

УДК 616.97-022.7:579.882.11:612.015.14

© А.К. Кондакова, 2012.

ОБРАЗОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО МОДИФИЦИРОВАННЫХ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СТЕПЕНЬ ИХ ФРАГМЕНТАЦИИ ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ ХЛАМИДИОЗЕ И В УСЛОВИЯХ ИНИЦИАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ IN VITRO

А.К. Кондакова

ГУ «Институт дерматологии и венерологии АМН Украины», лаборатория биохимии (зав. – к.биол.н. А.К. Кондакова), г. Харьков.

FORMATION OF OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS AND THE PRODUCTS OF FRAGMENTATION OF PROTEINS IN SERUM OF BLOOD AT UROGENITAL CHLAMYDIOSIS AND INITIATION OF OXIDATIVE REACTIONS IN VITRO

A.K. Kondakova**SUMMARY**

In serum with patients of urogenital chlamydia and practically healthy donors defined a level of degree of oxidative modification of proteins. It is shown, that in serum the chlamydia observes the increased level modified proteins. Under incubation of serum of patients in Fenton system, generated the oxygen active forms, the some increasing of the level of oxidative modification of proteins is observed.

УТВОРЕННЯ ОКИСНО МОДИФІКОВАНИХ БІЛКІВ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА СТУПЕНЬ ІХ ФРАГМЕНТАЦІЇ ПРИ УРОГЕНІТАЛЬНОМУ ХЛАМІДІОЗІ ТА В УМОВАХ ІНІЦІАЦІЇ ОКИСНИХ РЕАКЦІЙ IN VITRO

А.К. Кондакова**РЕЗЮМЕ**

В сироватці крові хворих на урогенітальний хламідіоз та практично здорових донорів визначали рівень окисно модифікованих білків. Встановлено, що при хламідіозі рівень окисних білків в сироватці значно підвищено. Після інкубації в середовищі Фентона, що генерує активні форми кисню, відмічено незначне підвищення утворення окисно модифікованих білків в сироватці крові хворих.

Ключевые слова: урогенитальный хламидиоз, окислительно модифицированные белки, сыворотка крови, среда Фентона.

На сегодняшний день доказана роль свободнорадикальных процессов в патогенезе урогенитального хламидиоза. Показано, что липидная пероксидация, активируемая *S. trachomatis*, наряду с генерацией активных форм кислорода, является одним из ключевых метаболических процессов, определяющих тяжесть инфекционного заболевания [2, 4, 5, 6].

В клетках активные кислородные метаболиты (АКМ) вызывают различные повреждения белковых молекул, такие как окисление аминокислотных остатков, образование белок-белковых сшивок, фрагментация молекул. Взаимодействие белков со свободными радикалами и активными формами кислорода (АФК) приводит к образованию гидроперекисей, альдегидов и других реакционных соединений. Присутствующие в клетках ферменты репарации белков (протеиназы, протеазы, пептидазы) расщепляют поврежденные молекулы до аминокислот и низкомолекулярных продуктов с целью их повторного использования или выведения из организма. Содержание окислено модифицированных белковых соединений в клетках, органах или целом организме представляет собой

удобный показатель для оценки развития окислительного стресса [1].

Цель - исследовать окислительные модификации и степень деструкции белков сыворотки крови, а также влияние системы Фентона на их интенсивность, у больных урогенитальным хламидиозом в зависимости от тяжести патологического процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служила сыворотка крови практически здоровых людей (24 человека), больных неосложненными (33 человека) и осложненными формами урогенитального хламидиоза (16 человек).

В качестве основных показателей окислительной модификации белков (ОМБ) в сыворотке крови определяли содержание динитрофенилгидразонов (ДФНГ), а также степень фрагментации кислоторастворимых белков [3].

Общая схема эксперимента состояла из 2 этапов. На первом этапе работы определяли степень окислительных модификаций (уровень ОМБ и степень фрагментации кислоторастворимых белков) в суммарных белках сыворотки крови. На втором

этапе изучали влияние компонентов среды Фентона на интенсивность окислительных модификаций и степень деструкции белков сыворотки крови. Результаты выражали в условных единицах на 1 мл сыворотки крови.

Полученные результаты были обработаны статистически с помощью критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что при хламидиозе отмечается увеличение содержания ОМБ. У больных осложненными формами урогенитального хламидиоза наблюдается более выраженное увеличение содержания альдегидо- и кетоноподобных белков как нейтрального, так и основного характера (табл. 1).

Таблица 1

Уровень окислительно модифицированных белков в сыворотке крови больных урогенитальным хламидиозом в зависимости от тяжести патологического процесса (M±m)

Обследуемые группы	Длина волны			
	370 нм		430 нм	
	спонтанные	металл-стимулированные	спонтанные	металл-стимулированные
Практически здоровые доноры	1,98 ± 0,17	3,28±0,21 ** < 0,001	0,92 ± 0,09	1,84±0,10 ** < 0,001
Пациенты, неосложненные формы хламидиоза	3,23 ± 0,31 * < 0,01	3,91±0,32	1,43±0,11	2,01± 0,30
Пациенты, осложненные формы хламидиоза	3,30 ± 0,31 * < 0,001	3,3 ± 0,29	1,67±0,09 * < 0,01	1,85± 0,27

Примечание: * р дано относительно группы практически здоровых доноров; ** – относительно уровня спонтанно модифицированных белков.

Окислительные процессы инициировали путем инкубации сыворотки крови в присутствии среды Фентона в течении 1 часа. Проведенный сравнительный анализ спонтанного и металл-катализируемого окисления белков по уровню карбонильных производных показал значительную разницу между исследуемыми группами. В условиях инициации окислительных процессов компонентами среды Фентона в сыворотке крови больных урогенитальным хламидиозом образуется значительно меньше ДФНГ, чем в группе здоровых доноров (табл.1). Вероятно, это связано с исходно высоким уровнем окислительно модифицированных

белков вследствие патологического состояния организма.

Окислительная деструкция белков связана с изменениями их структурной организации, которая может сопровождаться фрагментацией с образованием низкомолекулярных компонентов или агрегацией белковых молекул [1, 3]. Оценка степени фрагментирования кислоторастворимых белков показало, что при хламидиозе наблюдается достоверное увеличение продуктов фрагментации окисленных белков (при длине волн 272 нм та 280 нм), более выраженный характер эти изменения носят при осложненных формах хламидиоза (табл. 2).

Таблица 2

Степень фрагментации окислительно модифицированных белков сыворотки крови больных урогенитальным хламидиозом в зависимости от тяжести патологического процесса (M±m)

Обследуемые группы	254 нм		272 нм		280 нм	
	Спонтанный	Металл-катализируемый	Спонтанный	Металл-катализируемый	Спонтанный	Металл-катализируемый
Практически здоровые доноры	2,41± 0,026	2,75± 0,033	0,424± 0,023	0,886± 0,028	0,204± 0,022	0,602± 0,022
Пациенты, неосложненные формы хламидиоза	2,42± 0,057	2,96± 0,085 * < 0,05	0,496± 0,061 * < 0,05	1,08± 0,06 * < 0,05	0,256± 0,04 * < 0,01	0,762± 0,057 * < 0,01
Пациенты, осложненные формы хламидиоза	2,55± 0,065	3,02± 0,17 * < 0,05	0,599± 0,065 * < 0,01 ** < 0,05	1,04± 0,054 * < 0,05	0,317± 0,045 * < 0,001	0,720± 0,044 * < 0,01

Примечание: *- р дано относительно группы практически здоровых доноров; ** - относительно группы пациентов с неосложненными формами хламидиоза.

Под влиянием компонентов среды Фентона уровень фрагментированных белков возрастает во всех обследуемых группах при всех длинах волн, особенно в группе пациентов с осложненными формами хламидиоза. Вероятно, образовавшийся пул окисленно модифицированных белков активирует протеолиз и способствует дальнейшему усилению деструктивных процессов.

ВЫВОДЫ

1. У больных урогенитальным хламидиозом наблюдается повышение интенсивности процессов окисления белков, степень окисления которых зависит от течения инфекционного процесса. При осложненных формах хламидиоза эти изменения носят более выраженный характер, что проявляется более глубокими нарушениями окислительной деструкции белков сыворотки крови.

2. В условиях инициации окислительных процессов компонентами среды Фентона в сыворотке крови больных урогенитальным хламидиозом *in vitro* образуется значительно меньше ДФНГ, чем в группе здоровых доноров. Уровень фрагментированных белков возрастает во всех обследуемых группах при всех длинах волн, особенно в группе пациентов с осложненными формами хламидиоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каримов И.З. Окислительная модификация белков и перекисное окисление липидов в развитии метаболической интоксикации при патологии // Лабораторная диагностика. - 2005. - № 1 (31) – С.7-13.
2. Кондакова Г.К. Пероксидна окисація ліпідів та окисна модифікація білків мембран лімфоцитів при урогенітальному хламідіозі // Досягнення біології та медицини. - 2006. - №2 (8). - С.42-45.
3. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е.Е. Дубинина, М.Г. Морозова, Н.В. Леонова и соавт. // Вопр.мед.химии. - 2000. - Т.45, №4. - С.398-409.
4. Шебзухова Ф.К. Изменение иммунного статуса и антиоксидантной защиты у женщин с урогенитальным хламидиозом / Ф. К. Шебзухова, Т. П. Бондарь // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2010. - Т. 6, N 1. - С. 111-113.
5. Шеремета В.В., Лебедюк М.М. Персистуюча хламідійна урогенітальна інфекція: фактори і механізми виникнення та обґрунтування доцільності проведення подальших комплексних досліджень // Український журнал дерматології, венерології, косметології. - 2002. - №2 (5). - С.65-67.
6. The quantity of nitric oxide released by macrophages regulates Chlamydia-induced disease / Huang J., DeGraves F.J., Lenz S.D., Dongya Gao, Pu Feng, Dan Li, Schlapp, Katenboeck B. // Proc.Nat.Acad.Sci.USA. - 2002. - vol.99 (6). - P.3914-1919.