и КДФГо здоровых по сравнению с группой пациентов с ГБ был меньше в 4.5 раза, а по сравнению с группой пациентов с дислипидемией на фоне ГБ – в 6.5 и 10 раз соответственно. Также определены статистически значимые различия между группами больных: в группе пациентов с дислипидемией были достоверно выше показатели АДФГо и КДФГо, что подтверждает активизацию в данной группе общего окислительного потенциала, а также говорит о тенденции к истощению адаптивных возможностей организма (табл. 2).

При оценке уровня СОД были выявлены достоверные различия во всех группах. Самая низкая активность СОД среди групп наблюдалась у пациентов с дислипидемией (рис. 1).

При оценке корреляционных связей между ОМБ и показателями липидного профиля выявлено следующее: между уровнем КДФГн и ОХС, ТГ определялась достоверная положительная связь, а уровнем ЛПВП – достоверно отрицательная (табл. 3).

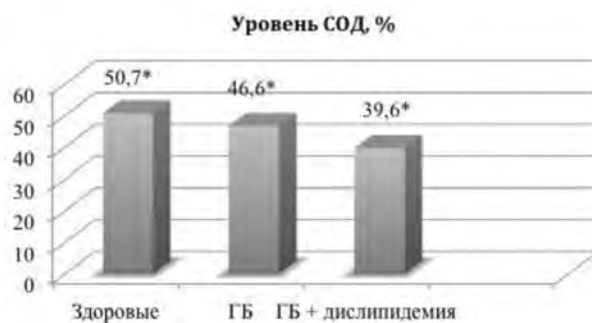


Рис. 1. Определение уровня СОД у обследуемых групп

Выявлены достоверные корреляционные связи между уровнем СОД и уровнем АДФГо и КДФГо, подтверждающие этапность свободно-радикального окисления (табл. 4).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом установлено, что у пациентов обеих групп достоверно выше активность свободно-радикального окисления по сравнению со здоровыми лицами.

Таблица 2

Уровень окисленных модифицированных белков, активности СОД у обследуемых

Показатель	Здоровые (n=30)	ГБ (n=60)	ГБ + дислипидемия (n=60)
АДФГн, мг/мл	4,93 ± 0,2* p < 0,05	21,3 ± 0,4* p < 0,05	22,36 ± 0,6* p < 0,05
АДФГо, мг/мл	2,07 ± 0,12* p < 0,05	9,6 ± 0,26* ** p < 0,05	11,85 ± 0,68* ** p < 0,05
КДФГн, мг/мл	4,24 ± 0,22* p < 0,05	17,8 ± 0,19* p < 0,05	19,1 ± 0,68* p < 0,05
КДФГо, мг/мл	0,89 ± 0,07* p < 0,05	4,8 ± 0,2* ** p < 0,05	6,87 ± 0,56* ** p < 0,05

Обозначения: \* p < 0.05 между всеми группами, \*\* p < 0.05 между группами ГБ и ГБ + дислипидемия

Таблица 3

Корреляция ОМБ и показателей липидного профиля

Показатель	АДФГн	АДФГо	КДФГн	КДФГо
ОХС	r = - 0.55	r = 0.56	r = 0.75 p < 0.05	r = 0.37
ЛПНП	r = 0.07	r = 0.65	r = 0	r = - 0.4
ТГ	r = 0.43	r = - 0.25	r = 0.89 p < 0.05	r = 0.57
ЛПВП	r = 0.09	r = - 0.6	r = - 0.84 p < 0.05	r = - 0.07

Таблица 4

Корреляция ОМБ и активности СОД

Показатель	АДФГн	АДФГо	КДФГн	КДФГо
СОД	r = - 0.1	r = - 0.91 p < 0.05	r = - 0.08	r = 0.81 p < 0.05

Процессы ОМБ и перекисного окисления липидов тесно взаимосвязаны за счет снижения активности антиоксидантной системы.

Показатели ОМБ значимо коррелируют с показателями липидного профиля, что, возможно, и определяет выраженность атерогенеза при ГБ.

Определение ОМБ может быть интегральным маркером метаболических нарушений при ГБ.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Житникова Л.М. Артериальная гипертензия: курс на эффективное комбинированное лечение // РМЖ. – № 26. – С. 1667.

2. Павлова О.С. Современные возможности эффективной сердечно-сосудистой профилактики у пациентов с артериальной гипертензией и дислипидемией // Мед. новости. — 2012. — № 1. — С. 62–68.

3. Кузин А.И., Чередникова М.А., Васильев А.А. и др. Артериальная гипертензия и сахарный диабет типа 2 у больных метаболическим синдромом: особенности влияния на липидный спектр // Артериальная гипертензия. — 2003. — Т. 9, № 2. — С.67–70.

4. Кухарчук В.В. Липидно-инfiltrационная теория. Действительно ли меняется сценарий? // Кардиологический вестник. — 2009. — № 1. — С. 60–61.

5. Ланкин В.З. О роли свободных радикалов в атерогенезе // Кардиологический вестник. — 2009. — № 1. — С. 62–63.

6. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А. и др. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы мед. химии. — 1995. — № 1. — С. 24–26.

*Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко*

*Котова Ю. А., аспирантка кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики*

*E-mail: kotova\_u@inbox.ru*

*Тел. 8(929)-010-71-07*

*Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко*

*Kotova Y. A., post-graduate student of the polyclinic therapy and general practice department*

*E-mail: kotova\_u@inbox.ru*

*Ph.: 8(929)-010-71-07*

*Зуйкова А. А., д.м.н., проф., заведующая кафедрой поликлинической терапии и общей врачебной практики*

*E-mail: polterap@vsmaburdenko.ru*

*Тел.: 8(920)-454-55-85*

*Zuikova A. A., doctor of medical sciences, professor, chief of the polyclinic therapy and general practice department*

*E-mail: polterap@vsmaburdenko.ru*

*Ph.: 8(920)-454-55-85*

*Пашков А. Н., д.м.н., проф., заведующая кафедрой биологии*

*E-mail: biologygma@yandex.ru*

*Тел. (473) 253-03-65*

*Pashkov Alexandr N., doctor of biological sciences, professor, chief of biology department*

*E-mail: biologygma@yandex.ru*

*Ph. (473) 253-03-65*