



УДК 616-007.1-018.2-053.6:[577.112.4+577.115.4]

A MODERN VIEW ON THE PECULIARITIES OF PROTEIN AND LIPID PEROXIDATION IN ADOLESCENT CHILDREN WITH UNDIFFERENTIATED CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ БІЛКІВ І ЛІПІДІВ У ДІТЕЙ ПІДЛІТКОВОГО ВІКУ З НЕДИФЕРЕНЦІЙОВАНОЮ ДИСПЛАЗІЄЮ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ

Pochynok T.V. / Починок Т.В.*Ph.D., Professor/д.м.н., проф.*

ORCID: 0000-0003-0802-2071

Vasiukova M.M. / Васюкова М.М.*Ph.D., Associate Professor/к.м.н., доц.*

O.O. Bogomolets National Medical University,

Kyiv, T. Shevchenko Bouvlyar, 13, 01601

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця,.

Київ, бульвар Т.Шевченка, 13, 01601

Анотація. Складність морфології, функції та розповсюдженість сполучної тканини в організмі визначають активну участь її основних елементів у формуванні та розвитку багатьох видів патології. За даними досліджень кафедри педіатрії №1 недиференційована дисплазія сполучної тканини (НДСТ) зустрічається у 86% дітей підліткового віку м. Києва. У 40% з них реєструються тяжкі прояви цього стану (наявність 10 і більше фенотипових ознак дисембріогенезу). Метою нашого дослідження було оцінити стан перекисного окиснення ліпідів і білків у дітей підліткового віку що мають недиференційовану дисплазію сполучної тканини (НДСТ). У дослідженні взяли участь 63 дитини (33 дітей з НДСТ та 30 дітей без НДСТ) у яких вимірювали показники перекисного окиснення ліпідів і білків у плазмі крові і в мембранах еритроцитів. Для вимірювання рівня загального холестерину (ЗХ) використовували ферментативний, колориметричний метод. Рівень фосфоліпідів аналізували методом рідинної хроматографії/мас-спектрометрії з використанням іонізації електророзпиленням. Перекисне окиснення ліпідів вивчали шляхом оцінки зміни індексу перекисної модифікації ліпопротеїдів та кінцевого продукту перекисного окиснення - малонового діальдегіду (МДА), що вивчали спектрофотометричним методом. Перекисне окиснення білків оцінювали за вмістом карбонільних похідних білка на основі дериватизації 2,4 динітрофенілгідразонів. Активність ферментів системи антиоксидантного захисту (САОЗ) оцінювали шляхом вимірювання каталази (КТ) і супероксиддисмутази (СОД). Дисбаланс САОЗ вивчався як у плазмі крові, так і в мембранах еритроцитів. Найбільш чутливими до процесів окиснення виявились білки плазми, що підтвердилось достовірним підвищення продуктів ПОБ в плазмі венозної крові, одночасно з продуктами ПОЛ в еритроцитах у дітей з НДСТ.

Ключові слова: діти, недиференційована дисплазія сполучної тканини, перекисне окиснення білків, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантні ферменти, система антиоксидантного захисту.

Вступ.

Раніше, проведеними нами дослідженнями, було доведено, що у дітей з недиференційованою дисплазією сполучної тканини виникає оксидативний стрес. У стані окисного стресу під час взаємодії оксиду азоту (NO) і супероксид-



аніону надлишково синтезується пероксинітрит. У разі нерадикального розпаду пероксинітриту утворюється нітрат азоту (NO_3^-), а при розпаді радикалів утворюється радикал OH^- , відомий як активатор аргінази [1].

В свою чергу, доведено, що оксидативний стрес призводить, з одного боку, до збільшення синтезу попередників колагену, і з іншого боку, до обмеження утворення NO через ендотеліальну NO-синтазу (eNOS) внаслідок конкуренції eNOS і аргінази за спільний субстрат, L-аргінін. Присутність такої конкуренції обмежує доступність NO, з розвитком ендотеліальної дисфункції, що підтримує прозапальні, протромботичні, проліферативні та судинозвужувальні процеси в організмі дітей із НДСТ [2].

Порушення біодоступності NO також може бути пов'язане з продукцією супероксид-аніона, який швидко зв'язує та інактивує NO. Встановлено, що синтез супероксид-аніону стінкою судин підвищується при гіперхолестеринемії, цукровому діабеті, артеріальній гіпертензії, палінні та інших патологічних процесах [3-8]. Утворення високотоксичного пероксинітриту (ONOO^-), яке супроводжує взаємодію супероксид-аніону та NO, сприяє активації перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), що призводить до утворення альдегідів (в т.ч. малонового діальдегіду), кетонів, дієнових кон'югатів, тощо. В умовах стійкого порушення фізіологічної рівноваги між анти- та прооксидантними процесами в бік прооксидантних, можлива активація ПОЛ, що супроводжується пошкодженням клітин організму [9]. Біля 95% кисню відновлюється до води в мітохондріях під час окисного фосфорилування, тоді як решта 5% перетворюються на активні форми кисню (АФК) за допомогою різних реакцій (зазвичай ферментативних).

На додаток до активації ПОЛ, АФК можуть викликати перекисне окислення білка (ПОБ), або окислення та модифікацію білків, внаслідок чого відбувається окисне руйнування білків у клітинах і тканинах, що поглиблює пошкодження мембран [10]. Слід зазначити, що в стані окисного стресу, АФК в першу чергу впливають на білки плазматичних мембран, а не на ліпіди. Нейтралізація клітинних АФК базується на системі антиоксидантного захисту (АОСЗ), яка



поєднує кілька ферментів, таких як супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КТ), глутатіонпероксидаза, а також деякі низькі молекулярні антиоксиданти - вітамін С, глутатіон і сечова кислота.

Аналіз наукової літератури свідчить про те, що значна кількість робіт присвячена ПОЛ, тоді як менше уваги приділяється окислювальній деструкції клітинних і тканинних білків, що стало новизною цього дослідження. Вважається, що модифікація білка відіграє певну роль у сигналізації про зміну метаболізму клітин [11]. Це пов'язано з тим, що в амінокислотах є сульфо- і аміногідроксильні групи які піддаються перекисному окисленню, що призводить до утворення зшивок між білками або між білком та іншими NH_2 -вмісними молекулами.

Виходячи з вище викладеного, загальною метою роботи було дослідження стану окислення і модифікація білків і ліпідів, а також активності СОД і КТ у дітей з НДСТ. Отже, як показник перекисної модифікації ліпопротеїдів та кінцевого продукту процесу ПОЛ, індикатором інтенсивності ПОЛ використовувався малоновий діальдегід (МДА), який є маркером окисного стресу [12]. Відомо, що вільні радикали утворюють процес перекисного окислення ліпідів в організмі, а збільшення вільних радикалів стимулює надлишковий синтез МДА, який є кінцевим продуктом перекисного окислення поліненасичених жирних кислот у клітинах. Для вимірювання ступені перекисного окислення ліпідів використовують різні біомаркери, але найчастіше при різній патології (рак, діабет, хвороба Альцгеймера) і токсикології використовують кількісне визначення МДА [13]. Крім того, окислення білків, викликане вільними радикалами, оцінювали за профілем вмісту карбонільних похідних білків. Що стосується САОЗ, дослідження проводили за вмістом КТ і СОД в мембрані еритроцитів і плазми крові, як було запропоновано раніше [14-17].

Матеріали і методи.

У дослідженні взяли участь 63 дитини (28 дівчат і 35 хлопчиків) віком 11-18 років. Серед них 33 дітей (13 дівчаток і 20 хлопчиків) з НСТД і 30 дітей (15



дівчаток і 15 хлопчиків) без НДСТ. Дослідження проводилося на клінічній базі кафедри педіатрії №1 НМУ імені О.О.Богомольця в дитячій клінічній лікарні №4 Солом'янського району м.Києва. Під час обстеження діти не хворіли на ГРЗ, або іншу гостру патологію; обстежувались через місяць після гострого процесу. Усі діти відвідували загальноосвітню школу. НДСТ діагностували за допомогою запатентованої спеціальної таблиці фенотипових ознак [18]: при наявності шести і більше фенотипових ознак дисплазії встановлювався діагноз НДСТ. Для уточнення діагнозу проводили комплексне клініко-лабораторне обстеження з метою визначення інших клініко-патологічних особливостей обох груп; використовували електрокардіографічні та ехокардіологічні дослідження. Проводили УЗД органів червоної порожнини, езофагогастродуоденоскопію, гістологічне дослідження слизової оболонки шлунка та дихальний тест на *Helicobacter pylori*.

Для лабораторного дослідження використовували венозну кров кожної дитини яку збирали вранці натщесерце. Методом спектрофотометрії визначали інтенсивність процесів ПОЛ: індекс перекисної модифікації ліпопротеїдів, малоновий діальдегід (МДА) (отриманий із плазми крові та мембрани еритроцитів). МДА визначали за допомогою тіобарбітурової кислоти (реактиви 0,025 М Tris-HCL буфер (рН 7,4), що містить 0,175 М хлориду калію; 17% розчин трихлороцтової кислоти; 0,8% розчин 2-тіобарбітурової кислоти) [19].

Визначення активності САТ вимірювали за методом Бютлера [14]. Каталаза каталізує розпад H_2O_2 до H_2O та O_2 . Швидкість розкладання H_2O_2 на каталазу вимірювали спектрометрично при 230 нм (оптимальна довжина хвилі). Додавали етанол для стабілізації гемолізату шляхом розщеплення «комплексу II» каталази та H_2O_2 . Після додавання 50 мкл трис-буферу, 900 мкл H_2O_2 і 30 мкл H_2O в кювети, систему інкубували при 37°C протягом 10 хвилин додавали гемолізат, а в наступні 10 хвилин спостерігалось зниження оптичної густини, яку вимірювали відносно контрольного зразка при 412 нм [15]. Активність СОД вимірювали за методикою, описаною Фрідовичем [16]. В цьому методі використовується ксантин і ксантиноксидаза для генерації супероксидних



радикалів, які реагують з йодонітротетразолієвим синім з утворенням червоного формазанового барвника, який вимірювали при 505 нм. Середовище для аналізу складалося з 0,01 моль/л фосфатного буфера, 3-циклогексиламіно-1- буферний розчин пропансульфонової кислоти (CAPS) (50 ммоль/л CAPS, 0,94 ммоль/л EDTA, насичений NaOH (рН 10,2), розчин субстрату (0,05 ммоль/л ксантину, 0,025 ммоль/л ІНТ) і 80 ОД/л. ксантинооксидаза [17].

Карбонільні похідні білків визначали по кількості кінцевих продуктів окислювальної модифікації 2,4-динітрофенілгідразонів (ДНФГ) [20]. Зразок (1-1,5 мг білка/мл) ділили на дві порції по 1 мл; позначений як «Тест» і «Контроль». Зразки осаджували 10% трихлороцтовою кислотою (кінцевої концентрації). Зразки обробляли рівним об'ємом 0,2% ДНФГ у 2 М НСІ, а в контрольні проби додавали лише 2 М НСІ. Зразки інкубували при кімнатній температурі в темряві протягом 1 год, перемішуючи кожні 10 хв, після чого центрифугували 15-20 хвилин при 3000 g. Потім осад промивали 3 рази етанолом-етилацетатом (л:л, за об'ємом). Гранули обережно зціджували та розчиняли в 3 мл карбаміду 8 М і потім зразки інкубували 5 хвилин при 100°C. Нерозчинний осад видаляли шляхом центрифугування при 6000 g і 4°C. Вміст реактивного карбонілу розраховували за його пік поглинання (365 нм) з використанням молярного коефіцієнта поглинання 21,0 мМ⁻¹ см⁻¹. Концентрацію загального білка вимірювали методом Бредфорда [21].

Холестерин визначали ферментативним, колориметричним методом. Холестерин у зразку гідролізували на холестерин і жирну кислоту за допомогою ферменту холестеролестерази. Вільний холестерин потім окислювався холестеролоксидазою до утворення пероксиду водню. Потім перекис реагував з 4-аміноантипірином (АП) та гідроксибензоатом, використовуючи пероксидазу як каталізатор, для утворення сполуки червоного кольору. Інтенсивність кольору, яку виміряли при 505 нм, була пропорційна загальному вмісту холестерину в зразку. Фосфоліпідні аналізували за допомогою рідинної хроматографії/мас-спектрометрії, з використанням електророзпилюючої іонізації [22].



Отримані дані були статистично оброблені за допомогою Microsoft Excel 07 та Statistica 5.0, де відмінності між порівнюваними значеннями вважалися вірогідними при $p < 0,05$. При аналізі варіаційних рядів, що відрізняються за формою від нормального розподілу, використовувались непараметричні критерії (X^2 і метод Фішера).

Результати і обговорення дослідження.

Серед дітей з ознаками НДСТ найчастіше спостерігався MASS фенотип, який спостерігався у 21 (62%) дитини; Елерсоподібний фенотип - у 5 дітей (15%), Марфаноподібний - у 7 (21%) дітей (табл. 1). Загалом, MASS фенотип має клінічні ознаки, які включають пролапс мітрального клапана, розширення кореня аорти, зміни шкіри (шкірні стрії, сітка Франка). Особливості скелета включали викривлення хребта (кіфотична та/або сколіотична постава), деформації грудної клітки, гіпермобільність суглобів. Дисгармонічний фізичний розвиток спостерігався у 30 (91%) дітей із НДСТ; решта - 3 (9%) дитини з НДСТ мали ІМТ у межах норми. У дітей без ознак НДСТ дисгармонічний фізичний розвиток спостерігався у 3 дітей (10%). Більшість дітей з НДСТ (27 дітей, 82%) мали прояви хронічної неспецифічної інтоксикації у вигляді посилення втоми, емоційної лабільності, неспокійного сну, підвищеної пітливості, головного болю у другій половині дня, артралгії та міалгії, тоді як лише 4 (13%) пацієнтів без НДСТ мали хронічні неспецифічні симптоми інтоксикації (табл. 1).

Визначення артеріального тиску свідчило про його зниження до вікової норми у 29 (87,9%) дітей з ознаками НДСТ та у 6 (20%) дітей без НДСТ. Певною мірою, знижений артеріальний тиск може пояснити ознаки функціональної міокардіопатії у 30 (91%) дітей. Зміни в серці, також проявлялися приглушеністю тонів, функціональними шумами на верхівці серця та у V точці (точка Боткіна-Ерба), які були зареєстровані у 29 (88%) дітей з НДСТ та 7 (23%) дітей без НДСТ. Діти з НДСТ мали порушення ритму серця у вигляді синусової тахі- та брадиаритмії. На ЕКГ були виявлені порушення провідності (неповна блокада правої ніжки пучка Гіса, синдром вкороченого PQ), та порушення реполяризації (інверсія інтервалу ST).



Обстеження лімфатичної системи дітей виявило збільшення регіонарних лімфовузлів (задньошийних, передньошийних, підщелепних, пахвових та пахвинних), яка спостерігалась у 29 (87,9%) дітей із НДСТ. і 6 (20%) дітей без НДСТ. Хронічний тонзиліт діагностовано у 29 (87,9%) випадках НДСТ та у 7 (23,3%) дітей групи контролю (табл. 1). Клінічне обстеження дітей патологічних змін в легенях не виявило.

Таблиця 1 - Клінічна характеристика дітей обстежуваних груп

	Клінічна характеристика	Діти з НДСТ n=33		Контрольна група n=30	
		n	%	n	%
1	MASS фенотип	21	64	0	0,0
2	Фенотип Елерса	5	15	0	0,0
3	Марфаноподібний фенотип	7	21	0	0,0
4	Дисгармонічний фізичний розвиток	30	91	0	0,0
5	Прояви хронічної неспецифічної інтоксикації	27	82	4	13
6	Артеріальна гіпотензія	29	88	6	20,0
7	Прояви лімфаденопатії	29	88	6	20,0
8	Прояви хронічного тонзиліту, фарингіту	29	88	7	23
9	Аускультативні зміни в серці	29	88	7	23
10	Функціональна кардіоміопатія	30	91	7	23
11	Аномалії розвитку жовчного міхура	33	100	3	10
12	Біліарна дисфункція зі збільшенням печінки	20	64,5	2	7
13	Хронічний гастрит, Н. рулогі-позитивний	11	32	0	0,0
14	Порушення функціонального стану кишечника і явища дисбактеріозу кишечника	25	74	3	10

Авторська розробка

При пальпації живота у 20 (64,5%) виявлено збільшення розмірів печінки, яка в середньому виступала з-під краю реберної дуги на 1-2 см по L. mediaclavicularis dextra. При пальпації у цих дітей виявлено м'який, округлий, безболісний край печінки, симптоми Ортнера, Мерфі, Кера-Гаусмана та ін. У всіх дітей з групи НДСТ, при УЗД черевної порожнини було виявлено анатомічну аномалією жовчного міхура (100% випадків), яка поєднувалася з біліарною дисфункцією (БД). В той же час, у дітей контрольної групи БД виявлена лише в 10% випадках (табл. 1). У 11 (32,3%) дітей з НДСТ, які скаржилися на біль у животі, пов'язаний з прийомом їжі, нудоту, результати езофагогастродуоденоскопії, гістологічного дослідження слизової оболонки



шлунка та дихальний тест на *H. Pylori* підтвердили ознаки хронічного гастриту. У дітей без НДСТ клінічних ознак хронічного гастриту не було.

Отримані показники ПОБ і ПОЛ, а також активність антиоксидантних ферментів (СОД і КТ) у плазмі венозної крові обстежених дітей, представлені в Таблиці 2. Було виявлено достовірне підвищення продуктів ПОБ ($2,61 \pm 0,08$ УО/мл) та індексу модифікації ліпопротеїнів пероксидом ($1,30 \pm 0,04$ УО/мл) у плазмі крові дітей із НДСТ порівняно з контролем ($1,90 \pm 0,03$ УО/мл; $p < 0,05$ і $1,10 \pm 0,03$ ОУ/мл відповідно; $p < 0,05$).

Таблиця 2 - Показники перекисного окислення білків та ліпідів у плазмі крові дітей обстежуваних груп

	Показники плазми крові	Діти з НДСТ M ± m n=33	Контрольна група M ± m n=30	Достовірність (p)
1	Продукти вільнорадикального окислення білків (УО/мл)	2.61 ± 0.08 *	1.90 ± 0.03	< 0.05
2	Карбонільовані білки в ЛПНЩ і ЛПДНЩ апопротеїнах, УО/мл	0.63 ± 0.02 *	0.51 ± 0.02	< 0.05
3	Індекс перекисної модифікації ліпопротеїдів	1.30 ± 0.04 *	1.10 ± 0.03	< 0.05
4	МДА, кмоль/хв.мг	0.40 ± 0.05 *	0.30 ± 0.07	< 0.05
5	СОД, мкмоль/хв. мг білка	2.60 ± 0.20 *	1.60 ± 0.09	< 0.05
6	КТ, мкат/л	23.90 ± 1.8 *	29.20 ± 1.90	< 0.05

Авторська розробка

Примітка: * різниця достовірна між показниками дітей з НДСТ та без НДСТ ($p < 0,05$)

У дітей з НДСТ також спостерігалось значне підвищення рівня карбонільних похідних білків плазми крові ($0,63 \pm 0,02$ УО/мл) порівняно з дітьми без НДСТ ($0,51 \pm 0,02$ УО/мл; $p < 0,05$).

Дослідження ліпідного спектра мембрани еритроцитів загального холестерину (ЗХ) та рівнів фосфоліпідів (ФЛ) було проведено для підтвердження пошкодження мембрани, спричиненого пероксидацією. Дослідження також включало аналіз показників МДА та КТ у мембрані еритроцитів. Показники у підлітків з НДСТ порівнювали з такими у дітей без дисплазії (табл. 3).

Отримані дані викликають осторогу, вказуючи на наявність порушення САОЗ у дітей з НДСТ. Підвищення активності СОД можливо пов'язано з



компенсаторною реакцією організму на синтез і циркуляцію великої кількості супероксидних радикалів у крові дитини пубертатного віку, що захищає ендотелій судин від впливу високоактивних метаболітів кисню, трансформуючи його в гідроперекисі. В той же час зниження активності КТ, може призводити до накопичення агресивних гідроперекисей в плазмі крові, які порушують клітини крові, судин і органів.

Для уточнення цієї тези, проводилось дослідження ліпідного спектру мембрани еритроцитів (загальний холестерин - ЗХ і рівні фосфоліпідів - ФЛ), щоб підтвердити пошкодження мембрани, спричинене перекисним окисленням. Дослідження також включало аналіз показників МДА і КТ в мембранах еритроцитів. (табл. 3).

Таблиця 3 - Показники ліпідного спектру ЗХ, ФЛ, МДА, КТ, отримані з мембрани еритроцитів дітей в обстежуваних групах

	Показники в мембрані еритроцитів	Діти з НДСТ M ± m n=33	Контрольна група M ± m n=30	Достовірність (p)
1	Загальний холестерин (ЗХ), мкмоль/мг	0.35±0.01*	0.30±0.01	<0.05
2	Фосфоліпіди (ФЛ), мкмоль/мг	0,27±0,03	0,29±0,03	>0,05
3	МДА, мкмоль/хв. мг білка	1,05±0,07*	0,75±0,03	<0,05
4	КТ, УО/мг	1,88±0,16*	2,80±0,80	<0,05

Авторська розробка

Примітка: * різниця достовірна між показниками дітей з НДСТ та без НДСТ (p <0,05)

Захист клітин від інтермедіаторів одноелектронного відновлення кисню, значною мірою залежить від ферментативної САОЗ, у якій ключовим компонентом є СОД. Цей фермент нейтралізує супероксидний аніон-радикал, що утворюється під час ферментативного одноелектронного відновлення молекули кисню ($O_2 + E \rightarrow O_2^-$), перетворюючи його на менш реактивні молекули: пероксид водню (H_2O_2) та триплетний кисень ($O_2^- + O_2^- \rightarrow O_2 + H_2O_2$). В подальшому H_2O_2 розкладається каталазою, а також пероксидазами з різними субстратними специфічностями.

Попередні дослідження показали, що в еритроцитах венозної крові дітей віком 7-12 років з НДСТ спостерігається підвищення рівнів початкових



продуктів ПОЛ – ліпідних гідропероксидів, а також кінцевих продуктів – МДА, при одночасному зниженні показників САОЗ (відновленого глутатіону, глутатіонпероксидази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г6ФД)) [23]. В нашому теперішньому дослідженні були отримані подібні результати у дітей пубертатного віку що мають НДСТ. Спостерігалось значне збільшення активності СОД в плазмі крові ($2,60 \pm 0,20$ мкмоль/хв/мг білка) порівняно з дітьми контрольної групи. Також було зафіксовано значне зниження активності КТ у дітей з НДСТ в порівнянні з контрольною групою.

Наші дані вказують на те, що у дітей з НДСТ. білки плазми венозної крові були більш чутливими до процесів пероксидного окислення у порівнянні з ліпідами. Можливо саме тому рівні МДА (кінцевого продукту ПОЛ), що спостерігалися між досліджуваною та контрольною групами, не були значущими.

Отримані дані цього дослідження можуть свідчити про порушення САОЗ у підлітків, які мають НДСТ. Збільшення активності СОД, можливо, пов'язано з компенсаторною реакцією організму дитини підліткового віку на утворення та циркуляцію великої кількості супероксидних радикалів у плазмі крові, що, таким чином, захищає судини від ефектів високоактивних метаболітів кисню, перетворюючи їх на гідропероксиди. Водночас, зниження активності КТ у дітей пубертатного віку з НДСТ може призвести до накопичення агресивних гідропероксидів у плазмі крові з руйнівною активністю, спрямованою на клітини крові. Відповідно до результатів, наведених в таблиці 3, у дітей з НДСТ спостерігалось порушення структури ліпідного шару в мембранах еритроцитів; вміст холестерину значно збільшувався при нормальному рівні загальних фосфоліпідів ($p > 0,05$) [24-26].

Слід зазначити, що мембранні ліпіди відрізняються різноманітністю структурних форм, утворюючи комплекси з білками і можуть по-різному впливати на конформацію та біологічні властивості останніх, таки чином пошкоджуючи клітинну взаємодію, а відтак і функцію. Тим не менш, активація ПОЛ та зниження активності САОЗ, ймовірно, необхідні як один із механізмів



реконструкції мембрани еритроцитів [27].

На відміну від профілю плазми венозної крові, рівень МДА був значно вищим у мембранах еритроцитів, отриманих від пацієнтів із НДСТ, порівняно з контрольною групою. Більше того, спостерігалось значне зниження, показнику КТ у мембранах венозних еритроцитів (порушення САОЗ) у дітей з НДСТ порівняно з контрольною групою. У сукупності ці дані вказують на розвиток ПОЛ в еритроцитах із порушенням САОЗ. Таким чином, підвищення рівня продуктів ПОБ у плазмі крові та ПОЛ в еритроцитах разом із порушеною САОЗ (доведено збільшенням активності СОД та зниженням активності КТ) можуть бути тривожними показниками. Наше дослідження припускає, що надмірне пероксидне окиснення білків і ліпідів може призводити до клітинного руйнування і розвитку патологічних процесів у різних органах і системах дитячого організму, що може сприяти посиленню розпаду колагену.

Висновки

1. У підлітків з НДСТ спостерігається порушення в системі пероксидного окиснення білків плазми венозної крові, що підтверджується змінами вмісту карбонільних груп в апопротеїнах ліпопротеїнів низької щільності та дуже низької щільності, індексу пероксидної модифікації ліпопротеїнів.

2. Підвищення рівня ЗХ може бути пов'язане з розвитком ПОЛ у мембранах еритроцитів пацієнтів з НДСТ.

3. У підлітків з НДСТ спостерігається дисбаланс антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази та каталази).

4. Білки плазми венозної крові були більш чутливими до процесів пероксидного окислення порівняно з ліпідами у дітей з НДСТ.

5. Проведене нами дослідження потребує подальшого вивчення кореляції зазначених в роботі показників САОЗ із ступенем тяжкості НДСТ.

Література:

1. Починок Т.В. Окисний стрес та стан систем зсідання крові та фібринолізу у дітей з недиференційованою дисплазією сполучної тканини / Т.В. Починок,



А.В. Коцюруба, П.Г. Гриценко та ін.. //Педіатрія, акушерство та гінекологія. 2011. №1 (443). – С. 27-33.

2. Wulf D. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82:47-95.

3. О.В.Колеснікова, А.О.Радченко. Сучасний погляд на механізми розвитку оксидативного стресу і його біомаркери при найбільш поширених неінфекційних захворюваннях // Український терапевтичний журнал.-№1.-2020 DOI: <https://doi.org/10.30978/UTJ2020-1-51>

4. Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, et al. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus. *Circulation.* 2002; 105(14): 1656–1662.

5. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest.* 1993;91(6): 2546–2551.

6. Sanguigni S, Pignatelli P, Caccese D, et al. Increased Superoxide anion production by platelets in hypercholesterolemic patients. *Thromb Haemost.* 2002; 87(5): 796-801.

7. Tesfamariam B, Cohen RA. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am J Physiol.* 1992; 263(2 Pt 2): H321-H326.

8. Raj L, DeMaster EG, Jaimes EA. Cigarette smoke-induced endothelium dysfunction: role of superoxide anion. *J Hypertens.* 2001; 19(5):891-897.

9. Nedelkovic ZS, Gorce N, Loscalzo J. Mechanisms of oxidative stress and vascular dysfunction. *Postgrad Med J.* 2003; 79(930):195-199.

10. Chakravarti B, Chakravarti DN. Oxidative modification of proteins: age-related changes. *Gerontology.* 2007; 53: 128-139.

11. Dean RT, Hunt JV, Grant AJ. Free radical damage to proteins: the influence of the relative localization of radical generation, antioxidants and target proteins. *Free Rad Biol Med.* 1991; 11:161-165.

12. Gawęł S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek.* 2004; 57(9-10):453-5.

13. Grotto D, Maria LS, Valentini J. Importance of the lipid peroxidation



biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quím Nova*. 2009; 32(1):169-174.

14. Beutler E. Glutathion. In: Beutler E (ed) *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*. Grune and Stratton, New York, 1975; 105–107.

15. Ateş NA, Yildirim O, Tamer L, et al. Plasma catalase activity and malondialdehyde level in patients with cataract. *Eye (Lond)*. 2004; 18(8):785-788.

16. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Acc Chem Res*. 1972; 5(10):321–326.

17. Fındıklı E, Camkurt MA, İzci F, et al. The diagnostic value of malondialdehyde, superoxide dismutase and catalase activity in drug naïve, first episode, non-smoker generalized anxiety disorder patients. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2018; 16(1):88-94.

18. Починок Т.В. Васюкова М.М. Тяжка О.В. Чернишова О.В. Спосіб прогнозування формування дисплазій сполучної тканини та порушень імунітету у дітей. Патент на корисну модель № 15959.-//Офіційний бюлетень «Промислова власність».- 2006.-№7.-с.5.23, від 17.07.2006

19. Stalnaya ID, Garishvili TG. Method for the determination of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. In: Orekhovich VN, editor. *Modern Methods in Biochemistry*. M. Medicine. 1977.-p.66

20. Onopchenko OV, Kosiakova GV, Meged EF, Klimashevsky VM, Hula NM. The effect of N-stearoylethanolamine on cholesterol content, fatty acid composition and protein carbonylation level in rats with alimentary obesity-induced insulin resistance. *Ukr Biochem J*. 2014; 86(6):119-128.

21. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976; 72:248-254.

22. Kim HY, Wang TC, Ma YC. Liquid chromatography/mass spectrometry of phospholipids using electrospray ionization. *Anal Chem*. 1994; 66(22):3977-3982.

23. Починок Т.В., Фік Л.О, Васюкова М.М., Мельничук В.В., Чернишова О.В. Перекисне окислення ліпідів у дітей з недиференційованою дисплазією



сполучної тканини // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2011.- №4.- С.27-33.

24. Schumann-Gillett A, O'Mara ML. The effects of oxidised phospholipids and cholesterol on the biophysical properties of POPC bilayers. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2019; 1861(1):210-219.

25. Solís-Calero C, Ortega-Castro J, Frau J, Muñoz F. Nonenzymatic reactions above phospholipid surfaces of biological membranes: reactivity of phospholipids and their oxidation derivatives. *Oxid Med Cell Longev.* 2015; 319505.

26. Kessel A, Ben-Tal N, May S. Interactions of cholesterol with lipid bilayers: the preferred configuration and fluctuations. *Biophys J.* 2001; 81(2): 643–668.

27. Raffy S, Teissié J. Control of lipid membrane stability by cholesterol content. *Biophys J.* 1999; 76(4):2072-2080.

Abstract. *The complexity of the morphology, functions and prevalence of connective tissue in the body determine the active participation of its main elements in the formation and development of many types of pathology. According to research conducted by the Department of Pediatrics No. 1, undifferentiated connective tissue dysplasia (NDST) occurs in 86% of adolescent children in Kyiv. Severe manifestations of this condition are registered in 40% of them (the presence of 10 or more phenotypic signs of dysembryogenesis). The aim of the study was to assess the state lipid and protein peroxidation in children with undifferentiated connective tissue dysplasia (UCTD). In this study, 63 children (33 children with UCTD and 30 children without UCTD) were recruited and the indicators of lipid and protein peroxidation were measured. Spectrophotometry was used to assess lipid peroxidation (LPO), protein peroxidation (PPO), and the activity of the antioxidant defense system-related enzymes. The biochemical method was used to measure the level of total cholesterol (TC). LPO was studied by assessing the change of index and the end product of lipid peroxidation modification - malondialdehyde (MDA) in blood plasma and erythrocyte membranes. Protein peroxidation - by the content of carbonylated protein based on 2,4 dinitrophenylhydrazine assay in blood plasma. The activity of the antioxidant defense system enzymes was assessed by measuring catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities in the erythrocyte membranes and plasma. Our study revealed a significant increase of PPO products in the venous blood plasma and LPO products in erythrocytes in children with UCTD. Furthermore, an imbalance of the antioxidant defense system was observed in both blood plasma and erythrocytes membrane.*

Keywords: *Children, undifferentiated connective tissue dysplasia, protein peroxidation, lipid peroxidation, antioxidant enzymes, antioxidant defense system.*

Статтю надіслано 26.01.2026

Васюкова М.М.