

© Коллектив авторов
УДК: 616.728.3-007.248-008.9

ВЛИЯНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ НА СТЕПЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ КОЛЕННОГО СУСТАВА

М.Г. Мещерякова¹, Я.Г. Трилис¹, Н.В. Кириллова¹, И.А. Мухин²

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия,
г. Санкт-Петербург (1)
Городская гериатрическая больница, г. Санкт-Петербург (2)

Остеоартроз коленного сустава сопровождается интенсификацией свободно-радикального окисления белков и липидов в плазме крови больных. Проведение специфической фармакотерапии приводит к значительному снижению содержания в исследуемом биоматериале карбонильных групп, алифатических альдегидных групп и малонового диальдегида, а также к повышению уровня общего белка у половины пролеченных больных до физиологической нормы. Полученные результаты позволяют рекомендовать данные показатели для использования в лабораторной диагностике с целью исследования глубины дегенеративно-дистрофического процесса в коленном суставе, а также контроля хода и оценки эффективности лечебных мероприятий.

Ключевые слова: *остеоартроз, прооксидантная система, окислительная модификация белков, свободнорадикальное окисление липидов.*

В настоящее время остеоартроз (ОА), является одним из наиболее широко распространенных заболеваний суставов. Согласно данным эпидемиологических исследований им страдают более 10 – 12% населения всех возрастов, а среди пациентов с патологией опорно-двигательного аппарата около 80% составляют именно больные остеоартрозом [7]. Прогрессирующая деструкция суставного хряща, пролиферативная реакция хрящевой и костной ткани, реактивный синовит, наблюдаемые при ОА, являются одной из причин преждевременной потери трудоспособности и инвалидизации, а также развития хронического болезненного синдрома, значительно снижающего качество жизни пациентов.

Длительное время лечение остеоартрозов ограничивалось применением обезболивающих и противовоспалитель-

ных препаратов. Широкое использование в прошлом кортикостероидов привело к тому, что их побочное действие являлось основной причиной смерти при данном заболевании. Кроме того время, длительный прием неселективных нестероидных противовоспалительных препаратов связан с риском развития серьезных побочных действий: гастропатии, нефропатии, анемии, лекарственной пневмонии, сердечно-сосудистой недостаточности, особенно у больных пожилого возраста [10, 12]. В связи с этим особую актуальность приобретает задача разработки новых методов лечебной коррекции ОА. В настоящее время имеются данные о регенерирующем влиянии препарата алфлутоп на хрящ, приводящее к росту высоты хряща и увеличению его плотности у ряда больных [3]. Другой проблемой современной ревматологии является поиск

наиболее адекватных маркеров, которые могут служить тестом не только глубины метаболических нарушений при костно-суставной патологии, но и использоваться для контроля хода и оценки эффективности лечебных мероприятий.

При ОА, как и при любом другом воспалительном процессе, происходит активация прооксидантных систем организма (ПОС), сопровождающаяся высвобождением большого количества активных форм кислорода (АФК) и интенсификацией, вследствие этого, свободно-радикального окисления биосубстратов, к которым относятся, в первую очередь, белки и липиды [1]. Исходя из вышесказанного, целью нашей работы является исследование влияния препаратов алфлутоп и дипроспан на интенсивность окислительной модификации белка (ОМБ) и свободно-радикального окисления (СРО) липидов в плазме крови больных ОА коленного сустава.

Материалы и методы

В работе было исследовано 130 пациентов (женщин) в возрасте от 40 до 60 лет, у которых был диагностирован остеоартроз коленного сустава 1-ой степени (40 человек), 2-ой степени (45 человек) и 3-ей степени (45 человек) согласно клинкорентгенологической классификации деформирующего остеоартроза по Н.С. Косинской и Д.Г. Рохлину [4]. Контрольная группа составляла 45 здоровых женщин в возрасте от 40 до 55 лет. Забор крови осуществляли в утренние часы натощак. В качестве антикоагулянта использовали гепарин. ОМБ оценивали по количеству входящих в их состав карбонильных групп: поздние маркеры окислительной деструкции белков – кетодинитрофенилгидразоны (КДФНГ), регистрировали при длине волны равной 370 нм, алифатические альдегидные группы (ААГ) основных аминокислот, ранние маркеры ОМБ, определяли в тех же пробах при длине волны равной 280 нм [2]. Степень модификации белков выражали в единицах оптической плотности, отнесенных на мг белка для ААГ или нмоль/мг для КДФНГ. Для оценки интенсивности СРО липидов измеряли

уровень карбонильных продуктов ПОЛ, активных по отношению к 2-тиобарбитуровой кислоте (ТБК) [8]. Содержание общего белка в плазме крови определяли по методу Лоури [11]. Методика лекарственной инъекционной терапии заключалась во введении, согласно разработанной схеме, внутрисуставно раствора алфлутопа и параартикулярно суспензии бетаметазона (дипроспан).

Статистическую обработку результатов анализа проводили с использованием программы Statistica 5,0 Windows.

Результаты и обсуждения

В литературных источниках накоплены многочисленные данные о первичности перекисного окисления белка и, как следствие, о ведущей роли ОМБ в развитии окислительного стресса [1]. В связи с этим, окислительная деструкция белков является наиболее ранним индикатором повреждения ткани, что и обосновывает изучение динамики образования продуктов ОМБ при различных патологических состояниях организма. Содержание КДФНГ в циркулирующих и тканевых белках является чувствительным и достаточно стабильным показателем их свободно-радикального повреждения. В то же время наличие в белках ААГ считается наиболее ранним маркером их окислительной деструкции. В результате исследования свободно-радикального окисления белков в плазме крови больных ОА коленного сустава было установлено значительное повышение количества КДФНГ и ААГ по сравнению с нормой у обследованных пациентов на всех стадиях болезни (табл. 1). Как видно из таблицы, повышение тяжести заболевания приводит к выявлению группы лиц, в плазме крови которых темпы ОМБ превышают скорости данного процесса, отмеченные у больных с более ранней стадией ОА. Так, среди обследованных с третьей стадией ОА обнаружена группа пациентов, характеризующаяся катастрофическим нарастанием содержания, как КДФНГ, так и ААГ в исследуемом материале.

Данные по ОМБ в плазме крови больных, полученные после проведения

медикаментозного лечения с использованием хондропротектора, представлены в таблице 2. Как видно из полученных результатов, среди пациентов, независимо от тяжести заболевания, отчетливо прослеживается тенденция к уменьшению количества больных, имеющих высокий уровень показателей, отражающих степень ОМБ. Кроме того, было выявлено увеличение числа обследованных, в плазме крови которых концентрация, как

КДНФГ, так и ААГ или приближается к физиологической норме или изменяется в сторону более низких значений. Проведение специфической фармакотерапии позволило также полностью исключить из числа больных с 1-ой и 2-ей стадией ОА третью и четвертую группы соответственно, отличающихся наиболее высоким содержанием ААГ в белках, подвергшихся окислительной модификации.

Таблица 1

Окислительная модификация белков в плазме крови больных остеоартрозом до лечения ($M \pm m$)

Индексы	Содержание КДНФГ, нмоль/мг белка	% больных	Содержание ААГ, D ₂₈₀ /мг белка	% больных
Здоровые	2,5±0,8	-	0,065± 0,002	-
1-ая стадия	5,65±0,6*	58,0	0,16±0,03*	30,0
	12,3±0,9*	42,0	0,26±0,02*	40,0
2-ая стадия	4,78±0,3*	33,3	0,08±0,002	8,3
	14,56±1,1*	58,3	0,18±0,003*	25,0
	34,85±1,4* °	8,4	0,48±0,03*	50,0
3-я стадия	4,87±0,58*	44,5	0,77±0,01* °	16,7
	13,49±1,51*	44,4	0,21±0,01*	33,3
	79,04±3,2* °	11,1	0,64±0,06* °	41,7
Условные обозначения: * - достоверность различий по сравнению с донорами (P < 0,05); ° – достоверность различий по сравнению с 1- стадией ОА.				

Таблица 2

Окислительная модификация белков в плазме крови больных остеоартрозом после лечения ($M \pm m$)

Индексы	Содержание КДНФГ, нмоль/мг белка	% больных	Содержание ААГ, D ₂₈₀ /мг белка	% больных
Здоровые	2,5±0,8	-	0,065± 0,002	-
1-ая стадия	3,6±0,1	68,0	0,13±0,02	35,6
	10,11±1,2*	32,0	0,26±0,02*	64,4
2-ая стадия	4,52±0,63	63,0	0,06±0,001	8,3
	15,19±1,59* •	34,7	0,12±0,02*	43,3
	31,97±2,2* °	2,3	0,39±0,02* •	48,4
3-я стадия	7,28±0,61*	65,6	0,24±0,02*	57,0
	14,38±1,85* •	24,3	0,58±0,04* °	41,7
	25,48±2,3* °	10,1	1,29±0,01* °	1,3
Условные обозначения: * - достоверность различий по сравнению с донорами (P < 0,05); ° и • – соответственно достоверность (P < 0,05) и тенденция (P < 0,01) различий по сравнению с 1- стадией ОА.				

Исследование содержания общего белка в плазме крови больных ОА показало, что активация процесса ОМБ протекает на фоне достоверного снижения его общей концентрации у 66-80% обследованных независимо от тяжести заболева-

ния (табл. 3.). Полученные нами результаты соответствуют имеющимся в литературе данным. Считается, что окисление белков приводит к их агрегации или фрагментации, а также увеличению скорости их гидролитического распада в

протеосомах, что и обуславливает в конечном итоге снижение концентрации общего белка в плазме крови [1].

После проведения медикаментозного лечения отмечено увеличение численности групп больных, у которых данный показатель в плазме крови регистрировался на уровне контрольных значений – 53%, 36% и 57% от общего количества

обследованных с 1-ой, 2-ой и 3-ей стадией ОА соответственно против 33%, 18% и 30% до лечения.

Поскольку белки, подвергшиеся окислительной модификации, могут выступать в качестве потенциального стимулятора перекисного окисления липидов, в плазме крови больных было исследовано содержание МДА (табл. 4).

Таблица 3

Содержание общего белка в плазме крови больных остеоартрозом (M±m)

Индексы	мг/мл	% больных	мг/мл	% больных
Здоровые	70 – 80			
До лечения			После лечения	
1-ая стадия	52,5±1,0*	66,7	58,9±0,5*	46,7
	66,8±2,5	33,3	68,7±2,2	53,3
2-ая стадия	52,5±0,8*	81,8	55,3±0,7*	63,6
	68,2±1,4	18,8	73,8±3,2	36,4
3-я стадия	52,5±1,2*	70,6	58,9±0,5*	42,9
	69,8±3,1	29,4	69,8±2,7	57,1

Условные обозначения: * - достоверность различий по сравнению с донорами (P< 0,05).

Таблица 4

Перекисное окисление липидов в плазме крови больных остеоартрозом (M±m)

Индексы	Содержание МДА мкмоль/л	% больных	Содержание МДА мкмоль/л	% больных
Здоровые	3,11±0,32			
До лечения			После лечения	
1-ая стадия	6,67±0,34*	28,6	7,29±0,39*	35,7
	12,01±0,65*	57,1	11,47±0,91*	64,3
	28,85±0,77*	14,3		
2-ая стадия	3,45±0,35	10,2	2,77±0,14	25,6
	5,39±0,54	44,4	6,61±0,38*	50,0
	11,68±0,85*	45,4	11,61±0,35*	24,4
3-я стадия	3,21±0,24	10,1	2,81±0,08	25,1
	6,42±0,71*	30,2	6,16±0,46*	34,9
	11,53±0,67*	50,0	13,32±0,94* •	35,0
	29,58±1,04*	9,8	20,57±0,53* °	5,0

Условные обозначения: * - достоверность различий по сравнению с донорами (P< 0,05); ° и • – соответственно достоверность (P< 0,05) и тенденция (P≤ 0,01) различий по сравнению с 1- стадией ОА.

Из таблицы 4 видно, что на фоне значительного увеличения содержания МДА в плазме крови больных на всех стадиях ОА лишь небольшие группы обследованных – около 10% со 2-ой и с 3-ей стадией заболевания, имели данный показатель эквивалентный норме. После проведения курса терапии с использованием алфлутопа больные с 1-ой, 2-ой и 3-ей стадией ОА распределились по тем же самым группам относительно среднего значения МДА, что и до лечения. Исклю-

чение составляют только больные с первой стадией заболевания, в плазме крови которых уже не было зарегистрировано содержание МДА, превышающее норму более, чем в 9 раз, как это было установлено до лечения. Для других стадий ОА, после медикаментозного лечения, как и в случае ОМБ, была обнаружена тенденция к уменьшению численности групп с более высоким показателем ТБК-активных продуктов в плазме крови и увеличению с более низким.

Как видно из представленных результатов, в крови больных с различной степенью ОА наблюдается широкий разброс численных значений для всех определяемых показателей по ОМБ и ПОЛ. На широкий разброс данных по биохимическим показателям указывается и в других публикациях, посвященных проблеме ОА [5,9]. В связи с этим, мы также полагаем, что широкий диапазон изменения показателей ОМБ и ПОЛ у больных ОА обусловлен различной степенью активности антиоксидантной и прооксидантной систем и зависит, главным образом, от индивидуальных особенностей организма, а не от наличия у пациентов сопутствующих заболеваний.

Полученные в работе результаты свидетельствуют о взаимосвязи между процессом ОМБ и интенсивностью СРО липидов в плазме крови больных на всех стадиях ОА. В то же время было обнаружено, что степень тяжести заболевания мало отражается на изменении таких биохимических показателей, как КДФГ, ААГ и МДА. Исключение составляет только немногочисленная группа пациентов с 3-й стадией ОА (11%), в плазме крови которых обнаружен максимально высокий уровень содержания окислительно-модифицированных белков.

Сравнение представленных нами данных по ОМБ и ПОЛ в плазме крови больных ОА коленного сустава с аналогичными данными для синовиальной жидкости, опубликованными нами ранее [6], позволяет сделать вывод о том, что тенденция к снижению активности прооксидантной системы после проведения специфической фармакотерапии имеет более выраженный характер в СЖ, чем в плазме крови. Очевидно, это связано с тем, что СЖ, являясь пограничным слоем между синовиальной оболочкой, хрящом и субхондральной костью, и непосредственно соприкасаясь со всеми компонентами сустава, имеет возможность максимально быстро реагировать на степень интенсивности окислительного стресса изменением своих биохимических характеристик.

Выводы

1. Остеоартроз коленного сустава протекает на фоне ярко выраженного

окислительного стресса, характеризующегося значительной интенсификацией процессов окислительной деструкции белков и свободно-радикального окисления липидов в плазме крови больных, а также сопровождается значительным уменьшением общего белка у подавляющего количества обследованных.

2. Проведение специфической фармакотерапии с использованием в качестве лечебных препаратов алфлутопа и дипроспана позволяет в значительной мере снизить активность прооксидантной системы, уменьшить содержание маркеров окислительного стресса в крови больных, а также поднять концентрацию белка до уровня физиологической нормы.

3. В связи с отсутствием корреляция между уровнем концентрации в плазме крови кетодинитрофенилгидразонов, алифатических альдегидных групп, белка, малонового диальдегида и тяжестью заболевания, данные биохимические показатели нельзя применять для установления стадии ОА.

4. Поскольку после проведения медикаментозного лечения наблюдается положительная тенденция, касающаяся содержания кетодинитро-фенилгидразонов, алифатических альдегидных групп, белка и малонового диальдегида в плазме крови больных, данные показатели можно рекомендовать для использования в лабораторной диагностике с целью контроля хода и оценки эффективности лечебных мероприятий.

Литература

1. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях / Ю.И. Губский [и др.] // Современные проблемы токсикологии. – 2005. – №3. – С. 8-11.
2. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е.Е. Дубинина [и др.] // Вопр. мед. химии. – 2000. – Т. 46, №4. – С. 24-31.
3. Алфлутоп в лечении больных остеоартрозом / Н.И. Коршунов [и др.] // Российская ревматология. – 1998. – №2. – С. 26-31.

4. Косинская Н.С. Рабочая классификация и общая характеристика поражений костно-суставного аппарата / Н.С. Косинская, Д.Г. Рохлин. – Л.: Медгиз, 1961. – 175 с.
5. Матвеева Е.Л. Биохимические изменения в синовиальной жидкости при развитии дегенеративно-дистрофических процессов в коленном суставе: дис. д-ра мед. наук / Е.Л. Матвеева. – Тюмень, 2007. – 35 с.
6. Использование биохимических показателей для оценки качества лечебных мероприятий у больных остеоартрозом коленного сустава / М.Г. Мещерякова [и др.] // Биомедицинская химия. – 2012. – Т. 58, вып. 2. – С. 230-236.
7. Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний: руководство для практикующих врачей: в 3-х т. / В.А. Насонова [и др.]; под общ. ред. В.А. Насоновой. – М.: Литтерра, 2010. – Т. 3. – 448 с.
8. Справочник по лабораторным методам исследования / под ред. Л.А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – С. 396.
9. Диагностика и консервативное лечение заболеваний и повреждений опорно-двигательной системы: справочник: в 8 кн. / Л.А. Корж [и др.]. – Харьков: Основа, 1997. – Кн. 2: Остеоартроз. – 88 с.
10. Janssen M. Upper gastrointestinal complaints and complication in chronic rheumatic patients in comparison with other chronic diseases / M. Janssen, B. Dijkmans, F.A. van der Sluijs // Br. J. Rheum. – 1992. – Vol. 31. – P. 747-752.
11. Protein measurement with the folin phenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, №1. – P. 265-276.
12. Ruoff G. Management of pain in patients with multiple health problems: a guide for the practicing physician / G. Ruoff // Amer. J. Med. – 1998. – Vol. 105. – P. 53-60.

THE EFFECT OF SPECIFIC PHARMACOTHERAPY ON THE DEGREE OF OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS AND LIPIDS IN THE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH KNEE OSTEOARTHRITIS

M.G. Mescheryakova, Ya.G. Trilis, N.V. Kirillova, I.A. Mukhin

Knee osteoarthritis is followed by the intensification of free radical oxidation of proteins and lipids in the blood plasma of patients. Specific pharmacotherapy leads to a significant reduction in the content of carbonyl groups, aliphatic aldehyde groups and malondialdehyde in the tested samples, and to an increase in the total protein content up to normal physiological values in half of the treated patients. The results of the study allow us to recommend the use of these indicators in laboratory diagnostics for in-depth study of the degenerative dystrophic process in the knee joint, as well as to monitor the progress of therapy and to evaluate the effectiveness of therapeutic interventions.

Keywords: *osteoarthritis, prooxidant system, oxidative modification of proteins, free radical oxidation of lipids.*

Мещерякова М.Г. – к.б.н., доц. кафедры биохимии Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии.
г. Санкт-Петербург, ул. проф Попова, 14.
E-mail: c_trunk@mail.ru.

Трилис Я.Г. – к.б.н., доц. кафедры биохимии Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии.
г. Санкт-Петербург, ул. проф Попова, 14.

Кириллова Н.В. – д.б.н., проф., зав. кафедрой биохимии Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии.
г. Санкт-Петербург, ул. проф Попова, 14.

Мухин И.А. – к.м.н., зав. отделения реабилитации Городской гериатрической (ортопедической) больницы г. Санкт-Петербург.
г. Пушкин, Павловское шоссе, 56.