УДК 613.2.099:[577.112.4+612.1]

# ОКИСЛЕННЫЕ БЕЛКИ В КРОВИ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ УКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ

**Демидчик Л.А., Бейникова И.В., Муравлёва Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Бакирова Р.Е., Клюев Д.А., Утибаева Р.А.**

*Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, e-mail: lem2403@mail.ru*

Целью настоящего исследования явилось изучение окисленных белков в крови больных с острым отравлением уксусной кислотой различной степени тяжести и токсической нефропатией. Объектом исследования служила кровь 26 больных с острым отравлением уксусной кислотой средней степени тяжести (1 группа), с тяжелой степенью отравления (2 группа) и с токсической нефропатией (3 группа). Контрольную группу составили 14 практически здоровых доноров. В плазме крови больных с острой интоксикацией уксусной кислотой средней степени тяжести зафиксировано достоверное снижение мембраносвязанного гемоглобина, достоверное снижение реактивных карбониловых производных белков в плазме крови при резком увеличении этого показателя в эритроцитах. У больных с острой интоксикацией уксусной кислотой тяжелой степени наблюдалось достоверное снижение реактивных карбониловых производных белков в плазме крови при увеличении этого показателя в эритроцитах. У больных с токсической нефропатией отмечена выраженная тенденция к увеличению AOPP (advanced oxidative protein products). Полученные данные показывают различные паттерны модифицированных белков в крови больных с острым отравлением уксусной кислотой средней и тяжелой степени и токсической нефропатии. Представляется необходимым дальнейшее исследование факторов и механизмов, обуславливающих образование различных типов окисленных белков при остром отравлении уксусной кислотой.

**Ключевые слова: окисленные белки, кровь, уксусная кислота, острые отравления, токсическая нефропатия**

# OXIDIZED PROTEINS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH ACUTE ACETIC ACID INTOXICATION

**Demidchik L.A., Beynikova I.V., Muravleva L.E., Molotov-Luchanskiy V.B., Bakirova R.E., Klyuev D.A., Utibaeva R.A.**

*Karaganda State Medical University, Karaganda, e-mail: lem2403@mail.ru*

The purpose of this research was to study oxidized proteins in the blood of patients with acute acetic acid intoxication of different severity and toxic nephropathy. The subject of the study was blood of 26 patients with acute acetic acid intoxication of moderate severity (group 1), severe intoxication (group 2), and toxic nephropathy (group 3). The control group consisted of 14 practically healthy donors. In the erythrocytes of patients with acute acetic acid intoxication of moderate severity there were the significant decrease of membrane-bound hemoglobin and significant augmentation of reactive carbonyl derivatives of proteins; the significant decrease of reactive carbonyl derivatives of proteins in the blood plasma was observed. In plasma of patients with severe intoxication with acetic acid the significant decrease of reactive carbonyl derivatives of proteins was observed whereas in erythrocytes there was their significant augmentation. In blood plasma of patients with toxic nephropathy notable tendency of AOPP (advanced oxidative protein products) increasing was traced. The results obtained showed different patterns of modified proteins in blood of patients with acute acetic acid intoxication of different severity and toxic nephropathy. It seems necessary to further study the factors and mechanisms causing the formation of different types of oxidized proteins in acute acetic acid intoxication.

**Keywords: oxidized proteins, blood, acetic acid, acute intoxication, toxic nephropathy**

Острые пероральные отравления уксусной кислотой занимают одно из ведущих мест в структуре токсикологической заболеваемости; при этом сохраняется высокий уровень летальности, а также частота развития нарушений со стороны жизненно важных органов. В основе токсического воздействия уксусной кислоты на организм лежат химический ожог, внутрисосудистый гемолиз, экзотоксический шок; развиваются такие состояния, как гипо- и диспротеинемии, гиперферментемия, развитие иммунодефицитного состояния, расстройства системы гемокоагуляции.

Ведущую роль в патогенезе острых экзотоксикозов отводят окислительному стрессу, рассматривая его как ведущий механизм токсичности. При окислительном стрессе, особенно в сочетании с гипоксией, создаются условия для избыточного образования токсичных активных форм кислорода. Активные формы кислорода (АФК) индуцируют активацию перекисного окисления липидов, окислительную модификацию белков и других биополимеров. Модифицированные белки образуются в результате их прямого повреждения АФК, а также за счет образования различных аддуктов с альдегидами, сахарами и т.д. Окисление тирозиновых остатков в белках миелопероксидазой приводит к образованию advanced oxidative protein products (AOPP) [1].

Имеются сведения об активации перекисного окисления липидов при отравлении уксусной кислотой. В плазме крови пациентов с острым отравлением уксусной кислотой наблюдался рост ТБК-активных продуктов при снижении активности каталазы в эритроцитах. По мнению авторов, эти изменения обусловлены как прямыми, так и опосредованными эффектами уксусной кислоты [2].

Анализ данных литературы показал, что практически не изучен такой важный аспект окислительного стресса, как окислительная модификация белков. В связи с этим исследования, направленные на выявление и уточнение роли окисленно модифицированных в патогенезе острых отравлений и их осложнений является приоритетным направлением современных медико-биологических исследований.

Целью настоящего исследования явилось изучение окисленных белков в крови больных с острым отравлением уксусной кислотой различной степени тяжести.

## Материалы и методы исследования

Обследованы 26 человек с отравлением уксусной кислотой, находившиеся на лечении в токсикологическом отделении областного медицинского центра г. Караганды. В зависимости от степени тяжести отравления обследованные были распределены на 3 группы: в 1-ю группу вошли 12 больных со средней степенью тяжести, во 2-ю – 5 больных с тяжелой степенью отравления, в третью группу вошли 5 больных с токсической нефропатией. Контрольную группу составили 14 практически здоровых доноров аналогичной возрастной группы.

Токсическое поражение почек устанавливали на основании суммарной оценки основных клинических и лабораторных показателей функционального состояния почек. В клинической картине токсической нефропатии имеет значение появление отечного, болевого синдромов, снижение суточного диуреза. К лабораторным признакам относятся появление мочевого синдрома с протеинурией, гематурией, цилиндрурией, лейкоцитурией; изменение относительной плотности мочи; повышение креатинина и мочевины; электролитные нарушения; нарушение скорости клубочковой фильтрации.

Степень тяжести отравления уксусной кислотой устанавливалась на основании протокола «Токсическое действие разъедающих веществ (взрослые и дети)» диагностики, рекомендованного Экспертным советом Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан (МЗ СР РК) от 30 октября 2015 г. (протокол №14) [3]. При этом средняя степень отравления уксусной кислотой выставлялась, если ожог кислотой охватывал слизистую оболочку полости рта, глотки, пищевода и имел катарально-серозный или катарально-фибринозный воспалительный характер. Наблюдался гемолиз эритроцитов, гемоглобинурия достигала 5 г/л. Тяжелая степень отравления уксусной кислотой устанавливалась при распространении ожога на пищевод, желудок, тонкий кишечник и язвенно-некротическом характере воспаления.

С целью верификации диагноза всем пациентам было проведено тщательное клиническое обследование с проведением расспроса, объективного осмотра с включением пальпации, перкуссии, аускультации внутренних органов, измерением артериального давления (АД), снятием электрокардиограммы (ЭКГ).

Среди пациентов с отравлением уксусной кислотой отмечено преобладание женщин в 1,6 раз по сравнению с мужчинами. Распределение обследованных по возрасту выявило, что большую часть (63,6 %) больных с отравлениями уксусной кислотой составили лица трудоспособного возраста от 30 до 50 лет. При разделении отравлений по этиопатогенетическому принципу установлено, что 53,85 % интоксикаций были случайными, 46,15 % – преднамеренными.

Клиническая картина при отравлении уксусной кислотой характеризовалась болевым, диспепсическим и дисфагическим синдромами. У всех пациентов с отравлением уксусной кислотой наблюдались проявления синдрома эндогенной интоксикации, тяжесть которого была пропорциональна тяжести отравления. Ожоги I–II степени имели 5 человек (19,23 ± 7,73 %), II–III степени 7 человек (26,93 ± 8,69 %). Из них у 4 пациентов (15,38 ± 7,07 %) поражение желудочно-кишечного тракта осложнилось кровотечением, у 6 (23,07 ± 8,26 %) развился бульбит, у 5 (19,23 ± 7,73 %) – дуоденит. У 2 (7,69 ± 5,23 %) пациентов с тяжелой степенью отравления уксусной кислотой наблюдался ожог верхних дыхательных путей, у 1 (3,85 ± 3,77 %) больного – признаки экзотоксического шока с падением систолического АД от 60 до 80 мм рт.ст., диастолического АД от 40 до 60 мм рт.ст. У всех больных с тяжелой степенью отравления уксусной кислотой развился гемолиз эритроцитов. Токсическая нефропатия наблюдалась у 5 (19,23 ± 7,73 %) пациентов с острым отравлением уксусной кислотой. Клинические проявления токсической нефропатии проявлялись картиной острого гемоглобинурийного нефроза с умеренным снижением суточного диуреза, протеинурией, гемоглобинурией, кратковременными изменениями в моче (микрогематрия, умеренная лейкоцитурия), снижением СКФ. У 3 (11,54 ± 6,26 %) пациентов с токсической нефропатией вследствие отравления уксусной кислотой наблюдалась клиническая картина острой почечной недостаточности с повышением креатинина, колебаниями относительной плотности мочи от 1008 до 1024, протеинурией от 0,05 до 3,8 г/л. Изменения в моче характеризовались также появлением гиалиновых и зернистых цилиндров, лейкоцитов, выщелоченных эритроцитов.

Объектом исследования служили эритроциты и плазма крови. В ходе исследования также определяли следующие показатели окислительного стресса: содержание карбониловых производных белков (КПБ) в эритроцитах и плазме крови по методу R.L. Levine et al. [4]. В плазме крови также определяли содержание окисленных белков, содержащих битирозиновые сшивки, – «advanced oxidation protein products» (AOPP) по методу V. Witko-Sarsat et al. [5]. В эритроцитах оценивали процент мембранно-связанного гемоглобина (МСГ), по методу З.С. Токтамысовой и Н.Х. Биржановой [6]. Биохимические измерения проводили на спектрофотометре PD-303UV APEL (Япония).

Для оценки различий между исследуемыми группами использовали критерий Краскела – Уоллиса с поправкой Бонферрони (различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,02$).

## Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведенного исследования представлены в табл. 1–3. Из данных табл. 1 следует, что статистически значимое снижение уровня МСГ наблюдалось при отравлении уксусной кислотой средней степени тяжести по сравнению с контрольной группой. У больных 2 и 3 групп уровень МСГ был ниже такового контроля, но эти изменения не носили достоверного характера.

В табл. 2 и 3 приведены результаты исследования КПБ в эритроцитах и плазмы крови больных с острым экзогенным отравлением уксусной кислотой. Из данных табл. 2 следует, что уровень КПБ достоверно возрастал в эритроцитах крови больных всех обследуемых групп относительно контроля.

В плазме крови больных всех обследуемых групп выявлено статистически значимое снижение содержания КПБ по сравнению с таковым контроля (табл. 3).

При исследовании уровня АОРР плазмы больных статистически значимых отличий между исследуемыми группами по данному показателю не выявлено (табл. 4). Можно отметить тенденцию к увеличению уровня АОРР в плазме крови больных с токсической нефропатией.

**Таблица 1**

Уровень мембраносвязанного гемоглобина в эритроцитах крови больных с отравлениями уксусной кислотой различной степени тяжести и токсической нефропатией (%)

| Показатель | Группы | | | |
|---|---|---|---|---|
| | (n = 14) | I (n = 12) | II (n = 5) | III (n = 5) |
| | Контроль | Отравления уксусной кислотой средней степени тяжести | Отравления уксусной кислотой тяжелой степени | Токсическая нефропатия |
| Медиана | 9,30 | 5,88* | 7,94 | 6,63 |
| Нижний квартиль | 6,90 | 5,49* | 6,85 | 6,52 |
| Верхний квартиль | 10,95 | 6,79* | 8,72 | 7,41 |

Примечание. * – достоверность отличий с контролем, $p < 0,02$.

**Таблица 2**

Уровень КПБ в эритроцитах крови больных с отравлениями уксусной кислотой различной степени тяжести и токсической нефропатией (нмоль/мл)

| Показатель | Группы | | | |
|---|---|---|---|---|
| | (n = 14) | I (n = 12) | II (n = 5) | III (n = 5) |
| | Контроль | Отравления уксусной кислотой средней степени тяжести | Отравления уксусной кислотой тяжелой степени | Токсическая нефропатия |
| Медиана | 9,43 | 17,95* | 19,15* | 19,22* |
| Нижний квартиль | 7,88 | 15,51* | 15,03 | 15,67 |
| Верхний квартиль | 10,49 | 21,65* | 21,64 | 21,64 |

Примечание. * – достоверность отличий с контролем, $p < 0,02$.

**Таблица 3**

Уровень КПБ в плазме крови больных с отравлениями уксусной кислотой различной степени тяжести и токсической нефропатией (нмоль/мл)

| Показатель | Группы | | | |
|---|---|---|---|---|
| | (n = 14) | I (n = 14) | II (n = 5) | III (n = 5) |
| | Контроль | Отравления уксусной кислотой средней степени тяжести | Отравления уксусной кислотой тяжелой степени | Токсическая нефропатия |
| Медиана | 1,26 | 0,46* | 0,64* | 0,49** |
| Нижний квартиль | 1,19 | 0,40* | 0,55 | 0,27 |
| Верхний квартиль | 1,34 | 0,53* | 0,74 | 0,49 |

Примечание. * – достоверность отличий с контролем, $p < 0,02$; ** – достоверность отличий между II и III группами, $p < 0,02$.

**Таблица 4**

Уровень АОРР в плазме крови больных с отравлениями уксусной кислотой различной степени тяжести и токсической нефропатией (мкмоль/л)

| Показатель | Группы | | | |
|---|---|---|---|---|
| | (n = 14) | I (n = 14) | II (n = 5) | III (n = 5) |
| | Контроль | Отравления уксусной кислотой средней степени тяжести | Отравления уксусной кислотой тяжелой степени | Токсическая нефропатия |
| Медиана | 0,28 | 0,30 | 0,34 | 0,57 |
| Нижний квартиль | 0,21 | 0,21 | 0,26 | 0,20 |
| Верхний квартиль | 0,42 | 0,41 | 0,44 | 0,70 |

## Заключение

Следовательно, в плазме крови больных с острой интоксикацией уксусной кислотой средней степени зафиксирован следующий паттерн показателей, характеризующих состояние ОМ: достоверное снижение МСГ, достоверное снижение КПБ в плазме крови при резком увеличении этого показателя в эритроцитах. У больных с острой интоксикацией уксусной кислотой тяжелой степени сохраняется достоверное снижение КПБ в плазме крови при увеличении этого показателя в эритроцитах. У больных с токсической нефропатией отмечена выраженная тенденция к увеличению АОРР.

Причиной образования продуктов окислительной модификации белков является избыточная генерация активных форм кислорода. При остром экзогенном отравлении уксусной кислотой её детримальный эффект детерминирован многими факторами: прооксидантным эффектом самого токсиканта и продуктов его обезвреживания, прямым деструктивным действием уксусной кислоты на ткани, воспаления в результате ожога, выход продуктов ожоговой деградации в кровь, а также гипоксией, снижением общей антиокислительной активности и т.д. Белки плазмы крови характеризуются различной чувствительностью к действию активных форм кислорода. Вполне вероятно, что снижение КПБ в плазме крови больных с острой интоксикацией уксусной кислотой является результатом образования аддуктов между окисленными белками и реактивными альдегидами. Образование такого рода аддуктов описано при поражении почек [7]. Внутриклеточная аккумуляция реактивных карбониловых производных белков индуцирует образование агрегатов с внутриклеточными белками, меняя конформацию последних, что может также служить объяснением и снижению МСГ. Результатом этого процесса является выраженная пертурбация метаболических процессов в эритроцитах, что, безусловно, приведет к усугублению гипоксического состояния.

АОРР являются семейством окисленных дитирозин-содержащих перекрестно-связанных белковых компонентов, образующихся в результате реакции белков плазмы крови с хлорсодержащими прооксидантами, образующихся активированными фагоцитами. Персистенция в плазме крови пациентов АОРР является неблагоприятным фактором. Установлено, что АОРР из крови могут захватываться клетками канальцев и клубочков, что приводит к внутриклеточному повышению содержания АОРР [8]. Внутриклеточная аккумуляция АОРР может индуцировать апоптоз подоцитов, что ведет к протеинурии. Другим негативным следствием является активация ренин-ангиотензиновой системы в тубулярных клетках [9, 10]. В совокупности эти детримальные эффекты избыточной аккумуляции АОРР на наш взгляд следует рассматривать как один из механизмов нарушения почечных функций при токсической нефропатии.

Полученные данные показывают различные паттерны модифицированных белков при остром экзогенном отравлении уксусной кислотой средней и тяжелой степени и токсической нефропатии. Представляется необходимым дальнейшее исследование факторов и механизмов, обуславливающих образование различных типов окисленных белков при остром отравлении уксусной кислотой.

## Список литературы

1. Белова М.В. Окислительный стресс при наиболее распространенных острых отравлениях: автореф. дис. докт. … биол. наук. – Москва, 2015. – 59 с.

2. Нарушение процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной системы крови у больных с острым отравлением уксусной кислотой / А.В. Говорин [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – № 1. – С. 112–113.

3. Клинический протокол диагностики и лечения токсическое действие разъедающих веществ (взрослые и дети), рекомендован Экспертным советом Министерства здра-

воохранения и социального развития Республики Казахстан (МЗ СР РК) от 30 октября 2015 г. (протокол № 14). URL: http://www.rcrz.kz/docs/clinic_protocol/2015 (дата обращения: 18.03.2018).

4. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Stadtman E.R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins // Method Enzymol. – 1990. – vol. 186. – P. 464–478.

5. Witko-Sarsat V., Frielander M., Capeillere-Blandin C., Nguyen-Khoa T., Nguyen A.T., Zingraff J., Jungers P., Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia // Kidney Int. – 1996. – vol. 49. – P. 1304–1313.

6. Токтамысова З.С., Биржанова Н.Х. О мембраносвязанном гемоглобине // Биофизика. – 1990. – Т. 35, № 6. – С. 1019–1020.

7. Medina-Navarro R., Nieto-Aguila R., Alvares-Aguilar C. Protein conjugated with aldehydes derived from lipid peroxidation as an independent parameter of the carbonyl stress in the kidney damage. Lipids Health Dis. – 2011. – Vol. 10: 201. DOI: 10.1186/1476-511X-10-201.

8. Cao W., Hou F.F., Nie J. AOPPs and the progression of kidney disease. Kidney Int Suppl. – 2014. – № 4(1). – P. 102–106.

9. Zhou L.L., Hou F.F., Wang G.B., Yang F., Xie D., Wang Y.P., Tian J.W. Accumulation of advanced oxidation protein products induces podocyte apoptosis and deletion through NADPH-dependent mechanisms // Kidney Int. – 2009. – vol. 76. – P. 1148–1160.

10. Cao W., Xu J., Zhou Z.M., Wang G.B., Hou F.F., Nie J. Advanced oxidation protein products activate intrarenal renin-angiotensin system via a CD36-mediated, redox-dependent pathway // Antioxid Redox Signal. – 2013. – № 18. – P. 19–35.