

К. О. Гурієнко

## ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТЕРАПІЇ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНИХ АНЕМІЯХ У ДІТЕЙ

Одеський державний медичний університет

Залізодефіцитна анемія (ЗДА) — це захворювання системи крові, зумовлене дефіцитом заліза в організмі, що супроводжується порушеннями його метаболізму, зменшенням концентрації гемоглобіну в еритроцитах, кількісними та якісними їх змінами, розвитком анемічної гіпоксії [4].

Одним із патогенетичних механізмів при розвитку ЗДА у дітей є гіпоксичний синдром, що супроводжується ендотоксикозом внаслідок переходу метаболізму на гліколітичний шлях, із посиленням вільнорадикальних процесів на фоні недостатньої активності антиоксидантної системи, порушення структури та функції мембран [2; 4].

Відомо, що перебіг будь-якого патологічного процесу в організмі залежить від інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [3]. Ступінь окисних вільнорадикальних процесів й активність антиоксидантних систем організму характеризуються нестійкою рівновагою і є неспецифічними показниками стану організму та його реакції на патологічний процес [3; 9; 11]. У реакціях окиснення постійно утворюються активні форми кисню, що при патології набуває характеру ланцюгової реакції та призводить до утворення перекисів ліпідів [9], нагромадження яких супроводжується ушкодженням мембран, у першу чергу, їхньої молекулярної структури. У здорових тканинах цьому процесу протистоять ферменти-антиоксиданти: глутатіонпероксидаза (ГП), глутатіонредуктаза (ГР) [5]. Вільні

радикали можуть мігрувати в міжклітинний простір і в плазмі крові. Поза клітиною їх не можна знищити за допомогою ферментів, оскільки сироватка крові й тканинні рідини бідні на антиоксидантні ферменти. У цих рідинах основна антиоксидантна роль належить мідьвмісному білку — церулоплазміну. Він за допомогою іонів міді зв'язує кисень, здійснюючи чотириелектронне відновлення кисню до води, внаслідок чого перетворюється на «перехоплювача» супероксидних радикалів [6; 10].

Медикаментозна корекція гіпоксії спрямована на стабілізацію процесів ПОЛ й антиоксидантного захисту клітин (АОЗ), збільшення дифузії кисню через біологічні бар'єри [11].

Бурштинова кислота, що міститься в органах і тканинах, є продуктом п'ятої реакції і субстратом шостої циклу трикарбонових кислот. Окиснення бурштинової кислоти у шостій реакції циклу Кребса здійснюється за допомогою сукцинатдегідрогенази, характерною рисою якої є локалізація на внутрішній поверхні мембран мітохондрій і незалежність її активності від концентрації окисненої та відновленої форми НАД (Ф)  $H_2$ , що дозволяє зберегти енергосинтезуючу функцію мітохондрій в умовах гіпоксії й ішемії при порушенні НАД-залежного дихання клітин. Виконуючи каталітичну функцію стосовно циклу Кребса, бурштинова кислота знижує в крові концентрацію інших інтермедіаторів даного циклу — лактату, пірувату та цитрату, що

нагромаджуються в клітині на ранніх стадіях гіпоксії [1; 7].

Феномен швидкого окиснення бурштинової кислоти сукцинатдегідрогеназою, що супроводжується АТФ-залежним відновленням пулу піримідинових динуклеотидів, дістав назву «монополізація дихального ланцюга», біологічне значення якого полягає у швидкому ресинтезі АТФ. У нервовій тканині функціонує так званий гамма-амінобутиратний шунт (цикл Робертса), під час якого бурштинова кислота утворюється з гамма-аміномасляної кислоти через проміжну стадію бурштинового альдегіду. В умовах стресу та гіпоксії утворення бурштинової кислоти можливе також у реакції окисного дезамінування альфа-кетаглутарової кислоти в печінці [8].

**Метою** даного дослідження стало вивчення ефективності антиоксидантної дії препарату «Янтарин» при лікуванні залізодефіцитних анемії у дітей.

### Матеріали та методи дослідження

Було обстежено 54 дитини із ЗДА різного ступеня тяжкості. Усі діти були розділені на 2 групи, порівнювані за віком і статтю. Ефективність терапії оцінювалася на підставі динаміки показників червоної крові, ПОЛ й АОС.

Для верифікації ЗДА були використані анамнестичні, гематологічні (загальний аналіз крові, кількість ретикулоцитів, форма та розміри еритроцитів) і біохімічні дані (рівень заліза у сироватці крові, загальна залізозв'язувальна здат-



ність сироватки, латентна залізов'язувальна здатність сироватки, коефіцієнт насичення трансферину).

Інтенсивність процесів ПОЛ досліджували за рівнем дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) у плазмі крові. Активність антиоксидантної системи оцінювали за рівнем ГР, ГП і глутатіону відновленого. Вірогідність розбіжностей визначали за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента.

### Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз активності процесів вільнорадикального окиснення ліпідів у плазмі крові всіх обстежених дітей із ЗДА показав вірогідне порівняно з нормою збільшення продуктів ПОЛ (ДК і МДА) і зниження ферментів АОЗ (ГР, ГП, глутатіон відновлений). Дані зміни свідчать про інтенсифікацію процесів перекисного окиснення ліпідів з одночасним ослабленням антиоксидантних механізмів на фоні існуючої гіпоксії.

Виходячи з цього, патогенетично обґрунтованим є призначення препаратів із групи антиоксидантів. Препаратом вибору стала бурштинова кислота, що зумовлено механізмом її дії. При застосуванні фізіологічних доз бурштинової кислоти можна виділити дві групи ефектів: а) пряма дія цієї кислоти на клітинний метаболізм; б) вплив бурштинової кислоти на транспорт вільного кисню в тканини.

Синтез гемі та його попередника — протопорфірину IX — це складний ферментативний процес, в якому беруть участь вітамін В6, пантотенова та ліпоєва кислоти, похідні тіаміну, а як кофактори — мідь і залізо; і можливий він тільки за наявності гліцину та бурштинової кислоти [7; 8].

У присутності цієї кислоти відзначається підвищення засвоюваності заліза за рахунок утворення добре розчинних у

воді комплексів, що швидко всмоктуються в тонкому кишечнику, не руйнуючись і не утворюючи незасвоюваних гідратів тривалентного окису заліза [1].

Бурштинова кислота, виявляючи антиоксидантні властивості, інгібує процеси ПОЛ, які індукуються іонами заліза в умовах ішемії та гіпоксії.

Антигіпоксична дія бурштинової кислоти зумовлена її впливом на транспорт медіаторних амінокислот, а також збільшенням вмісту в мозку гамма-аміномасляної кислоти за рахунок шунта Робертса. Бурштинова кислота в організмі в цілому нормалізує вміст гістаміну та серотоніну і підвищує мікроциркуляцію в органах і тканинах, насамперед у тканинах мозку, не впливаючи на артеріальний тиск, поліпшує показники роботи серця. Протиішемічний ефект цієї кислоти пов'язаний не тільки з активацією сукцинатдегідрогеназного окиснення, але і з відновленням активності ключового окисно-відновного ферменту дихального мітохондріального ланцюга — цитохром-оксидази [6; 7].

Сукцинат є стимулятором синтезу відновних еквівалентів у клітині завдяки феномену швидкого окиснення його в цитоплазмі, що супроводжується прискореним ресинтезом АТФ, на чому ґрунтується підвищення антиоксидантної резистентності бурштиновою кислотою і її похідними. Крім того, сукцинат позитивно впливає на оксигенацію внутрішнього середовища, стабілізує структуру і функціональну активність мітохондрій, є індуктором синтезу деяких білків, діє на іонний обмін у клітині. Переваги сукцинату щодо швидкості окиснення порівняно з іншими субстратами клітинного дихання найбільше виражені в умовах гіпоксії, коли НАД-залежний транспорт електронів у дихальному ланцюзі гальмується, а активність сукцинатдегідрогенази та продукції

ендогенного сукцинату зростає. Дослідження останніх років показали, що бурштинова кислота має біологічну активність і унікально поєднує свою дію: стосовно здорового організму сукцинати відіграють роль адаптогенів й ангіопротекторів, а за наявності патологічних проявів виявляють нетипово високий для адаптогенів терапевтичний ефект [1; 8].

У зв'язку з цим доцільним є застосування препаратів-антиоксидантів — похідних бурштинової кислоти з метою зменшення виразності ішемічних ушкоджень й антиоксидантних порушень у терапії залізодефіцитних анемії [2].

Діти контрольної й основної груп одержували стандартну феротерапію з розрахунку 5 мг/(кг·добу) елементарного заліза. Пацієнтам основної групи проводилася метаболічна корекція препаратом «Янтарин» перорально в дозі 30 мг/(кг·добу).

У дітей обох груп відзначена позитивна динаміка показників гемограми (табл. 1). Однак у дітей контрольної групи, що одержували тільки феропрепарати, статистично вірогідна нормалізація показників червоної крові (гемоглобін, еритроцити, кольоровий показник) відбувалася в середньому через (23,0±0,3) дня від початку лікування (P<0,05). В основній групі вірогідна нормалізація показників червоної крові відзначена в більш ранньому терміні — на (16,00±0,01) день від початку терапії (P<0,05). У дітей і основної, і контрольної групи повна нормалізація показників гемограми спостерігалася через 1 міс після початку терапії і була статистично вірогідною.

Показники рівня сироваткового заліза досягли норми через 1 міс від початку терапії як у контрольній, так і в основній групі і були статистично вірогідними.

У всіх дітей із ЗДА через 1 міс після проведеного ліку-



Показники червоної крові в дітей із залізодефіцитною анемією

Показники	До лікування		21 день		1 міс	
	Основна група (1)	Контрольна група (2)	Основна група (1а)	Контрольна група (2а)	Основна група (1б)	Контрольна група (2б)
Гемоглобін, г/л	99,20±1,01	98,60±0,92	114,20±0,05*	110,60±0,01	117,80±0,64**	112,26±0,17***
Еритроцити, Т/л	2,63±0,03	2,64±0,03	3,26±0,02*	2,93±0,06	3,48±0,02**	3,25±0,02***
Кольоровий показник	0,790±0,004	0,790±0,003	0,88±0,01*	0,800±0,002	0,900±0,004**	0,86±0,02***

Примітка. \* —  $P_{1-1a} < 0,05$ ; \*\* —  $P_{1-1б} < 0,05$ ; \*\*\* —  $P_{2-2б} < 0,05$ .

Таблиця 2

Показники активності ПОЛ й АОС у дітей із залізодефіцитною анемією

Показники	Норма	Основна група		Контрольна група	
		До лікування (1)	Після лікування (1а)	До лікування (2)	Після лікування (2а)
Малоновий діальдегід, мкмоль/л	3,50±0,06	5,23±0,08	4,05±0,03*	5,25±0,07	5,12±0,07**
Дієнові кон'югати, мкмоль/л	60,10±0,41	82,31±0,40	63,28±0,55*	82,74±0,37	80,26±0,32**
Глутатіон відновлений, мкмоль/л	762,50±0,95	540,40±2,77	749,50±2,34*	539,00±2,67	616,00±2,12**
Глутатіонредуктаза, мкмоль НАДФН/хв-мл	115,30±1,29	88,11±0,59	106,58±0,93*	89,08±0,52	95,40±0,46**
Глутатіонпероксидаза, нмоль/(г·хв)	82,64±0,67	55,70±0,39	76,99±0,31*	56,03±0,35	64,01±0,35**

Примітка. \* —  $P_{1-1a} < 0,05$ ; \*\* —  $P_{1a-2a} < 0,05$ .

вання відзначалася позитивна динаміка показників ПОЛ й АОС (табл. 2). Однак у контрольній групі ці зміни були статистично невірними. В основній групі відзначалося вірогідне порівняно з показниками до лікування зниження активності процесів ПОЛ, що виявлялося зниженням рівня ДК у 1,3 разу і МДА — теж у 1,3 разу. Одночасно з цим відзначалася вірогідна позитивна динаміка рівня ферментів АОС (збільшення кількості глутатіону відновленого в 1,4 разу, ГР — у 1,2 разу і ГП — у 1,4 разу) порівняно з показниками до лікування.

Зазначені зміни розцінювалися як доказ більш швидкого зниження рівня гіпоксії й антиоксидантного стресу в дітей основної групи.

### Висновки

1. У дітей із залізодефіцитною анемією відзначається посилення процесів ПОЛ і зни-

ження активності АОС. У зв'язку з цим патогенетично обгрунтованим є призначення антиоксидантних препаратів при залізодефіцитній анемії в дітей.

2. При використанні препаратів бурштинової кислоти, що мають антиоксидантну дію, встановлене зниження інтенсивності процесів ПОЛ і посилення активності ферментів антиоксидантного захисту в дітей із залізодефіцитною анемією.

3. При залізодефіцитній анемії в дітей призначення препаратів бурштинової кислоти, крім метаболічної дії, забезпечує позитивну динаміку відновлення показників червоної крові.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеева Л., Петров А., Саватеева Т. Янтарная кислота — основное действующее вещество новых метаболических препаратов // Врач. — 2001. — № 12. — С. 29-30.

2. Васильев С. Ц., Сафонов А. Б. Роль янтарной кислоты в терапии митохондриальных болезней у детей // Педиатрия. — 2000. — № 2. — С. 88-91.

3. Беседін В. М., Стадник О. А. Активність металоферментів антиоксидантного захисту крові при залізодефіцитній анемії вагітних у процесі лікування // Прак. медицина. — 1999. — № 5-6. — С. 9-16.

4. Бережной В. В., Корнеева В. В., Унич Н. К. Железодефицитные анемии в детском возрасте // Журн. прак. врача. — 2000. — № 5. — С. 13-23.

5. Гайдуківа С. М., Видиборець С. В. Проблема мікроелементозів у гематології // Укр. журн. гематології та трансфузіології. — 2002. — № 1 (2). — С. 10-14.

6. Денисенко П. П., Бурюэло А. Т., Софронова А. Ф. Сравнительная оценка влияния антиоксидантов на транспортную функцию крови при гипоксии // Эксперим. и клин. фармакология. — М., 1992. — С. 10.

7. Долиба Н. М., Кургалюк Н. Н. Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве / Под ред. М. Н. Кондрашовой, Ю. Г. Каминского. — Пущино, 1996. — С. 21-27.



8. Кондрашова М. Н., Каминский Ю. Г., Маевский Е. И. Янтарная кислота в медицине. — Пущино, 1997. — 300 с.

9. Маевский Е. И., Розенфельд А. С., Гришина Е. В. Митохондрии, клетки и активные формы кислоро-

да. — Пущино, 2000. — С. 102-104.

10. Синевич О. Ю., Степнов М. И. Железодефицитная анемия у детей раннего возраста: некоторые аспекты метаболических нарушений, их медикаментозная коррекция // Пе-

диатрия. — 2002. — № 2. — С. 54-59.

11. Ткаченко С. К., Громнацька Н. М. Залізодефіцитна анемія в дітей — важлива проблема сьогодні // ПАГ. — 2002. — № 6. — С. 9-12.

УДК 618.14-006:575.22:577.213.3:616-008.63

В. Г. Дубініна, В. П. Доменюк, Т. Г. Вербицька, В. В. Бубнов

## ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОСАТЕЛІТНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ ГЕНОТИПІВ ХВОРИХ ІЗ МІОМОЮ МАТКИ

Одеський державний медичний університет

### Вступ

Трансформація нормальних клітин людини є наслідком нестабільності геному, що охоплює екзони, інтрони, а також кілька класів повторюваних послідовностей, серед яких найбільш практичним виявилось дослідження мінливості мікросателітної ДНК. Проявом мікросателітної нестабільності (microsatellite instability — MSI) є виникнення аберантного алеля мікросателітного маркера в результаті делеції або ампліфікації одного або декількох повторів, що його утворюють [1]. Накопичення таких змін у рецепторах факторів росту, транскрипційних і проапоптозних факторах, мембранних білках, регуляторах клітинного циклу (що кодуються такими генами, як TGFBR2, BAX, E2F4, IGFBP3, BLM, генами системи репарації hMSH3 і hMSH6) є основним молекулярним механізмом, за допомогою якого клітини з MSI набувають функціональних змін із можливою потенційною дією [2]. Показано, що мікросателітна нестабільність є наслідком інактивації генів системи репарації подинних нуклеотидів (mismatch

repair genes), переважно hMLH1 або hMSH2 в результаті гермінальних мутацій, що свідчить про високу ймовірність виникнення трансформуючих мутацій у цілому геномі та може бути додатковим маркером ризику розвитку злоякісної пухлини [3; 4]. Вперше феномен мікросателітної нестабільності виявлено у клітинах спадкового неполіпозного раку товстої кишки. Ушкодження генів hMSH2 і hMLH1 системи репарації виявлено більш ніж у 80 % пацієнтів зі спадковим раком товстої кишки (СРТК) і у 10–15 % хворих зі спорадичними карциномами товстої кишки, шлунка, молочної залози, легенів [5–7].

Висока мікросателітна нестабільність суттєво знижує толерантність пацієнта до хіміотерапії. Таким хворим потрібні альтернативні методи лікування, а хіміотерапія протипоказана [8]. Дослідження мікросателітів, найбільш чутливих до дефектів системи репарації, на наявність мікросателітної нестабільності геному дозволить виробити процедуру діагностики прогресування пухлини [1–8].

Огляд доступних літературних джерел свідчить про ретельне дослідження мікросате-

літної нестабільності у зв'язку з розвитком раку, тимчасом як практично невивченими залишаються геномні перебудови, що призводять до утворення доброякісних пухлин, серед яких в Одеському регіоні останнім часом переважають міоми.

**Метою** даної роботи є дослідження мікросателітної нестабільності генотипів хворих із міомою матки, а в подальшому — і створення ДНК-маркерів для діагностики та прогнозування виникнення, розвитку чи лікування міом.

### Матеріали та методи дослідження

Тканину міом і міометрія отримано від хворих із гінекологічного відділення 2-ї міської клінічної лікарні м. Одеси; ДНК виділено зі зразків від 15 хворих на міому матки. Для порівняння використовували ДНК, виділену з міометрія тих самих хворих. Зі зразків тканини за стандартною методикою фірми “Promega” набором “DNA purification kit” виділяли ДНК.

Кількість та якість виділених препаратів ДНК оцінювали з допомогою електрофорезу в агарозному гелі та спектрофотометрично.

