

Окисна модифікація протеїнів плазми крові хворих на вульгарний псоріаз

Г.О. Семко, О.А. Сокол, Г.К. Кондакова

ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Реферат.

Мета – вивчення стану показників окисної модифікації протеїнів в плазмі крові хворих на вульгарний псоріаз.

Матеріали та методи. Було обстежено 18 хворих на вульгарний псоріаз (середній вік – 44,4 років) та група умовно здорових донорів – 22 особи, які склали контрольну групу. В плазмі крові визначалась окисна модифікація протеїнів за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином.

Результати. У хворих на вульгарний псоріаз виявлено значні порушення процесів окисної модифікації протеїнів плазми крові (спонтанної та метал-каталізованої).

Висновки. У хворих на вульгарний псоріаз період загострення захворювання супроводжується карбонільним стресом, що підтверджується значним підвищенням у крові вмісту альдегід- та кетонфенілгідразонів.

Ключові слова: псоріаз, окисна модифікація протеїнів

DOI: 10.33743/2308-1066-2022-3-7-9

Вступ

Відомо, що псоріаз має мультифакторіальний характер [9] з великою часткою генетичної детермінанти [4] та існує ряд інших теорій патогенезу псоріазу, таких як вірусна, обмінна, нейроендокринна [5], проте кожна з них потребує суттєвого підкріплення, що підтримує постійний інтерес дослідників до цього захворювання [6,7]. Особливу увагу серед інших патохімічних змін при псоріазі приділяється стану процесів вільнорадикального окиснення [1, 9].

Білки є основними мішенями дії активних форм кисню (АФК) та активних карбонільних сполук (АКС), оскільки вони є основними органічними складовими і відповідають за більшість метаболічних процесів у клітинах. Було показано, що білки акцептують до 50–75% АФК [3, 10], що призводить до їхньої окисної модифікації і змін функціональної активності [2, 3].

Враховуючи, що ОМП з утворенням карбонільних похідних відбувається як у клітині, так і поза її межами, метою дослідження було вивчити стан показників окисної модифікації протеїнів в плазмі крові хворих на вульгарний псоріаз.

Матеріали та методи

Було обстежено 18 хворих на вульгарний псоріаз (середній вік – 44,4 років) та група умовно здорових донорів – 22 особи, які склали контрольну групу. Дослідження виконані відповідно до принципів Гельсінської Декларації. Протокол дослідження ухвалено етичним комітетом ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України». На проведення досліджень отримано інформовану згоду пацієнта.

Для оцінки спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) використовували методику визначення рівня карбонільних похідних за R.L. Levine в модифікації Є.Є. Дубініної [8]. Визначення окисної модифікації протеїнів (ОМП) плазми крові проводили за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ). До 0,5 мл плазми крові додавали 1 мл 20% розчину трихлороцтової кислоти та ретельно перемішували. До денатурованих білків додавали 1,0 мл 0,1 М 2,4 ДНФГ, розчинений у 2 М розчині НСІ. Інкубацію здійснювали при кімнатній температурі протягом 1 години, потім проби центрифугували при 3000 об./хв. 20 хв. Осад промивали тричі 5% розчином трихлороцтової кислоти для екстракції ліпідів та 2,4-ДНФГ, які не реагували із карбонільними групами окислених білків. Осад розчиняли у 3,0 мл 8 М розчину сечовини. Для кращого розчинення осаду додавали одну краплю 2 М розчину НСІ. Оптичну щільність динітрофенілгідразинів, що утворилися, реєстрували на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 370 нм та 430 нм проти контролю. Контрольна проба готувалась аналогічно, тільки замість 2,4 ДНФГ до денатурованих білків додавали 2 М розчин НСІ. Ступінь ОМП виражали в одиницях оптичної щільності на 1 мл плазми крові

Для ініціації ОМП використовували середовище Фентона: 0,1 М фосфатний буфер (рН 7,4), Fe^{2+} (10^{-3} М), ЕДТА (10^{-3} М), цей комплекс готували ex tempore, та H_2O_2 (3×10^{-4} М). При аналізі метал-ініційованої модифікації білків до проби додавали середовище Фентона. Контрольна проба містила 0,95 мл фосфатного буферу та 0,05 мл плазми, дослідна – 0,05 мл плазми, 0,05 мл розчину, що містить Fe^{2+} (10^{-3} М),

ЕДТА (10^{-3} М), 0,05 мл розчину H_2O_2 (3×10^{-4} М) та 0,85 мл фосфатного буферу. Після інкубації білки осаджували 20% розчином трихлороцтової кислоти та центрифугували при 3000 г.

Всі розрахунки проводились з використанням програми Microsoft Excel (Office 365). Вірогідність міжгрупових відмінностей розраховували за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Уїтні. Рівень відмінностей розглядався як статистично значущий при ймовірності помилки ($P < 0,05$).

Результати та їх обговорення

Дослідження ступеня ОМП за визначенням ранніх (альдегідфенілгідрозони) та пізніх (кетонфенілгідрозони) продуктів показало, що у сироватці крові хворих на псоріаз частка первинних (АДНФГ) і вторинних (КДНФГ) маркерів практично не відрізнялася від співвідношення в контрольній групі і складала 31% та 69%, відповідно. Що стосується вмісту ОМП, то значення

як АДНФГ, так і КДНФГ у хворих на дерматоз були вищими ніж в контрольній групі (табл. 1).

Варто зазначити, що у хворих на псоріаз вміст КДНФГ був більшим в 1,4 рази відносно групи умовно здорових донорів ($P = 0,051$), АДНФГ – в 1,5 рази ($P = 0,031$) (табл. 1).

Стимульоване окиснення на даний час розглядають як посттранскрипційну окисну модифікацію протеїнів, яка виявляє зміни амінокислот, що входять до складу поліпептидного ланцюга, та модифікації, пов'язані з конформацією молекули і станом протеїнового оточення [2].

При оцінюванні стимульованої ОМП встановлено вірогідно вищі значення АДНФГ у обох дослідних групах у сироватці крові відносно вихідного фону. У сироватці крові рівень КДНФГ після стимуляції був вірогідно більшим у контрольній групі відносно вихідного фону, що може свідчити про те, що у хворих на псоріаз спостерігається значне накопичення вторинних продуктів

Таблиця 1. Показники спонтанної окисної модифікації протеїнів у сироватці крові хворих на псоріаз та умовно здорових донорів

Вміст кетондинітрофенілгідрозонів нейтрального характеру			
Контроль	Псоріаз	U	p
1,9 [1,41; 2,54]	2,67 [1,82; 4,13]	158	0,051
Вміст альдегіддинітрофенілгідрозонів основного характеру			
Контроль	Псоріаз	U	p
0,86 [0,62; 1,14]	1,37 [0,95; 1,64]	163	0,031

Примітка: дані представлені як Me [LQ; UQ]; U – вибірковий критерій Манна-Уїтні; $p < 0,01$

Таблиця 2. Показники стимульованої окисної модифікації протеїнів у сироватці крові хворих на псоріаз та умовно здорових донорів за рівнем кетондинітрофенілгідрозонів нейтрального характеру

Контрольна група			
до стимуляції	після стимуляції середовищем Фентона	U	p
1,9 [1,41; 2,54]	3,17 [2,65; 3,75]	68	$4,42 \times 10^{-5*}$
Псоріаз			
до стимуляції	після стимуляції середовищем Фентона	U	p
2,67 [1,82; 4,13]	3,59 [3,20; 4,35]	32	0,17
Після стимуляції			
Контроль	Псоріаз	U	p
1,83 [1,61; 2,49]	2,06 [1,79; 2,46]	141	0,21

Примітка: дані представлені як Me [LQ; UQ]; U – вибірковий критерій Манна-Уїтні; $p < 0,01$

Таблиця 3. Показники стимульованої окисної модифікації протеїнів у сироватці крові хворих на псоріаз та умовно здорових донорів за рівнем альдегіддинітрофенілгідрозонів основного характеру

Контрольна група			
до стимуляції.	після стимуляції середовищем Фентона	U	p
0,86 [0,62; 1,14]	1,83 [1,61; 2,49]	53	$9,15 \times 10^{-6*}$
Псоріаз			
до стимуляції.	після стимуляції середовищем Фентона	U	p
1,37 [0,95; 1,64]	2,07 [1,79; 2,46]	10	0,0025*
Після стимуляції			
Контроль	Псоріаз	U	p
3,17 [2,65; 3,75]	3,59 [3,20; 4,35]	142	0,19

Примітка: дані представлені як Me [LQ; UQ]; U – вибірковий критерій Манна-Уїтні; $p < 0,01$

внаслідок оксидативного стресу, які вже не піддаються додатковому стимулюванню ОМП.

На даний час вже накопичено результати досліджень, у яких показано позитивну кореляцію між процесами ОМП і ліпідів. У таких модифікованих білків змінюється функціональна активність. Вони піддаються деградації протеолітичними ферментами і, разом з тим, можуть слугувати джерелом вільних радикалів. Карбонізовані білки утворюють нерозчинні агрегати, які не можуть бути знешкоджені протеазами, що призводить до ушкодження клітин та тканин. Всі ці процеси можуть викликати порушення структури ліпідного рафту, що супроводжується інгибуванням активності сигнальних білків, що присутні в них.

Накопичення модифікованих білків призводить до їх самоасоціації з утворенням великих агрегатів, які не піддаються дії ензимів протеолітичної ланки, така

реакція призводить до порушення структури та функцій білків, тканин. Новоутворені комплекси можуть поглинатись клітинами шляхом ендцитозу, після чого відбувається їх деградація під дією внутрішньоклітинних протеаз і виведення залишків. Взаємодія циркулюючих рецепторів з ОМБ-лігандами призводить до утворення ди-, три-, тетра-, пентаметрів. Вірогідно, при псоріазі зв'язування з лігандами може запускати каскад внутрішньоклітинного сигналіну, а також активацію запалення та індукцію апоптозу.

Висновки

У хворих на вульгарний псоріаз період загострення захворювання супроводжується карбонільним стресом, що підтверджується значним підвищенням у крові вмісту альдегід- та кетонфенілгідрозонів у 1,5 та 1,4 рази, відповідно, що є свідченням участі окисної модифікації білків у патогенетичних процесах при псоріазі.

Література

1. Біловол А. М. Стан процесів перекисного окислення ліпідів та окисної модифікації білків у хворих на псоріатичну хворобу. *Ліки України*. 2010. № 1. С. 27–29
2. Бучко П. І., Марущак М. І. Особливості окислювальної модифікації протеїнів при комбінованій дії харчових добавок. *Медицина та клінічна хімія*. 2020. Т. 22. № 4. С. 47–55
3. Губський Ю. І. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы). *Современные проблемы токсикологии*. 2005. 8. № 3. С. 20–27.
4. Ємченко Я. О. Роль локального запалення в імунітопатогенезі псоріазу. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2019. Т. 19. № 1. С. 109–114. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.19.1.109>
5. Короленко В. В., Степаненко Р. Л. Медико-соціальні аспекти псоріазу. *Український журнал дерматології венерології косметології*. 2017. № 1. С. 46–51.
6. Лопандина А. А., Болотная Л. А. Клиническое значение провоспалительных иммунных медиаторов при псориазе. *Дерматология та венерология*. 2018. № 3. С. 13–16.
7. Олейник І. А., Солошенко Э. Н., Гаврилюк А. А. Особенности нарушений в системе цитокинов у больных псориазом. *Дерматология та венерология*. 2015. № 4. С. 58–66.
8. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е. Е. Дубинина, М. Г. Морозова, Н. В. Леонова [и др.]. *Вопр. мед. химии*. 2000. 46. № 4. С. 398–409.
9. Guselkumab for the Treatment of Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis During Induction Phase: A Systematic Review and Network Meta-Analysis / C. Cameron, C. Druchok, B. Hutton, et al. *Journal of Psoriasis and Psoriatic Arthritis*. 2019. № 4. P.81–92
10. Oxidized proteins in plasma of patients with heart failure: role in endothelial damage / C. Banfi, M. Brioschi, S. Barcella, F. Veglia. *Eur J Heart Fail*. 2008. Vol.10(3). P.244–51.

References

1. Bilovol A.M. Stan protsesiv perekysnoho oksylennia lipidiv ta oksnoi modyfikatsii bilkiv u khvorykh na psoriatichnu khvorobu [State of the processes of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins in patients with psoriatic disease]. *Liky Ukrainy*. 2010;1:27–29. [in Ukr.]
2. Buchko P.I., Marushchak M.I. Osoblyvosti oksylyvalnoi modyfikatsii proteiniv pry kombinovanii dii kharchovykh dobavok [Peculiarities of oxidative modification of proteins during the combined action of food additives]. *Medychna ta klinichna khimiya*. 2020; 22(4):47–55. [in Ukr.]
3. Gubskiy YU.I. Toksikologicheskie posledstviya oksylytel'noj modyfikatsii belkov pri razlichnykh patologicheskikh sostoyaniyah (obzor literatury) [Toxicological consequences of oxidative modification of proteins in various pathological conditions (literature review)]. *Sovremennye problemy toksikologii*. 2005; 8(3):20–27. [in Ukr.]
4. Yemchenko Ya.O. Rol' lokal'nogo zapalennya v imunopatogenezі psoriazu [Role of local inflammation in the immunopathogenesis of psoriasis]. *Aktual'ni problemy' suchasnoyi medy'cy ny': Visnyk' Ukrayiny' koyi medy'chnoy stomatologichnoyi akademiyi*. 2019; 19(1):109–114. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.19.1.109>. [in Ukr.]
5. Korolenko V.V., Stepanenko R.L. Medyko-sotsialni aspekty psoriazu [Medico-social aspects of psoriasis]. *Ukrainskyi zhurnal dermatologii venerologii kosmetologii*. 2017; 1: 46–51. [in Ukr.]
6. Lopandina A.A., Bolotnaya L.A. Klinicheskoe znachenie provospalitel'nykh immunnykh mediatorov pri psoriaze [Clinical significance of pro-inflammatory immune mediators in psoriasis]. *Dermatology and venereology*. 2018; 3:13–16. [in Ukr.]
7. Olejnik I.A., Soloshenko E.N., Gavrilyuk A.A. Osobennosti narushenij v sisteme citokinov u bol'nykh psoriazom [Features of disorders in the cytokine system in patients with psoriasis]. *Dermatology and venereology*. 2015; 4:58–66. [in Ukr.]
8. Dubinina E.E., Morozova M.G., Leonova N.V. [i dr.]. Okislitel'naya modyfikatsiya belkov plazmy krovi bol'nykh psicheskimi rasstrojstvami (depressiya, depersonalizatsiya) [Oxidative modification of blood plasma proteins in patients with mental disorders (depression, depersonalization)]. *Vopr. med. himii*. 2000;46(4): 398–409. [in Rus.]
9. Cameron C., Druchok C., Hutton B., et al. Guselkumab for the Treatment of Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis During Induction Phase: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Journal of Psoriasis and Psoriatic Arthritis*. 2019; 4:81–92
10. Banfi C., Brioschi M., Barcella S., Veglia F. Oxidized proteins in plasma of patients with heart failure: role in endothelial damage. *Eur J Heart Fail*. 2008; 10 (3):244–51.

OXIDATIVE MODIFICATION OF BLOOD PLASMA PROTEINS OF PATIENTS WITH PSORIASIS VULGARIS

Semko G. O., Sokol O. A., Kondakova H. K.

SE «Institute of Dermatology and Venereology of NAMS of Ukraine»

Abstract

The aim is to study the state of indicators of oxidative modification of proteins in the blood plasma of patients with psoriasis vulgaris.

Materials and Methods. 18 patients with psoriasis vulgaris (average age – 44.4 years) and a group of healthy donors – 22 persons, who made up the control group – were examined. Oxidative modification of proteins was determined in blood plasma by reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine.

Results In patients with psoriasis vulgaris, significant violations of the processes of oxidative modification of blood plasma proteins (spontaneous and metal-catalyzed) were detected.

Conclusions. In patients with psoriasis vulgaris, the period of exacerbation of the disease, is accompanied by carbonyl stress, which is confirmed by a significant increase in the blood content of aldehyde and ketone phenylhydrazones.

Keywords: psoriasis, oxidative protein modification

Відомості про авторів

Семко Галина Олександрівна – канд. біол. наук, старший наук. співробітник лабораторії біохімії ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9465-224X>

Сокол Оксана Анатоліївна – канд. біол. наук, старший наук. співробітник лабораторії мікробіології, імунології та молекулярної генетики, ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9162-1416>

Кондакова Ганна Костянтинівна – канд. біол. наук, завідувач лабораторії біохімії ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків. e-mail: anakondak@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7739-1922>