

УДК 577.112:617.7-007.681

## ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ГЛАУКОМОЙ

Т.И. Залесская<sup>1</sup>, В.В. Авер<sup>2</sup>, К.А. Мандрик<sup>2</sup><sup>1</sup> Мед. служба ОАО «Гродно АЗОТ»<sup>2</sup> Гродненский государственный университет имени Я. Купалы

*В статье представлены результаты исследования перекисного окисления белков (ПОБ), степени фрагментации окисленных белков (СФОБ) и количества тирозинсодержащих пептидов (эндогенная интоксикация) в плазме крови больных глаукомой людей. Выявлено увеличение повреждения протеинов в результате интенсификации свободнорадикальных процессов и усиление выраженности эндогенной интоксикации у больных с глазной патологией.*

**Ключевые слова:** глаукома, перекисное окисление белков, степень фрагментации окисленных белков, тирозинсодержащие пептиды.

*The article presents the results of study of protein peroxidation, the degree of oxidized proteins fragmentation and the level of proteins containing tyrosine (endogenous intoxication) in plasma of patients with glaucoma. The increase of insult to proteins as a result of free radical processes intensification and the enhancement of endogenous intoxication manifestation have been revealed in patients with ocular pathology.*

**Key words:** glaucoma, peroxidation, degree of oxidized proteins fragmentation, tyrosine-containing proteins.

Одна из наиболее грозных патологий органа зрения – глаукома, несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении глазных болезней, остаётся причиной слепоты каждого пятого инвалида по зрению [9]. Поэтому актуальным является понимание сложной природы патогенеза заболевания. В последние десятилетия усилия клиницистов и экспериментаторов сосредоточены на выяснении роли свободных радикалов в возникновении и развитии глаукомы.

Согласно имеющимся в литературе данным, при этой патологии наблюдается аномально высокая концентрация активных прооксидантов в водянистой влаге и понижение активности собственной антиоксидантной системы в трабекулярной ткани, шлеммовом канале и водянистой влаге [3, 18, 19, 20]. На снижение защитных способностей тканей глазного яблока против окислительного стресса указывают ряд авторов [1, 2, 5]. По мнению Ю.А. Владимирова [4], наряду с окислительным стрессом происходит истощение такого естественного антиоксиданта, как глутатион в водянистой влаге и трабекулярной ткани глаза уже в начальной стадии первичной открытоугольной глаукомы и нарастание его дефицита по мере прогрессирования болезни в развитую и далеко зашедшую формы.

Свободные радикалы участвуют в модификации не только липидов-основы биомембран, но и других важных макромолекул, таких как нуклеиновые кислоты, белки, углеводы [17]. Важным субстратом свободнорадикальной модификации в условиях сниженной антиоксидантной защиты являются белки, окисленные формы которых можно рассматривать как один из ранних признаков окислительного поражения клеток органов и тканей. Наиболее чувствительными к действию активи-

рованных кислородных метаболитов оказались липопротеины. К настоящему времени более детально изучены изменения компонентов жирового обмена под влиянием свободных форм кислорода и вторичных активных радикалов при многих заболеваниях, в том числе и при глаукоме. Однако в доступной литературе отсутствуют сведения по окислительной модификации белков при этой патологии. Поэтому целью данного исследования было изучение состояния окислительной модификации белков плазмы крови больных глаукомой, определение степени фрагментации окисленных протеинов, а также выявление наличия эндогенной интоксикации в организме обследованных людей.

### Материалы и методы

Всего обследовано 33 пациента в возрасте от 19 до 62 лет. Из них у 17 диагноз открытоугольная глаукома IА-IIIА и В, 16 человек составили контрольную группу без патологии органа зрения.

Кровь из локтевой вены брали во время очередного профосмотра. Антикоагулянт – цитрат натрия. Полученную плазму замораживали и хранили в холодильнике при -10-15°С до определения в ней перекисного окисления белков (ПОБ), степени фрагментации окисленных белков (СФОБ), эндогенной интоксикации.

Перекисное окисление белков исследовали по методу, описанному в работах [6, 13], степень фрагментации окисленных протеинов по [12], степень эндогенной интоксикации как указано в статье [10]. Белок определяли микробиуретовым методом [14].

Полученные данные подвергали статобработке с нахождением коэффициента Стьюдента [8]. Достоверными считали различия между сравниваемыми группами при значениях  $p \leq 0,05$ .

**Таблица 1.** Спонтанное и металл-катализируемое ПОБ плазмы крови (ед.опт.пл. х г<sup>-1</sup>белка) здоровых и больных глаукомой людей (M±m)

	Спонтанное ПОБ		Металл-катализируемое ПОБ	
	λ=270нм	λ=363нм	λ=270нм	λ=363нм
Здоровые (n=16)	480,61 ±4,98	125,31 ±10,58	954,78 ±22,00	651,86 ±13,02
Больные глаукомой (n=17)	530,66 ±6,00	177,84 ±5,59	1034,40 ±28,63	660,41 ±18,60
p, к 2	<0,01	<0,01	>0,05	>0,2

### Результаты и их обсуждение

Как видно из таблицы 1, у людей, болеющих глаукомой увеличено количество спонтанно окисленных белков, регистрируемых как при λ=270 нм, так и 363 нм. Инициация окислительной модификации белков средой Фентона показала низкие резервные возможности организма, поскольку прироста количества металл-катализируемого окисления протеинов плазмы крови при этом не наблюдалось.

Окислительная модификация протеинов связана с изменением их структурной организации, следствием которой является фрагментация с образованием низкомолекулярных компонентов, или, наоборот, агрегацией белковых молекул [17]. Оценка степени спонтанной фрагментации окисленных белков плазмы крови выявила прирост количества модифицированных протеинов, регистрируемых при λ=254 и 270 нм (табл. 2). Металл-катализируемая степень фрагментации окисленных белков (табл. 2) также была выше при λ=254, 270 и 280нм.

**Таблица 2.** Степень фрагментации окисленных белков (ед.опт.пл. х г<sup>-1</sup>белка) плазмы крови здоровых и больных глаукомой людей. M±m.

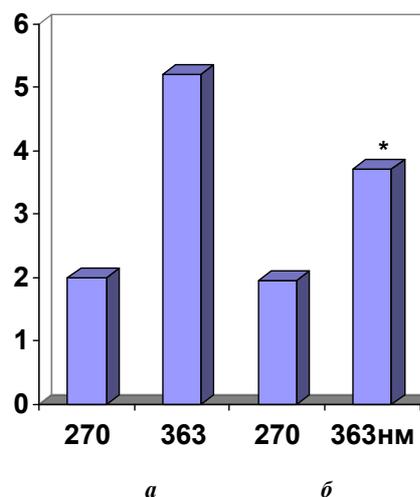
	Спонтанная ФОБ			Металл-катализируемая ФОБ		
	λ=254нм	λ=270нм	λ=280нм	λ=254нм	λ=270нм	λ=280нм
Здоровые (n=16)	919,91 ±19,51	205,01 ±8,25	138,14 ±4,85	1197,93 ±23,84	356,28 ±5,23	233,24 ±5,36
Больные глаукомой (n=17)	1095,33 ±11,66	245,25 ±5,71	156,44 ±3,71	1342,13 ±19,18	422,23 ±8,44	279,45 ±4,66
p, к 2	<0,001	<0,02	>0,01	>0,001	<0,001	<0,001

На нарушение антирадикальной и антиперекисной защиты организма при глаукоме указывают [3, 7, 15, 16]. Так, имеются данные, что у больных глаукомой возрастало количество глутатиона во влаге передней камеры глаз, причём увеличение шло, в основном, за счёт окисленной формы, являющейся наиболее токсичной. Возрастала также и уровень малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы и падала скорость расщепления перекиси водорода каталазой.

Отмечено также увеличение в слёзной жидкости больных глаукомой продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой, что, по мнению автора,

свидетельствует о выраженности процессов перекисного окисления липидов, по крайней мере, на местном уровне [11].

Полученные нами данные по перекисному окислению белков плазмы крови больных глаукомой указывают на нарушение у них антиоксидантного статуса. При этом снижаются резервы физиологической защиты организма от свободных радикалов. Определение коэффициента отношения стимулированное/спонтанное ПОБ (рис. 1) показало существенное падение (в 1,4 раза) его для продуктов ПОБ, регистрируемых при λ=363 нм (кетондинитрофенилгидразонов).



**Рис. 1.** Отношение стимулированное/спонтанное ПОБ плазмы крови здоровых людей (а) и больных глаукомой (б). \* – достоверные изменения

Антиоксидантная система организма (АОС) складывается из многих компонентов. В частности, АОС осуществляет связывание свободных радикалов, предотвращает образование перекисей или инициирует их разрушение. АОС состоит из неферментативного звена – водорастворимых низкомолекулярных соединений (тиолы, аскорбиновая кислота) и жирорастворимых (витамины А, К, Е, Р, убихинон и др.) веществ. Другая ее составляющая – ферментативная, включающая оксидоредуктазы (глутатионредуктаза), ферменты, разрушающие перекиси (глутатионпероксидаза, супероксиддисмутатаза и др. энзимы).

Оценка в плазме крови здоровых и больных глаукомой людей количества тирозинсодержащих пептидов (рис. 2), характеризующих эндогенную интоксикацию, обусловленную избыточным образованием и накоплением в крови токсических продуктов метаболизма, выявила достоверное (на 27%; p<0,001) увеличение их у лиц с повышенным внутриглазным давлением, что может быть частью (компонентой) патогенеза глаукомы.

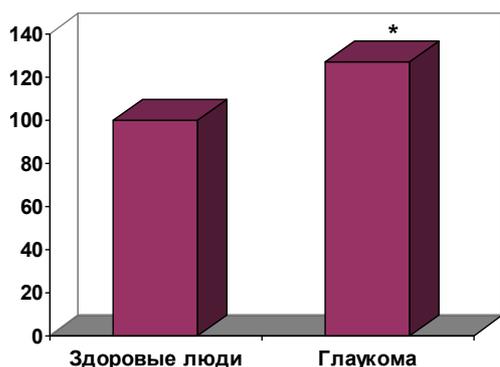


Рис. 2. Количество тирозин-содержащих пептидов (в %) в плазме крови здоровых и больных глаукомой людей.

\* – достоверные изменения

### Выводы

1. У больных глаукомой обнаружено повреждение белков плазмы крови свободнорадикальными процессами, проявившееся в увеличении количества спонтанно окисленных форм и, как следствие, снижении отношения стимулированное/спонтанное ПОБ в 1,4 раза, регистрируемое при  $\lambda=363$  нм.

2. Имеется снижение антиоксидантного статуса организма у лиц, страдающих глаукомой, выражающееся в повышении степени фрагментации окисленных белков, определяемых при  $\lambda=254, 270$  и  $280$  нм.

3. Выявлено наличие эндогенной интоксикации в организме при данной патологии, заключающейся в достоверном увеличении количества тирозин-содержащих пептидов плазмы крови на 27% ( $p<0,001$ ).

### Литература

1 Архипова, М.М. Патогенетические принципы терапии ишемии сетчатки при некоторой сосудистой патологии глазного дна на основе изучения роли оксида азота / М.М. Архипова, А.Ф. Ванин // Вестн. офтальмологии. -2001.-№1.-с.51-53.

2 Бунин, А.Я. К проблеме патогенеза и лечения разновидностей первичной открытоугольной глаукомы / А.Я.Бунин, А.А. Яковлев // Глаукома. -2003.-№3.-с.3-6.

3 Бунин, А.Я. Об участии перекисного окисления липидов в деструкции дренажной системы глаза при первичной открытоугольной глаукоме / А.Я. Бунин, М.А. Бабижаев, А.В. Супрун // Вестн. офтальмологии.-1985.-№2.-с.13-16.

4 Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю.А. Владимиров // Вестн. РАМН.-1998.-№7.-с.43-52.

5 Влияние гомеопатической терапии на биохимические показатели сыворотки крови больных открытоугольной глаукомой / Н.Б. Чесноков [и др.]// Глаукома.-2002.-№1.-с.35-38.

6 Вьюшина, А.В. Перекисное окисление белков сыворотки крови у крыс селективированных по скорости выработки условного рефлекса активного избегания, в норме и при стрессе /Вьюшина А.В., Герасимова И.Г., Флеров М.А. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2003. Т. 133. № 3. С. 286-288.

7 Курьшева, Н.И. Роль свободнорадикальных реакций камерной влаги в развитии первичной открытоугольной глаукомы / Н.И. Курьшева, М.И. Винецкая, В.П. Еригов // Вестн. офтальмологии.-1996.-№4.-с.3-5.

8 Лакин, Г.Ф. Биометрия: Уч. пособие для биологических специальностей вузов /Лакин, Г.Ф. – М.: Высшая школа, 1980. - 293 с.

9 Либман, Е.С. Слепота и инвалидность вследствие офтальмопатологии у людей пожилого и старческого возрастов в России / Е.С. Либман, Е.В. Шахова // Сб. тр. Всеросс. Конф. «Геронтологические аспекты офтальмологии и VI Междунар. сем. по вопр. пожилых». – Самара, 2002.-с.427-428.

10 Лобко, Н.Ф. Тирозинсодержащие пептиды – новый индикатор эндогенной интоксикации организма / Н.Ф. Лобко, В.Б. Гаврилов, С.В. Конев // Вестн. НАН Беларуси . сер. мед.- биол. наук.-2003.-№4.-с.114-119.

11 Набиев, А.М. Оценка глутатионового статуса и активности ферментов антиоксидантной защиты при первичной закрытоугольной глаукоме /А.М. Набиев// Глаукома-2005.-№4.-с.10-12.

12 Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) /Дубинина Е.Е. [и др.] // Вопр. мед. химии. 2000. Т. 46. № 4. С. 398-409.

13 Перекисное окисление белков в тканях крыс после однократного облучения животных лазером / К.А. Мандрик [и др.] // Вестник ГрГУ.-2005.-сер2.-№2.с.-129-137.

14 Практикум по биохимии: учебн. пособие/ Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьёвой.-М.: Изд-во МГУ.-1989.-509с.

15 Филина, А.А. Антиоксидантная терапия первичной глаукомы / А.А. Филина // Вестн. офтальмологии.-1994.-№1.-с.33-35.

16 Филина, А.А. Влияние липоевой кислоты на компоненты глутатионового системы в лагримальной жидкости у пациентов с открытоугольной глаукомой / А.А. Филина, Н.Т. Давыдова, Е.М. Коломойцева // Вестн. офтальмологии.-1993.-№5.-с.5-7.

17 Davies, K.J.A. / K.J.A. Davies // J. Biol. Chem.-1987.-vol.262.-P.9895-9901.

18 Glutathione peroxidase of calf trabecular meshwork / Scott D. [et al]// Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.-1984.-Vol.25.-№1.-P.105-110.

19 Kahn, M. Glutathione in calf trabecular meshwork and its relation to aqueous humor outflow facility / M. Kahn, F. Giblin, D. Epstein // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.-1983.-Vol.24.- №9.-P.1283-1287.

20 Lipid hydroperoxide stress to trabecular meshwork cells / Bloom E. [et al]// Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.-1994.-vol.35. -№4 (Suppl).- P.1391.

Поступила 08.11.06