

*Ю.В. МІНІН, Т.І. КУЧЕРЕНКО, Ю.Б. БУРЛАКА, Ю.Г. КЛИСЬ,
Н.М. ВОРОШИЛОВА, С.В. ВЕРЬОВКА*

ПОКАЗНИКИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ БІЛКІВ І ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ЯК МАРКЕРИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ХВОРИХ З СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЕ СНУ

*ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України»
(дир. – акад. НАМН України, проф. Д.І. Заболотний)*

Сон – це важлива і необхідна складова здоров'я людини. Можливі порушення дихальної функції під час сну можуть істотно знизити якість і тривалість життя пацієнта. Тому розлад дихання під час сну, зокрема, обструктивні порушення дихання, становить вагомому медико-соціальну проблему. Синдром обструктивного апное сну (СОАС) характеризується хрипінням, періодичним спаданням верхніх дихальних шляхів на рівні глотки, припиненням легеневої вентиляції при збережених дихальних зусиллях, зниженні рівня кисню крові, грубою фрагментацією сну і денною сонливістю [1]. При тяжких формах СОАС може відмічатися до 400-500 зупинок дихання за ніч тривалістю до хвилини і більше, що призводить до гострої та хронічної недостатності кисню під час сну. Це, в свою чергу, зумовлює ризик розвитку артеріальної гіпертонії, порушень ритму серця, інфаркту міокарда, інсульту і раптової смерті уві сні [2].

Одним з важливих патофізіологічних механізмів розвитку ендogenous інтоксикації (EI) є активація процесів перекисного окиснення білків і ліпідів, ініційована вільними радикалами [2, 3]. Дисбаланс в системі прооксиданти-антиоксиданти призводить до «окисного стресу». Це, в свою чергу, сприяє підсиленню деструктивних процесів та може бути супутнім патогенетичним фактором ряду захворювань [3, 4].

Згідно даних літератури, окисний стрес може мати місце і при СОАС, тому

урахування окисно-відновної ланки патогенезу та дослідження перекисного окиснення білків (ПОБ), ліпідів (ПОЛ) та стану антиоксидантної системи (АОС) при синдромі обструктивного апное сну з різним ступенем тяжкості є важливим для діагностики та лікування даної категорії хворих.

Метою роботи було дослідити інтенсивність перекисного окиснення білків та ліпідів, компоненти антиоксидантної системи та біохімічні показники ендogenous інтоксикації у хворих з синдромом обструктивного апное сну.

Матеріали та методи дослідження

Було обстежено 20 пацієнтів, які перебували на стаціонарному лікуванні в ДУ «Інституті отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України». Всі пацієнти були проінформовані і надали письмову згоду на участь у дослідженні. У дослідженні брали участь 14 чоловіків і 6 жінок віком від 37 до 62 років, які мали характерні клінічні ознаки порушення дихання під час сну. Кожному пацієнту проводили стандартні антропометричні виміри, типові оториноларингологічне обстеження. Постановка діагнозу і визначення ступеню тяжкості порушення дихання під час сну здійснювалось за результатами кардіо-респіраторного моніторингу на базі «Київського центру медицини сну». Загальновизнаним критерієм ступеню тяжкості СОАС є кількість апное на годину – індекс апное (ІА). Існує думка про доцільність урахування не тільки кількості епізодів

апноє, але й гіпоапное, оскільки вони обумовлюють схожі ризики розвитку серцево-судинних та інших ускладнень [5].

Усі хворі були розподілені на 2 групи: 10 пацієнтів, які мали індекс апное сну до 30 епізодів зупинки дихання на годину ($IA < 30$), та 10 – більш ніж 30 епізодів зупинки дихання на годину ($IA > 30$). Контрольну групу склали 10 умовно здорових осіб.

Всім пацієнтам після проведення діагностичних процедур уночі проводився забір крові в ранкові години з ліктьової вени на щесерце. Об'єктом біохімічних досліджень була сироватка крові, яку отримували з цільної крові після інкубування при температурі 37°C у термостаті EN500 протягом 30 хв. з подальшим центрифугуванням при частоті обертання 4000 об/хв. протягом 20 хв. у центрифугі NF-200.

Біохімічні показники ендогенної інтоксикації, а саме – вміст молекул середньої маси (МСМ), визначали в безбілковій фракції сироватки крові на спектрофотометрі СФ-26 і виражали в умовних одиницях (у.о.), що дорівнюють оптичній густині розчину, який вимірюється при довжині хвилі 254 нм [6]. Визначення тирозинвміщуючих пептидів (ТВП) проводилось згідно методики В.Б. Гаврилова та співавторів [7] при довжині хвилі 280 нм.

Інтенсивність окислювальної модифікації білків плазми крові оцінювалась за методом R.L. Levin у модифікації A.Z. Reznick, який заснований на реакції взаємодії окислених амінокислотних залишків з 2,4-дінітрофенілгідразином з утворенням 2,4-дінітрофенілгідразонів [8]. Оптична густина утворених дінітрофенілгідразонів визначалась спектрофотометрично при довжині хвиль 356 нм і 430 нм (альдегідні похідні нейтрального та основного характеру) та 370 і 530 нм (кетонні похідні нейтрального та основного характеру) [9]. Показники окислювальної модифікації білків виражали в нмоль дінітрофенілгідразонів на 1 мл плазми, використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції $22 \times 10^3 \text{ моль}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

Оцінка інтенсивності перекисних процесів проводилась за методом М.С. Гончаренко, А.М. Латинової [10] за концентрацією в сироватці крові одного з кінцевих продуктів ПОЛ – малонового діальдегіду,

що визначається в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Оскільки, окрім МДА, ряд низькомолекулярних сполук також може утворювати забарвлені комплекси з ТБК, в кінцевому результаті реакції визначали суму ТБК-позитивних продуктів.

Активність каталази (К.Ф. 1.11.1.6) визначалась за методом М.А. Королюка та співавторів [11]. Метод заснований на здатності пероксиду водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Про активність системи АОС судили також за вмістом вільних тіолових груп (SH-груп), що визначались методом В.В. Соколовського та співавторів [12]. Метод заснований на здатності тіолових сполук при взаємодії з 5,5'-дітіо-біс (2-нітробензойної кислотою) утворювати забарвлене з'єднання – тіо-2-нітробензойної кислоти, водний розчин якого має максимум поглинання при $\lambda = 412 \text{ нм}$.

Статистична обробка результатів проводилась за допомогою пакету програм для статистичної обробки біометричних даних WinPEPI. Для оцінки різниці між показниками основної та контрольної груп були використані t-критерій Стюдента, враховуючи рекомендації Є.В. Гублера [13] та Е.В. Мальцева [14]. Різницю вважали статистично достовірною при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Відповідно до сучасних уявлень, одним з біохімічних маркерів інтоксикації та її найважливішим патохімічним критерієм є неелеміновані з організму кінцеві і проміжні продукти обміну – так звані молекули середньої маси (МСМ). Показник при спектрі поглинання 254 нм розглядається як інтегральний критерій метаболітів низької та середньої молекулярної маси від 500 до 5000 Д. В останні роки запропоновано новий високоінформативний тест в діагностиці інтоксикацій організму – це визначення ТВП, дослідження якого обумовлено переважуючою участю білків, до складу яких входить тирозин, та найбільшим їх накопиченням [15].

Нами було досліджено рівні МСМ та ТВП у сироватці крові хворих з СОАС різного ступеню тяжкості (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст МСМ та ТВП у сироватці крові хворих із СОАС

Показник	Умовно здорові люди (n=10)	Хворі з синдромом обструктивного апное сну різного ступеню тяжкості	
		індекс апное <30 (n=10)	індекс апное >30 (n=10)
МСМ, у.о., Е _{254 нм}	0,185±0,005	0,204±0,005	0,226±0,007 p<0,01
ТВП, у.о., Е _{280 нм}	0,120±0,003	0,144±0,007 p<0,05	0,151±0,005 p<0,001

Примітки: p – достовірність різниці між групою практично здорових осіб та відповідними показниками групи хворих.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в сироватці крові хворих з СОАС, індекс апное яких був >30, рівень МСМ достовірно підвищився в 1,2 рази порівняно з контрольним показником. У групі хворих з СОАС з індексом апное <30 статистично значимої різниці даного показника не відмічено. Вміст ТВП достовірно збільшувався в сироватці крові обох досліджуваних груп в середньому в 1,3 рази порівняно з контролем. Так, представлені результати свідчать про більшу інформативність дослідження вмісту ТВП порівняно з інтегральним показником МСМ, які відображають стан ЕІ.

Гіпоксія, що виникає при СОАС, викликає зміни вільнорадикального гомеостазу, що проявляються накопиченням в організмі активних форм кисню та активацією процесів перекисного окиснення ліпідів та білків.

Окиснення протеїнів ряд авторів вважають більш достовірним маркером окисних порушень порівняно з окисненням ліпідів, оскільки утворення карбонільних похідних білків відбувається швидше, а час їх детоксикації сягає декількох годин і навіть днів [16-18]. Відомо, що окисна модифікація амінокислот супроводжується порушенням нативної конформації протеїнів з утворенням білкових агрегатів або фрагментацією білкових молекул. В результаті реакції окиснення білків можуть утворюватися альдегідні та кетонні угруповання амінокислотних залишків, котрі при взаємодії з 2,4-ДНФГ утворюють альдегід- та кетон-динітрофенілгідрозони (аДНФГ та кДНФГ, відповідно) [19].

В результаті проведених досліджень виявлено істотні відмінності за рівнем про-

дуктів перекисного окиснення білків та ліпідів у сироватці крові хворих з СОАС різного ступеню тяжкості (табл. 2).

Результати досліджень показників у осіб із СОАС, ІА яких був <30, свідчать про достовірне підвищення у плазмі крові вмісту альдегід-динітрофенілгідрозонів нейтрального (аДНФГн) та основного (аДНФГо) характеру в порівнянні з контрольною групою. У хворих із СОАС з ІА>30 вміст цих протеїнових похідних також достовірно (в 2 рази) перевищував рівень контролю. Згідно даних літератури, альдегідні похідні динітрофенілгідрозонів є маркерами структурних порушень білків шляхом фрагментації [16].

Встановлено також достовірне збільшення рівня кетон-динітрофенілгідрозонів нейтрального характеру (кДНФГн) в обох групах хворих. У осіб з середнім ступенем тяжкості СОАС (ІА<30) він перевищував показник донорів у 1,3 рази, при тяжкому перебігу СОАС (ІА>30) – у 2,1 рази. Статистично достовірних змін вмісту кетопохідних основного характеру (кДНФГо) в обох групах виявлено не було. Кетофенілгідрозони – пізні маркери окислювальної модифікації, їх рівень зростає у разі вираженої деструкції білкових молекул у плазмі крові, що може вказувати на зниження резервно-адаптаційних можливостей організму. Зростання кетонних похідних протеїнів в плазмі крові свідчить про процеси агрегації білкових молекул [16].

Як впливає з отриманих даних, вміст аДНФГо, аДНФГн та кДНФГн у хворих із СОАС з ІА >30 достовірно (у 1,6 рази) перевищував показники осіб, ІА котрих був <30. Тобто, інтенсивність процесів окислювальної модифікації протеїнів зростає із поглибленням СОАС.

Таблиця 2

Рівень ПОБ та ПОЛ у сироватці крові хворих із СОАС

Показник	Умовно здорові люди n=10	Хворі з синдром обструктивного апное сну різного ступеню тяжкості	
		індекс апное <30 (n=10)	індекс апное >30 (n=10)
аДНФГ _H , нмоль ДНФГ/мл	95,9±3,60	126,6±5,40 p<0,001	208,5±31,10 p<0,01 p ₁ <0,05
аДНФГ _O , нмоль ДНФГ/мл	46,4±2,10	57,7±2,20 p<0,01	91,50±13,40 p<0,01 p ₁ <0,05
кДНФГ _H , нмоль ДНФГ/мл	97,3±3,70	127,9±5,40 p<0,001	207,40±30,90 p<0,01 p ₁ <0,05
кДНФГ _O , нмоль ДНФГ/мл	3,6±1,50	5,80±0,80	6,20±1,90
ТБК-позитивні продукти, нмоль/мл	7,57±0,44	9,18±0,63 p<0,05	13,27±0,73 p<0,001 p ₁ <0,001

Примітки:

p – достовірність різниці між групою практично здорових осіб та відповідними показниками групи хворих;

p₁ – достовірність різниці між групами хворих з різним індексом апное.

Як видно з даних, представлених в табл. 2, рівень ТБК-позитивних продуктів у хворих з СОАС достовірно підвищувався, а саме: при середньому ступені тяжкості (ІА <30) – в 1,2 рази, а при значних респіраторних порушеннях (ІА >30) – в 1,8 рази. Різниця між цим показником у пацієнтів з різним ступенем тяжкості СОАС є також достовірною. Тобто, вміст цих продуктів збільшувався по мірі прогресування патологічного процесу.

Отримані нами дані свідчать про посилення процесів ПОБ та ПОЛ у сироватці крові хворих із СОАС.

Деструктивному впливу продуктів ПОБ та ПОЛ протидіє антиоксидантна система, що складається з ферментної та неферментної ланок. Активність ферментів антиоксидантного захисту, зокрема каталази, використовується як показник оцінки антирадикального захисту і резистентності організму. Тіолові групи є компонентами неферментативної ланки АОЗ організму, що існують у двох станах: відновленому (-SH) та окисленому (-S-S). Концентрація SH-груп в декілька разів більше концентрації S-S-

груп, оскільки більшість тіолових сполук фізіологічно активні саме у відновленому стані [20]. Результати дослідження компонентів АОЗ в сироватці крові хворих з СОАС різного ступеню тяжкості наведено в табл. 3.

Як видно з представлених даних, у хворих з СОАС, ІА яких був <30, каталазна активність була на рівні контрольних значень. У пацієнтів зі значними респіраторними порушеннями (ІА >30) встановлено підвищення її активності в середньому у 1,5 рази порівняно як з групою контролю, так і з хворими на СОАС середнього ступеню тяжкості (ІА <30). Встановлене в ході нашого дослідження зростання каталазної активності в крові можна розглядати як пристосувальну реакцію організму у відповідь на посилення процесів ПОЛ.

В результаті проведених досліджень показано, що в сироватці крові хворих з обструктивним апное сну з індексом <30 вміст SH-груп достовірно зменшувався в 1,4 рази порівняно з контрольними показниками. У хворих з СОАС з ІА > 30 вміст SH-груп зменшувався на рівні тенденції.

Таблиця 3

Активність каталази та вміст SH-груп у сироватці крові хворих із СОАС

Показники	Умовно здорові люди n=10	Хворі з синдромом обструктивного апное сну різного ступеню тяжкості	
		індекс апное <30 (n=10)	індекс апное >30 (n=10)
Каталаза, мкат/л	6,99±0,15	6,72±0,66	10,64±0,57 p<0,001 p ₁ <0,001
SH-групи, ммоль/л	86,20±8,60	62,90±6,50 p<0,05	73,10±4,20

Примітки:

p – достовірність різниці між групою практично здорових осіб та відповідними показниками групи хворих;

p₁ – достовірність різниці між групами хворих з різним індексом апное.

Відомо, що СОАС супроводжується епізодами гіпоксії та реоксигенації, що викликає збільшення рівня активних форм вільних радикалів тим самим провокуючи окисний стрес [21]. Вважається, що рівень МСМ в першу чергу відображає ступінь патологічного білкового метаболізму [4, 22, 23]. У хворих на СОАС показник МСМ на ранніх стадіях захворювання виявився малоінформативним, оскільки зазнавав змін при тяжкому ступеню перебігу захворювання. Водночас вміст ТВП змінювався у хворих вже при ІА <30. Це свідчить про більшу інформативну цінність цього показника для виявлення ЕІ у хворих на СОАС. Існують дані про взаємозв'язок між концентрацією МСМ та посиленням вільно-радикальних процесів в організмі, що призводить до утворення продуктів ПОБ і ПОЛ [3, 22, 24].

Показане нами підвищення інтенсивності процесів окисної модифікації білків може викликати незворотні зміни фізико-хімічних властивостей протеїнових молекул, що призводить до втрати їх функцій та погіршення клінічної картини патологічних станів. Відомо, що цей показник є інтегративним параметром, що свідчить про накопичення в плазмі крові протеїнових похідних, та є маркером інтенсивності вільнорадикального окислення в клітинах. До найбільш важливих наслідків ОМБ належить інактивація ензимів, що призводить до порушення ферментативних процесів в організмі, функціонування іонних каналів і рецепторів клітин. Похідні ОМБ у подальшому

стимулюють ПОЛ та окислювальне пошкодження ДНК, крім того, їм самим властива цитотоксична дія [22, 25, 26].

Встановлена нами активація процесів ПОЛ за рівнем ТБК-позитивних продуктів у хворих з СОАС узгоджується з гіпотезою *Reimund*, згідно якої під час сну відбувається видалення вільних радикалів, що акумулюються в організмі під час неспання [27]. Тому інсомнія може призводити до накопичення вільних радикалів в організмі. Результатом накопичення високотоксичних продуктів ПОЛ можуть стати зміни в метаболізмі білків, жирів, вуглеводів, нуклеїнових кислот і водно-електролітного обміну, що викликають тяжкі ураження тканин і знижують адаптаційні можливості організму [28].

Для контролю вільнорадикальних процесів та захисту від можливого пошкодження клітинних структур існує багатокomпонентна система АОЗ [29]. Відновлені тіоли є низькомолекулярними антиоксидантами, що виявляють антирадикальну та антиперекисну дію. Від їх концентрації залежить активність «тіолових» ферментів, що беруть участь в антиоксидантному захисті організму [30]. Каталаза є одним з ферментних антиоксидантів, що належить до первинного ланцюга внутрішньоклітинного захисту від активних форм кисню. Її активність в крові є одним з прогностичних тестів вираженості ЕІ організму людини.

Виявлене нами зниження рівня відновлених тіолів у хворих на СОАС може бути обумовлено більш активним їх використан-

ням в якості антиоксидантів. Тому «тіолові» ферменти відіграють важливу роль в механізмах АОЗ на ранніх стадіях розвитку окисного стресу. При поглибленні тяжкості захворювання вміст SH-груп наближався до показника контролю. Встановлене в результаті проведених досліджень зростання активності каталази у хворих з СОАС з ІА >30, імовірно, компенсує зниження рівня відновлених тіолів у відповідь на розвиток оксидативного стресу [31], оскільки відомо, що антиоксиданти здатні пригнічувати, зменшувати та/або затримувати ефекти окислення білків, які виявляються в живих клітинах, ліпідах, вуглеводах і ДНК [21].

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про зростання інтенсивності процесів перекисного окиснення білків і ліпідів, зміну компонентів антиоксидантної системи та розвиток ендогенної інтоксикації у хворих з синдромом обструктивного апное сну.

Отримані нами дані добре узгоджуються з припущенням про взаємозв'язок інсомнії з розвитком окислювального стресу, що може обумовити порушення вуглеводного обміну [32], ожиріння [33] і серцево-судинні захворювання [34]. Тому вивчення всіх етапів розвитку синдрому обструктивного апное сну становить науковий та практичний інтерес для розробки рекомендацій, профілактичних і лікувальних заходів з метою підвищення якості життя хворих з СОАС.

Отримані нами дані добре узгоджуються з припущенням про взаємозв'язок інсомнії з розвитком окислювального стресу, що може обумовити порушення вуглеводного обміну [32], ожиріння [33] і серцево-судинні захворювання [34]. Тому вивчення всіх етапів розвитку синдрому обструктивного апное сну становить науковий та практичний інтерес для розробки рекомендацій, профілактичних і лікувальних заходів з метою підвищення якості життя хворих з СОАС.

Література

1. Smolyaninova YuV, Khromova YuA, Madaeva IM, Kolesnikova LI. [Diagnosis and treatment of patients with obstructive sleep apnea / hypopnea syndrome]. Acta Biomedica Scientifica. 2007; 1(53): 40-3. [Article in Russian].
2. Ryabov GA, Azizov YuM, Pasechnik IN, Krylov VV, Tsvetkov DS. [Oxidative stress and endogenous intoxication in patients with critical conditions] Alexander Saltanov Intensive Care Herald. 2004; (4): 4-7. [Article in Russian].
3. Malakhova MYa. [Endogenous intoxication as a reflection of compensatory adjustment of metabolic processes in the body]. Efferentnaya terapiya. 2000; (4): 3-14. [Article in Russian].
4. Kopytova TV, Abalikhina EP, Schelchkova NA. [The value of lipid peroxidation in biological substrates for the assessment of metabolic processes in psoriasis]. Klin. Lab. Diagn. 2007; (11): 20-3. [Article in Russian].
5. Buzunov RV, Legeyda IV, Tsaryova EV. Snoring and obstructive sleep apnea syndrome in adults and children: A Practical Guide for Physicians. Moscow; 2013. 1245 p. [In Russian].
6. Zhadenov II, Karyakina EV, Belova SV, Goryachev VI. The method of determining endogenous intoxication. Patent RU 2193780 C1 G 01N33 / 68, G 01N33 / 48. Claims 04/26/2001, published on November 27, 2002. 7: 935-48. [In Russian].
7. Gavrillov VB, Lobko NF, Konev SV. [Determination of tyrosine and tryptophan-containing peptides in blood plasma by absorption in the UV-region of the spectrum]. Klin. Lab. Diagn. 2004; 3: 12-6. [Article in Russian].
8. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to protein: spectrophotometric method for carbonil assay. Methods in Enzymology 1994; 233: 357-63. [Article in Russian].
9. Dubinina EE, Burmistrov SO, Khodov DA, Porotov IG. Oxidative modification of human serum proteins, method of its determination. Biochemistry (Moscow) Supplement. Series B, Biomedical chemistry. 1995; 41 (1): 24-6. [Article in Russian].
10. Goncharenko MS, Latin AM. Method for evaluating lipid peroxidation. Laborat. delo. 1985; (11): 60-1. [Article in Russian].
11. Korolyuk, MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VE. Method for the determination of catalase activity. Laborat. delo. 1988; 1: 16-9. [Article in Russian].
12. Sokolovsky VV, Kuzmina VS, Moskadynova GA, Petrova NN. Spectrophotometric determination of thiols in blood serum. Klin. Lab. Diagn. 1997; (11): 20-1. [Article in Russian].
13. Gubler EV. Computational methods of analysis and recognition of pathological processes. Lviv: Medicine; 1978. 296 p. [In Russian].
14. Maltsev EV. Methodology of scientific creativity in medicine: Practical aspects. Odessa: Astroprint; 2006. 120 p. [In Russian].

15. Kozhamberdin KE, Muravleva LE, Omarova IM. Effect of fluoropyrimidines in combination with cisplatin on the level of tyrosine and tryptophan-containing peptides. *Meditina i ekologiya*. 2007; (3): 70-4. [Article in Russian].
16. Muravleva LE, Molotov-Luchansky VB, Klyuev AD, Bakenova RA, Kultanov BZ, Tankibaeva ON. Oxidative modification of proteins: problems and prospects of research. *Fundamentalnyie issledovaniya*. 2010; (1): 74-8. [Article in Russian].
17. Dubinina EE, Pustogina AB. Oxidative modification of proteins, its role in pathological conditions. *Ukr Biochem J*. 2008; 80 (6): 18. [Article in Russian].
18. Ilyicheva AS, Fomina MA. The state of oxidative carbonylation of muscle tissue proteins with severe hyperhomocysteinemia. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2015; (1): 45-51. [Article in Russian].
19. Lavi EL, Lavie P. Molecular mechanisms of cardiovascular disease in OSAHS: the oxidative stress link. *Eur Respir J*. 2009 Jun;33(6):1467-84. doi: 10.1183/09031936.00086608.
20. Stepovaya EA, Shakhristova EV, Ryazantseva NV. Oxidative modification of proteins and glutathione system during modulation of the redox status of epithelial cells of the mammary gland. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series B, Biomedical chemistry*. 2016; 62 (1): 64-8. [Article in Russian].
21. Turan H, Demir C. Investigation of Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activity in Sleep Apnea Patients. *Natural Science and Discovery*. 2016; 2 (2): 36-40.
22. Kopytova TV, Dmitrieva ON, Khimkina LN, Panteleeva GA. Oxidative modification of proteins and oligopeptides in patients with chronic dermatoses with the syndrome of endogenous intoxication. *Fundamentalnyie issledovaniya*. 2009; (6): 25-9. [Article in Russian].
23. Dubinina EE. Oxygen metabolism products in the functional activity of cells. *St. Petersburg: Med. Press*; 2006. 397 p. [In Russian].
24. Astashova TA, Astashov VV, Morozov SV. Chromato-mass spectrophotometric analysis of lipid peroxidation products in organs and tissues under the conditions of the toxicosis model. *Problems of biological, medical, and pharmaceutical chemistry*. 1998; (4): 52-5. [Article in Russian].
25. Dubinina OYu. Oxidative stress and oxidative modification of proteins. *Medical and clinical chemistry*. 2001; 3 (2): 5-11. [Article in Ukrainian].
26. Gubsky YuI, Belenichev IF, Levitsky EL, Kovachenko SI, Pavlov SV, Gancheva OV, et al. Toxicological effects of oxidative modification of proteins in various pathological conditions. *Modern problems of toxicology*. 2005; 8 (3): 20-7. [Article in Russian].
27. Reimund E. The free radical flux theory of sleep. *Med Hypotheses*. 1994 Oct;43(4):231-3.
28. Kolesnikova LI, Madaeva IM, Semenova NV, Solodova EI. Assessment of oxidative stress in women with postmenopausal sleep disorders using an integral indicator. *Klin. Lab. Diagn*. 2014; 12: 29-32. [Article in Russian].
29. Menshchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ, Bondar IA, Trufakin VA. Oxidative stress: pathological states and diseases. *Novosibirsk: ARTA*; 2008. 284 p. [In Russian].
30. Shevelkova AA, Vyushina AV. Oxidative modification of proteins and the content of thiols in the blood during physiological pregnancy. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2012; LXI (4): 109-12. [Article in Russian].
31. Bezruchko NV, Rubtsov GK, Ganyaeva NB, Kozlova GA, Sadovnikova DG. Catalase of biological environment of the human body and its clinical and biochemical value in the assessment of endotoxemia. *Tomsk State Pedagogical University Bulletin*. 2012; 7 (122): 94-8. [Article in Russian].
32. Leibenluft E, Schmidt PJ, Turner EH, Danaceau MA, Ashman SB, Wehr TA, et al. Effects of leuprolide-induced hypogonadism and testosterone replacement on sleep, melatonin, and prolactin secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Oct;82(10):3203-7. doi: 10.1210/jcem.82.10.4270
33. Janson C, Lindberg E, Gislason T, Elmasry A, Boman G. Insomnia in men a 10 year prospective population based study. *Sleep*. 2001 Jun 15;24(4):425-30. doi: 10.1093/sleep/24.4.425.
34. Mallon L, Broman JE, Hetta J. Sleep complaints predict coronary artery disease mortality in males: a 12-year follow up study of a middle aged Swedish population. *J Intern Med*. 2002 Mar;251(3):207-16.

Надійшла до редакції 28.03.2019.

© Ю.В. Мінін, Т.І. Кучеренко, Ю.Б. Бурлака, Ю.Г. Клись, Н.М. Ворошилова, С.В. Верьовка, 2019

ПОКАЗНИКИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ БІЛКІВ І ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ЯК МАРКЕРИ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ У ХВОРИХ З СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЕ СНУ

Мінін Ю.В., Кучеренко Т.І., Бурлака Ю.Б., Клісь Ю.Г., Ворошилова Н.М., Верьовка С.В.

ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України» (Київ, Україна)
e-mail: amtc@kndio.kiev.ua

А н о т а ц і я

Синдром обструктивного апноє сну (СОАС) супроводжується епізодами гіпоксії і реоксигенації, що викликає підвищення рівня активних форм вільних радикалів, що призводить до розвитку окисного стресу.

Метою даної роботи було вивчення інтенсивності перекисного окислення білків і ліпідів, компонентів антиоксидантної системи і біохімічних показників ендogenous інтоксикації у пацієнтів з синдромом обструктивного апноє сну (СОАС).

Матеріали та методи: 20 пацієнтів з СОАС були обстежені в ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України». Вони були розподілені на 2 групи: 10 з них мали індекс апноє сну менше 30 епізодів зупинки дихання в годину (ІА<30), 10 – ІА> 30. Контрольна група складалася з 10 здорових осіб. Об'єктом біохімічних досліджень була сироватка крові. Інтенсивність окисної модифікації білків сироватки крові оцінювали по реакції з 2,4-дінитрофенілгідразином за методом Levin в модифікації Reznick. Оцінку інтенсивності перекисного окислення ліпідів визначали по взаємодії з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) за методом Гончаренко. Активність каталази визначалась за методом Королюка і співавторів. Вміст вільних тіолових груп (SH-) визначали по взаємодії з 5,5'-дітіо-біс (2-нітробензойної кислотою) за методом Соколовського та співавторів. Вміст молекул середньої маси і тирозинвміщуючих пептидів (ТСП) визначали спектрофотометрично при 254 і 280 нм, відповідно. Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакета програм для біометричних даних WinPEPI.

Результати: У хворих з СОАС, ІА яких був <30, встановлено підвищення рівня ТСП, окиснено-модифікованих білків, вмісту ТБК-позитивних продуктів і зниження рівня SH-груп. У пацієнтів з ІА> 30 встановлено підвищення рівня молекул середньої маси, МСП, окиснено-модифікованих білків, вмісту ТБК-позитивних продуктів і активності каталази. Встановлено достовірну різницю змісту альдегідних і кетонних похідних протеїнів нейтрального характеру; альдегідних похідних основного характеру, вмісту ТБК-позитивних продуктів і активності каталази у хворих на СОАС різного ступеню тяжкості.

Висновки: Результати проведених досліджень свідчать про збільшення інтенсивності процесів перекисного окислення білків і ліпідів, зміни показників антиоксидантної системи і розвитку ендogenous інтоксикації у пацієнтів з СОАС.

Ключові слова: синдром обструктивного апноє сну, ендogenous інтоксикація, окислювальна модифікація білків і ліпідів, антиоксидантна система.

INDICES OF PEROXIDATION OF PROTEINS, LIPIDS AND ANTIOXIDANT SYSTEM AS THE MARKERS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN PATIENTS WITH SYNDROME OF OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA

Minin YuV, Kucherenko TI, Burlaka YuB, Klys YuG, Voroshylova NM, Verevka SV.

State Institution "Institute of otolaryngology named after Prof. O.S. Kolomyychenko of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"; Kyiv, Ukraine
e-mail: amtc@kndio.kiev.ua

A b s t r a c t

The syndrome of obstructive sleep apnea (OSAS) is accompanied by episodes of hypoxia and reoxygenation, which causes an increase in the level of active forms of free radicals that lead to the development of the oxidative stress.

The aim of this work was to investigate the intensity of peroxidation of proteins and lipids, the components of the antioxidant system and the biochemical parameters endogenous intoxication in patients with OSAS.

Materials and methods: Twenty patients with OSAS were examined at the SI "Prof. O.S. Kolomyychenko Institute of Otolaryngology NAMS of Ukraine" (Kiev). They were divided into two groups: 10 of them were with apnea sleep index less than 30 episodes of respiratory arrest per hour (IA<30), another 10 ones – with more than

30 episodes (IA>30). The control group was consisted of 10 healthy persons. The object of biochemical studies was blood serum. The intensity of the oxidative modification of blood serum proteins was estimated by 2,4-dinitrophenyl hydrazine reaction by Levin in modification of Reznick. The evaluation of the intensity of peroxide processes was determined by interaction with 2-thiobarbituric acid (TBA) by the method of Goncharenko. The activity of catalase was determined by the method of Korolyuk et al. The content of free thiol groups (SH-) was determined by interaction with 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid) by the method of Sokolovsky et al. The contents of medium weight molecules and tyrosine-containing peptides (TCP) were determined spectrophotometrically at 254 and 280 nm, respectively. Statistical processing of results was carried out using a program package of biometric data WinPEPI.

Results: In patients with OSAS whose IA<30, an increase of the level of TCP, oxidative modification of proteins, the content of TBA-positive products and a decrease in the level of SH-groups. In patients with IA>30, increased levels of medium weight molecules, TCP, oxidative modification of proteins, the content of TBA-positive products and the activity of catalase. A significant difference was observed in patients with syndrome of obstructive sleep apnea of varying degrees of severity of the content of aldehyde and ketone derivatives of neutral proteins; aldehyde derivatives of the main nature, the content of TBA-positive products and the activity of catalase.

Conclusions: The results of the conducted studies indicate an increase in the intensity of the processes of peroxidation of proteins and lipids, the change in the components of the antioxidant system and the development of endogenous intoxication in patients with OSAS.

Key words: obstructive sleep apnea syndrome, endogenous intoxication, oxidative modification of proteins and lipids, antioxidant system.