

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ЕПІДИДИМІТ

Є.А. Литвінець¹, В.Р. Балабанік²

¹ ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

² НВМКЦ «Головний Військовий Клінічний Госпіталь»

Вступ. Фізіологічна антиоксидантна система (АОС) є сукупністю захисних механізмів клітин, тканин, органів і систем, які направлені на збереження і підтримку у межах норми реакцій організму [1]. Більшість авторів визначають антиоксиданти як речовини, які присутні в малій кількості і суттєво інгібують процеси окислення [2]. АОС складається з двох основних механізмів – неферментативного та ферментативного. В урологічній практиці неферментативну ланку оцінюють за показниками вмісту α -токоферолу, глутатіону, сульфгідрильних груп, аскорбінової кислоти та деяких інших сполук. Ферментативний механізм реалізує свою дію через активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (К), пероксидази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та церулоплазміну [1, 2].

Супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1) – ензим групи антиоксидантних ферментів. Разом з каталазою та іншими антиоксидантними ферментами вона захищає організм від високотоксичних кисневих радикалів. Споживання молекулярного кисню клітинами супроводжується утворенням проміжних продуктів, такі як супероксид-аніон радикал (O_2^-), перекис водню (H_2O_2) і гідроксильний радикал ($HO\cdot$). Ферменти родини супероксиддисмутази каталізують перетворення O_2^{2-} в H_2O_2 та O_2 , тобто: $O_2^- + O_2^- = H_2O_2 + O_2$. Перекис водню, в свою чергу, піддається дії каталази та пероксидази. Ензими мають активні центри, які містять або купрум або цинк (Cu/Zn-супероксиддисмутаза), або ферум (Fe-супероксиддисмутаза), або манган (Mn-супероксиддисмутаза), або нікель (Ni-супероксиддисмутаза). Супероксиддисмутаза каталізує дисмутацію супероксиду в кисень і перекис водню. Таким чином, вона відіграє найважливішу роль в антиоксидантному захисті практично всіх типів клітин, що так або інакше знаходяться у контакті з киснем. Існують дві головні форми СОД. Одна з них: СОД¹ містить іони міді та цинку (Cu, Zn-СОД) і наявна в цитоплазмі клітини. Друга форма: СОД² – марганецьвмісний фермент, який наявний у мітохондріальному матриксі (Mn-СОД). Cu, Zn-СОД бере участь у внут-

рішньоклітинному (цитоплазматичному) знешкодженні АФК [1, 3, 6, 11, 15].

Каталаза (КФ 1.11.1.6) – це гемопротеїн, який каталізує реакцію розкладання перекису водню на воду і молекулярний кисень: $H_2O_2 + H_2O_2 = O_2 + 2H_2O$.

Біологічна роль цього ферменту полягає в деградації перекису водню, що утворюється в клітинах у результаті дисмутації супероксиду і забезпеченні ефективного захисту клітинних структур від руйнування під дією перекису водню. Каталаза є високоефективним ферментом, що не вимагає енергії для активації [3, 4, 14]. Молекула каталази складається з 4 субодиниць, кожна з яких містить гем, що входить до складу активного центру. До активного центру йде вузький канал, який запобігає проникненню більш великих молекул ніж H_2O_2 . Каталаза переважно локалізована в пероксисомах, позаклітинно вона існує в незначних концентраціях [4–7]. У людини найбільша кількість каталази знаходиться в печінці, в еритроцитах та легенях [8].

Важлива роль мікроелементів (МЕ) у життєдіяльності людського організму не викликає сумнівів. Вивчення мікроелементного статусу при різних захворюваннях становить особливу цікавість. Згідно з сучасним уявленням, кожній патології властиві певні відхилення в елементному складі. При цьому дисбаланс елементного гомеостазу не просто супроводжує, а й провокує розвиток різноманітних захворювань, потенціуює протікання, переводить їх у хронічну форму [1]. Так, цинк – життєво важливий елемент, один із найпоширеніших мікроелементів організму, кількісно – другий після заліза. Цинк входить до складу більше 300 металоферментів. Цинк необхідний для функціонування ДНК-та РНК-полімераз, що контролює процеси передачі спадкової інформації та біосинтезу білків, а тим самим і репаративних процесів в організмі; а також ферменту ключової реакції біосинтезу гема, що входить до структури гемоглобіну, цитохромів дихальних ланцюгів мітохондрій, цитохрома P-450, каталази і мієлопероксидази. Цинк входить до структури ключового антиоксидант-

ного ферменту – (Zn, Cu) – супероксиддисмутази, що індукує біосинтез захисних білків клітин – металотіонеїнів. Таким чином цинк є антиоксидантом репаративної дії. Функціональними антагоністами цинку є мідь, кадмій, свинець, особливо на тлі дефіциту білка.

Мідь – каталітичний компонент ряду ферментів і структурний компонент багатьох важливих білків. Ключовий орган метаболізму міді – печінка, де вона включається в Cu-вмісні ферменти та інші білки, концентрація вільної міді в цитоплазмі надзвичайно низька. Понад 90% міді транспортується з печінки в периферичні тканини в комплексі з церулоплазміном. Більшість Cu-вмісних білків є оксидазами, локалізуються на поверхні клітинних мембран або в везикулах. Мідь відіграє важливу роль в антиоксидантному захисті організму, оскільки разом з цинком входить до структури тканинного антиоксидантного ферменту – супероксиддисмутази та антиоксидантного білка плазми крові – церулоплазміну, який є переносником цього металу. Мідь має протизапальні та антисептичні властивості (можливо, за рахунок антиоксидантної дії).

При різних патологіях відбувається порушення окисновідновного гомеостазу. Збільшується кількість вільних радикалів і перекису водню. Перекис водню впливає на такі клітинні мішені, як ліпіди, білки, нуклеїнові кислоти, викликає їх деградацію та ініціює розвиток окисного стресу [8]. Фермент каталази, як основна ланка захисту організму від перекису водню при різних патологіях, по-різному проявляє свою активність. При деяких випадках активність каталази збільшується, наприклад у випадку шизофренії [13], кардіоміопатії [9] та печінкової недостатності [10] 1,5–2 рази порівняно з контрольною групою. В інших випадках (розвиток новоутворень, цукровий діабет) активність ферменту зменшується у 2 рази порівняно з контролем [11, 12].

Мета дослідження: вивчити стан систем антиоксидантного захисту та вмісту есенціальних мікроелементів Zn і Cu у хворих на гострий епідидиміт.

Матеріали і методи дослідження. Для визначення активності ферментів антиоксидантної системи та есенціальних мікроелементів обстежено 120 хворих на гострий епідидиміт (ГЕ), яким було проведено лікування у клініці урології НВМКЦ «ГВКГ». Пацієнти були розподілені на 3 групи. I група – 40 хворих із гострим епідидимітом, яким було проведено лікування згідно із протоколом, II група – 40 хворих із гострим епідидимітом, яким до комплексу лікування

включено антибіотик офлоксацин, III група – 40 хворих із гострим епідидимітом, до комплексу лікування яких було включено антибіотик офлоксацин, аргінін та свічки, що містять стрептокіназу 15 000 МО та стрептодорназу 1250 МО. Групу контролю становили 20 практично здорових осіб.

Активність СОД визначали шляхом використання системи, що забезпечує відновлення нітросинього тетразолію.

Активність каталази визначали за кількістю незруйнованого пероксиду водню в інкубаційному середовищі за А. Бахом і С. Зубковою.

Мікроелементи цинк та мідь у цільній крові визначали методом атомно-абсорбційної спектроскопії на апараті С-115 ПК.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили на персональному комп'ютері, 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 (використовуючи t-критерій Стьюдента). За вірогідну вважали різницю середніх величин при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. У даному дослідженні ми вивчили зміни стану прооксидантно-антиоксидантних процесів у хворих на гострий епідидиміт. Також провели комплексний аналіз рівня есенціальних мікроелементів Zn і Cu у крові хворих на ГЕ, що також є елементами антиоксидантного захисту, та встановили їх значення як додаткових маркерів активності запального процесу. Результати відображено у табл. 1.

Аналізуючи отримані результати встановили, що на початку захворювання знижуються активність ферментів АОЗ: супероксиддисмутази і каталази та рівень цинку, а рівень міді дещо підвищується порівняно з групою контролю. Протягом лікування ми спостерігали тенденцію до підвищення активності ферментів і рівня цинку та помірне зниження міді. Найкраща динаміка вирівнювання цих показників спостерігалась у пацієнтів III групи. Лише у пацієнтів III групи, що отримували запропоновану нами схему терапії різниця показників АОЗ у процесі лікування була статистично значимою і достовірною (рис. 1, 2, 3).

З метою встановлення взаємозв'язків між вмістом Zn, Cu, та показників АОЗ нами проведено кореляційний аналіз між вмістом даних МЕ в крові та рівнями каталази та супероксиддисмутази. Аналізуючи отримані результати, вияв-

Рівень елементів антиоксидантного захисту у крові хворих на гострий епідидиміт на початку лікування та в динаміці – на 15-й день лікування (M ± m)

Показник	Група контролю (n=20)	I група (n=40)		II група (n=40)		III група (n=40)	
		На початку лікування	На 15-й день лікування	На початку лікування	На 15-й день лікування	На початку лікування	На 15-й день лікування
Активність СОД, %	64,25±2,31	42,27±2,67 p<0,05	50,30±2,24 P<0,05	43,75±2,89 p<0,05	53,25±2,82 P<0,05	42,42±1,13 p<0,05	57,90±3,01 P<0,05
Каталаза, мг H ₂ O ₂ /мл	12,33±1,16	8,36±0,83 p<0,05	9,21±0,62 P>0,05	8,41±0,44 p<0,05	10,11±0,82 P>0,05	8,03±0,27 p<0,05	11,25±1,06 P<0,05
Рівень Zn, мг/л	7,00±0,81	4,30±0,45 p<0,05	4,76±0,33 P>0,05	4,27±0,22 p<0,05	4,91±0,27 P>0,05	3,96±0,71 p<0,05	5,56±0,99 P<0,05
Рівень Cu, мг/л	0,81±0,02	1,62±0,06 p<0,05	1,22±0,41 P>0,05	1,62±0,09 p<0,05	1,18±0,11 P>0,05	1,58±0,02 p<0,05	1,06±0,02 P<0,05

Примітки:

p – ступінь достовірності різниць показників АОЗ щодо контролю (на початку лікування);

P – ступінь достовірності різниць показників АОЗ у групах до і після лікування.



Рис. 1. Рівень активності СОД у сироватці крові (%) Примітки: p – ступінь достовірності різниць показників активності СОД щодо контролю (на початку лікування); p<0,05 у всіх групах хворих

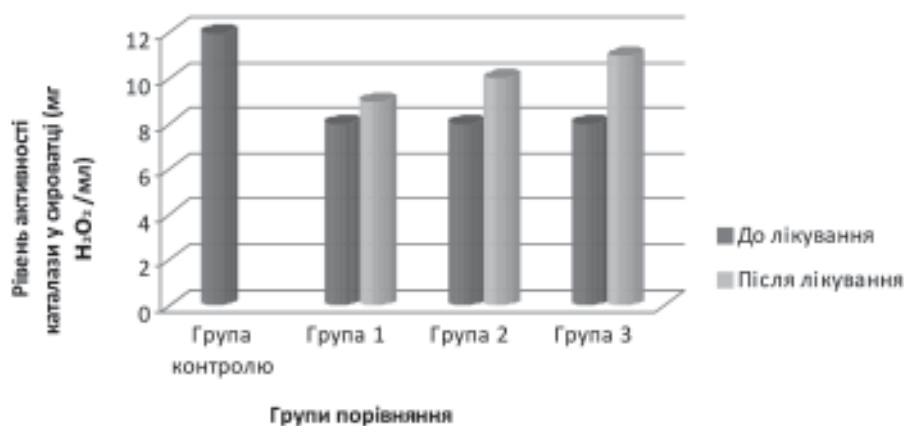


Рис. 2. Рівень активності каталази у сироватці крові (мг H₂O₂/мл). Примітки: p – ступінь достовірності різниць показників активності каталази щодо контролю (на початку лікування); p<0,05 у всіх групах хворих

лено, що між вмістом Zn, Cu в крові та ферментами АОЗ встановлена достовірна залежність.

Отже, узагальнюючи дані літератури і результати наших досліджень, можна зробити

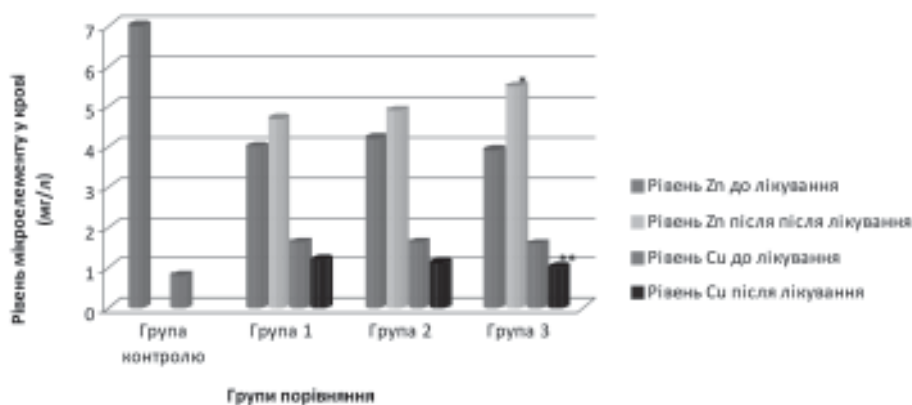


Рис. 3. Рівень Zn і Cu у крові хворих на GE (мг/л). Примітки:
 $p_{Zn} < 0,05$ — вірогідність різниць показників Zn на початку лікування щодо контролю; $p_{Cu} < 0,05$ — вірогідність різниць показників Zn на початку лікування щодо контролю; * $P_{Zn} < 0,05$ у III групі хворих; ** $P_{Cu} < 0,05$ у III групі хворих

припущення, що дефіцит цинку та надлишок міді у хворих на GE сприяє зниженню антиоксидантного захисту, що призводить до подальшого прогресування та хронізації патологічного процесу.

Висновки

У хворих на гострий епідидиміт спостерігається зниження активності ферментів антиоксидантного захисту щодо норми та групи кон-

тролю. Протягом лікування та на момент одужання ці показники покращуються. Це вказує на виснаження ферментативного ланцюга антиоксидантного захисту у даної категорії хворих, що вимагає відповідної корекції при лікуванні. Визначення рівнів мікроелементів цинку та міді у крові хворих на гострий епідидиміт має значення як додаткових маркерів активності запального процесу.

Список літератури

1. Литвинець Є.А. Стан перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту при патології сечовидільної системи та доцільність використання біофлавоноїдів у комплексному лікуванні / Є.А. Литвинець, М.В. Зеляк, Д.Б. Соломчак [та ін.] // Галицький лікарський вісник. — 2004. — № 3. — С. 110–113.
2. Литвинець Є.А. Динаміка перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в лікуванні хворих на хронічний абактеріальний простатит з використанням фітопрепаратів // Здоров'я чоловіка. — 2009. — № 4. — С. 76–78.
3. Чеснокова Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Современные проблемы науки и образования. — 2006. — № 6. — С. 21–26.
4. Vetrano A.M. Characterization of the Oxidase Activity in Mammalian Catalase / A.M. Vetrano, D.E. Heck, T.M. Mariano, V. Mishin, D.L. Laskin, J.D. Laskin // The Journal of Biological Chemistry. — 2005. — V. 280(42). — P. 35372–35381. doi: 10.1074/jbc.m503991200
5. Мирошниченко О.С. Биогенез, физиологическая роль и свойства каталазы / О.С. Мирошниченко // Биополимеры и клетка. — 1992. — Т. 8, № 6. — С. 3–26.
6. Подколзин А.А. Система антиоксидантной защиты организма и старение / А.А. Подколзин, А.Г. Мегреладзе и др. // Профилактика старения. — 2000. — № 3. — С. 288.
7. Jakopitsch Ch. Redox Intermediates in the Catalase Cycle of Catalase-Peroxidases from *Synechocystis* PCC 6803, *Burkholderia pseudomallei*, and *Mycobacterium tuberculosis* / Ch. Jakopitsch, J. Vlasits, B. Wiseman, P.C. Loewen, C. Obinger // Biochemistry. — 2007. — V. 46 (5). — P. 1183–1193. doi: 10.1021/bi062266
8. Venkat R.D. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective / R.D. Venkat, D.D. Ankola, V.K. Bhardwaj, D.K. Sahana, M.N.V. Ravi Kumar // Journal of Controlled Release. — 2006. — V. 113 (13). — P. 189–207. doi: 10.1016/j.jconrel.2006.04.015
9. Коношенко С.В. Характеристика отдельных биохимических показателей эритроцитов человека при кардиомиопатии / С.В. Коношенко, Илиас Шушуа, В.А. Ивашов // Серия «Биология, химия». — 2010. — Т. 23 (62), № 1. — С. 48–51.

10. Соловьев Н.А. Экспериментально-клиническое исследование действия мексидола при некоторых патологиях. Выяснение возможной локализации и механизма действия / Н.А. Соловьев, В.В. Яснецов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – № 1. – С. 230–241.

11. Пашкевич И.В. Динамика показателей перекисного окисления липидов в сыворотке крови под влиянием производных 3-оксипиридина при индуцированных и перевиваемых неоплазиях / И.В. Пашкевич, Е.О. Букаева и др. // СТМ. – 2011 – Т. 3. – С. 110–112.

12. Скворцова Е.А. Влияние липоевой кислоты и токоферола на показатели окислительного стресса в тканях тонкого кишечника крыс с аллоксановым диабетом / Е.А. Скворцова, И.В. Вольхина и др. // Биология. Науки о Земле. – 2014. – № 1. – С. 166–169.

13. Meerson F.Z. Catalase / F.Z. Meerson, M.E. Evstigneeva, E.E. Ustinova // *Pat. Physiol. Exp. Therap.* – 1983. – V. 5. – P. 25–29.

14. Zamocky M. Evolution of Catalases from Bacteria to Humans / M. Zamocky, P.G. Furtmüller, Ch. Obinger // *Antioxidants & Redox Signaling.* – 2008. – V. 10 (9). – P. 1527–1548. doi: 10.1089/ars.2008.2046.

15. Опейда Й., Швайка О. Глосарій термінів з хімії. – Донецьк: Вебер, 2008. – 758 с.

Реферат

И С С Л Е Д О В А Н И Е АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЭПИДИДИМИТОМ

Е. А. Литвинец, В.Р. Балабаник

В нашем исследовании была выполнена попытка выяснения диагностической и прогностической значимости уровня антиоксидантной защиты у больных острым эпидидимитом (ГЭ) в течение лечения. Во всех обследованных пациентов до лечения обнаружили снижение активности ферментов каталазы (КА) и супероксиддисмутазы (СОД). В период поступления в стационар у всех больных ОЭ уровни активности ферментов СОД и КА оказались сниженными, что свидетельствует о высоком оксидативном стрессе и активизации системы антиоксидантной защиты при данном заболевании. Во время лечения эти показатели постепенно повышались. Полученные данные могут быть использованы для мониторинга эффективности лечения больных. Также мы исследовали уровни эссенциальных микроэлементов цинка и меди, которые являются элементами антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: острый эпидидимит, активированные формы кислорода, оксидативный стресс, антиоксидантная защита, супероксиддисмутаза, каталаза, цинк, медь.

Адреса для листування

В.Р. Балабаник
E-mail: basil_bvr@i.ua

Summary

STUDY OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN PATIENTS WITH ACUTE EPIDIDYMITIS

Ye. A. Litvinets, V.R. Balabanyk

In our study an attempt was made to find out the diagnostic and predictive value of antioxidant protection in patients with acute epididymitis (AE) during treatment. All patients examined before treatment showed a decrease in the activity of catalase enzymes (CA) and superoxide dismutase (SOD). At the time of admission to the hospital in all patients with AE, the levels of activity of SOD and CA enzymes were reduced, indicating a high oxidative stress and activation of the antioxidant defense system in this disease. During treatment, these rates gradually increased. The data obtained can be used to monitor the effectiveness of patients' treatment. We also investigated the levels of essential elements of zinc and cuprum, which are also elements of antioxidant protection.

Keywords: acute epididymitis, activated forms of oxygen, oxidative stress, antioxidant defense, superoxide dismutase, catalase, zinc, cuprum.