

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.5-036.12-07:616.153.915-39

Н. А. Щелчкова, Т. В. Копытова, Л. Н. Химкина, Г. А. Пантелеева

## 8-OH-2'-ДЕЗОКСИГУАНОЗИН КАК МАРКЕР ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ ДНК У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ДЕРМАТОЗАМИ

ГБОУ Нижегородский научно-исследовательский кожно-венерологический институт

*Исследован уровень 8-OH-2'-дезоксигуанозина в сыворотке крови больных с тяжелыми хроническими дерматозами. Показано, что по сравнению со здоровыми лицами в обследованной группе больных данный показатель повышен преимущественно у пациентов с atopическим дерматитом (на 62%) и менее – у больных псориазом (на 25%) и пузырьными дерматозами (на 18%). Определены статистически значимые отличия этого показателя от контрольных значений при эндогенной интоксикации и разной степени тяжести заболевания. Определение уровня 8-OH-2'-дезоксигуанозина в сыворотке крови является информативным методом исследования, повышающим качество лабораторного мониторинга окислительного стресса.*

**Ключевые слова:** 8-OH-2'-дезоксигуанозин, дерматозы, эндогенная интоксикация, окислительный стресс

*N.A. Scheltchrova, T.V. Kopytova, L.N. Khimkina, G.A. Panteleyeva*

### THE 8-OH-2-DESOXIGUANOSIN MARKER OF OXIDIZING MODIFICATION OF DNA IN PATIENTS WITH DIFFUSED DERMATITIS

*The level of 8-OH-2-desoxiguanosin in blood serum of patients with severe chronic dermatitis was analyzed. It is demonstrated that in comparison with healthy patients in examined group of patients this indicator is increased mainly in patients with atopic dermatitis (up to 62%) and least of all with psoriasis (up to 25%) and bullous dermatitis (up to 18%). The statistically reliable differences of this indicator from control values under endogenous intoxication and different degree of severity of disease are determined. The detection of level of 8-OH-2-desoxiguanosin in blood serum is an informative technique of analysis to increase quality of laboratory monitoring of oxidizing stress.*

**Key words:** 8-OH-2-desoxiguanosin, dermatitis, endogenous intoxication, oxidizing stress

Исследованиями последних лет накоплен значительный экспериментальный и клинический материал, свидетельствующий о деструктивном влиянии процессов свободнорадикального окисления биомолекул на возникновение и развитие патологических процессов и заболеваний [9]. Неконтролируемые, нарастающие и длительное время циркулирующие окисленные макромолекулы формируют в организме патологические процессы, которые сопровождаются повышенным катаболизмом или гиперкатаболизмом. Они вызывают нарушение функции механизмов естественной детоксикации, развитие депрессии иммунной системы (метаболический иммунодефект) и гормональной регуляции. Это в свою очередь способствует накоплению в тканях и биологических жидкостях организма эндотоксинов, что ведет к нарастанию эндогенной интоксикации (ЭИ) и развитию синдрома полиорганной недостаточности [7, 10].

Известно, что большинство патологических процессов сопровождается дисбалансом между процессами окислительной деструкции биомолекул и активностью защитных антиоксидантных систем организма, что приводит его к состоянию окислительного стресса (ОС). Отрицательное патофизиологическое значение ОС глубоко и многообразно, о чем свидетельствует повреждение не только белковых и липидных молекул, но и нуклеиновых кислот, выражающееся во множественных разрывах цепей, фрагментации рибозы (или дезоксирибозы) и модификации нуклеиновых оснований. Наиболее окисляющимся нуклеиновым основанием

является гуанозин, и накопление продуктов его окисления отражает глубину повреждений генетического аппарата клеток при ОС [5].

Значение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в развитии и прогрессировании хронических распространенных дерматозов (ХРД) известно из многих исследований [3, 11–13], немногочисленные сведения имеются о перекисном окислении белковых молекул [1, 10], и единичные работы посвящены изучению окислительной деструкции ДНК [8]. Выявлены тесные взаимосвязи между активностью ПОЛ, окислительной модификацией белков (ОМБ) и наличием в крови больных ХРД основного маркера ЭИ – молекул средней массы (МСМ) [4].

Целью настоящего исследования явилось изучение клинико-диагностической значимости определения продуктов окислительной модификации ДНК в сыворотке крови у больных хроническими распространенными дерматозами.

**Материалы и методы.** Обследованы больные разными хроническими распространенными дерматозами: atopическим дерматитом (АД) – 16 человек; псориазом (ПС) – 14 человек; пузырьными дерматозами (ПД) – 12 человек в возрасте от 30 до 60 лет. В контрольную группу вошли 20 человек без заболеваний кожи, не страдающих болезнями сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта. Все исследования проводили в замороженной сыворотке крови, взятой до начала курса лечения. Свежевзятые образцы крови центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин, после чего замораживали. Определение окислительной модификации ДНК проводилось иммуноферментным методом количественного определения 8-OH-2'-дезоксигуанозина с использованием набора Assay Desings DNA Damage ELISA (Кат.№ EKS-350). Оценку уровня ЭИ по количеству молекул средней массы в кислото-депротеинизированной сыворотке проводили по ранее описанной методике [5, 15, 16].

Статистическая обработка результатов осуществлена на основе методов вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007. Для оцен-

Для корреспонденции:

Щелчкова Наталья Александровна, мл. науч. сотр. лаб. биохимии  
Адрес: 603138, Н. Новгород, ул. Строкина, 16А/41  
Телефон: 8 (831) 419-37-14  
E-mail: natalia-shelchkova@rambler.ru

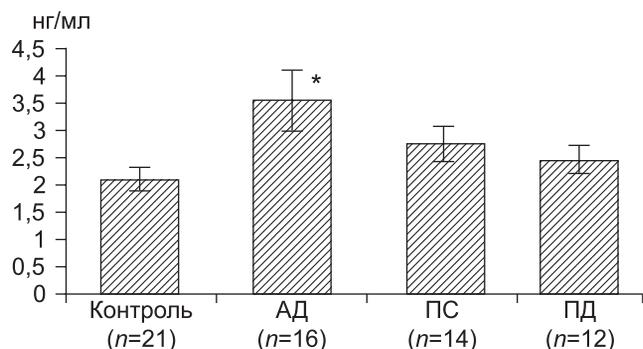


Рис. 1. Содержание 8-ОН-2'-дезоксигуанозина (в нг на 1 мл сыворотки) в сыворотке крови в норме и при хронических распространенных дерматозах ( $\bar{X} \pm m$ ).

\* – здесь и на рис. 2: достоверность различий с показателями в контрольной группе ( $p < 0,05$ ).

ки достоверности различий между средними величинами использовали *t*-критерий Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Современный уровень методических разработок и измерительных приборов позволяет оценивать содержание маркеров окисленной ДНК в разных биологических субстратах. Среди многих окислительных повреждений ДНК 8-ОН-2'-дезоксигуанозин является одним из наиболее исследованных соединений [2, 5].

Результаты определения 8-ОН-2'-дезоксигуанозина в сыворотке крови пациентов с разными хроническими распространенными дерматозами представлены на рис. 1. Из всех дерматозов статистически значимое увеличение содержания окисленного гуанозина было выявлено у больных АД. Это предполагает наличие изменений на уровне генома клетки. Известно, что АД является генетически детерминированным заболеванием. В 90% случаев начало болезни отмечают в раннем возрасте, и 70% пациентов указывают в анамнезе на наследственный фактор. Таким образом, склонность молекул ДНК к окисляемости у таких пациентов отражает глубину метаболических нарушений.

Несмотря на то что ПС также считается генетически зависимым заболеванием [13], содержание продуктов окисленной ДНК в этой группе больных увеличилось в среднем только на 25% относительно контроля и оказалось статистически недостоверным. Пузырные же дерматозы характеризовались еще более низким количеством 8-ОН-2'-дезоксигуанозина в сыворотке крови, среднегрупповое содержание которого превысило нормальные значения лишь на 18%. Это можно объяснить тем, что данные заболевания развиваются в основном в среднем и пожилом возрасте, когда наблюдается аккумуляция 8-ОН-2'-дезоксигуанозина в ядерной и митохондриальной ДНК на фоне снижения содержания ферментов репарации. Нарушение регуляции процессов репарации может быть следствием модификации под действием активных форм кислорода структуры основных ядерных белков – гистонов. Действительно, при различных патологических состояниях, сопровождающихся ОС, наблюдается уменьшение числа свободных акцепторных групп в гистонах. Например, это было показано на гистонах гепатоцитов крыс, подверженных преждевременному старению [6]. Полученные результаты свидетельствуют о разной степени подверженности генетического аппарата клетки к окислению при различных хронических дерматозах и требуют дальнейшего углубленного анализа.

Многолетними исследованиями сотрудников ННИКВИ выявлено наличие ЭИ по уровню МСМ в 40–60% случаев. Были получены положительные корреляции данного показателя с уровнем ПОЛ и ОМБ [1, 4, 7, 11]. Нами показано, что распространенные хронические дерматозы характеризуются также и повышенным количеством 8-ОН-2'-дезоксигуанозина

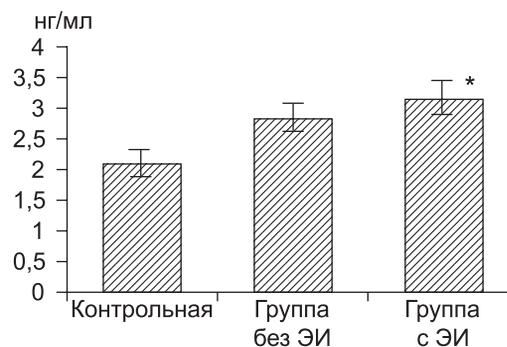


Рис. 2. Содержание 8-ОН-2'-дезоксигуанозина (в нг на 1 мл сыворотки) в сыворотке крови в норме и при альтерациях кожи в зависимости от наличия ЭИ ( $\bar{X} \pm m$ ).

в сыворотке крови относительно такового в контрольной группе ( $2,9 \pm 0,2$  и  $2,2 \pm 0,2$  нг/мл соответственно;  $p < 0,05$ ). Поэтому представлялось интересным оценить влияние ЭИ на окислительную модификацию ДНК. С этой целью мы провели ранжирование общей группы пациентов по количеству МСМ сыворотки крови и проанализировали уровень 8-ОН-2'-дезоксигуанозина в зависимости от наличия ЭИ (рис. 2).

В первую подгруппу вошли пациенты ( $n = 27$ ) с уровнем МСМ плазмы крови, не отличающимся от показателей контрольной группы ( $12,59 \pm 0,3$  и  $12,81 \pm 0,38$  усл. ед. соответственно), а во 2-ю ( $n = 15$ ) – с уровнем МСМ выше среднегрупповых значений в контрольной группе ( $23,46 \pm 1,39$  усл. ед.). Таким образом, 2-я подгруппа больных включала пациентов с ЭИ по уровню МСМ в плазме крови.

Согласно полученным данным, наличие ЭИ сопровождается увеличением уровня 8-ОН-2'-дезоксигуанозина у 50% больных с кожной патологией. Он составил  $3,01 \pm 0,28$  нг/мл и статистически значимо отличался от такового в контрольной группе ( $2,02 \pm 0,2$ ;  $p < 0,05$ ). В то же время в подгруппе без ЭИ наблюдался рост данного показателя лишь в 25% случаев (среднее значение  $2,8 \pm 0,4$  нг/мл). Учитывая полученные данные, можно предположить, что ЭИ усугубляет свободнорадикальные процессы (СРП) в организме, выводя их на генетический уровень повреждения клетки.

Следующим этапом исследования стало изучение влияния тяжести кожного процесса на показатель активности процессов окисления ДНК. Пациенты были разделены на 2 подгруппы. В 1-ю вошли больные с обычным течением заболевания и хорошим эффектом после проведенной комплексной терапии ( $n = 17$ ). 2-ю группу составили пациенты с большой площадью поражения кожных покровов, коротким периодом ремиссии, а также с медикаментозно трудно поддающимися купированию периодами обострения ( $n = 33$ ). Анализ полученных результатов показал, что уровень 8-ОН-2'-дезоксигуанозина в сыворотке крови у пациентов с обычным течением заболевания составил  $2,7 \pm 0,2$  нг/мл, а во 2-й подгруппе –  $3,0 \pm 0,3$  нг/мл. Статистически значимой разницы по уровню 8-ОН-2'-дезоксигуанозина в сыворотке крови между пациентами с различной тяжестью течения выявлено не было. Однако данный показатель во 2-й подгруппе отличался от контрольных значений.

Таким образом, определение 8-ОН-2'-дезоксигуанозина в сыворотке крови можно рассматривать как информативный экспериментальный метод изучения окислительной модификации ДНК. Повышение уровня 8-ОН-2'-дезоксигуанозина в сыворотке крови больных распространенными хроническими дерматозами наблюдается при увеличении количества МСМ, что отражает связь между свободнорадикальными процессами и эндогенной интоксикацией организма. Поэтому его можно рекомендовать для оценки действия и других повреждающих факторов, например ксенобиотиков, генотоксическая активность которых опосредована их прооксидантными свойствами. Также данный показатель может использоваться в каче-

стве современного маркера СРП при изучении патогенетических механизмов развития хронической патологии кожи и тяжести течения заболевания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Биткина О. А., Копытова Т. В., Конторщикова К. Н., Баврина А. П. // Клини. лаб. диагн. – 2010. – № 4. – С. 13–17.
2. Дурнев А. Д., Жанатаев А. К., Середенчин С. Б. // Рос. мед. журн. – 2002. – № 2. – С. 2–8.
3. Копытова Т. В., Абалихина Е. П., Щелчкова Н. А. // Клини. лаб. диагн. – 2007. – № 11. – С. 20–24.
4. Копытова Т. В., Химкина Л. Н., Пантелеева Г. А. // Успехи соврем. естествознания. – 2009. – № 6. – С. 25–30.
5. Кузнецова А. А., Кнорре Д. Г., Федорова О. С. // Успехи химии. – 2009. – Т. 78. – С. 714–718.
6. Кулева Н. В., Залесова З. С. // Цитология. – 2000. – Т. 42, № 1. – С. 66–71.
7. Ломоносов К. М., Есипов Д. С., Бабешко О. А., Татаренко А. Ю. // Рос. журн. кож. и вен. бол. – 2011. – № 1. – С. 68–70.
8. Малахова М. Я. // Эфферент. тер. – 2000. – Т. 6, № 4. – С. 3–14.
9. Окислительный стресс и антиоксиданты: Организм, кожа, косметика: Сборник статей / Под ред. А. Петрухиной. – М.: "Фирма Клавель", 2006.
10. Соломаха А. А. // Вестн. нов. мед. технол. – 2006 – Т. 13, № 4. – С. 21–23.
11. Суздальцева И. В., Копытова Т. В., Пантелеева Г. А. // Рос. журн. кож. и вен. бол. – 2008. – № 5. – С. 31–33.
12. Суздальцева И. В. Патогенетическая роль эндогенной интоксикации при истинной пузырчатке, оптимизация ее терапии: Автореф. дис... канд. мед. наук – М., 2009.
13. Хэбиф Т. П. Кожные болезни. Диагностика и лечение. – М.: Медпресс-информ., 2008.
14. Dimon-Gadal S., Gerbaud P., Therond P. et al. // J. Invest. Dermatol. – 2000. – Vol. 114. – P. 984–989.
15. Trouba K. J., Hamadeh H. K., Amin R. P. et al. // Antioxid. Redox. Signal. – 2002. – Vol. 4. – P. 665–673.
16. Wiseman H., Halliwell B. // Biochem. J. – 1996. – Vol. 313. – P. 17–29.

Поступила 19.01.12

## ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616-076.5

Д.А. Шмаров, В.М. Погорелов, Г.И. Козинец

### СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА В КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Гематологический научный центр Минздравсоцразвития РФ, Москва

*Рассматриваются вопросы исследования клеточной пролиферации и апоптоза, взаимоотношения и обусловленность этих двух важнейших физиологических процессов. Подробно анализируются основные цитологические маркеры пролиферации и апоптоза, а также методы прижизненной неинвазивной визуализации апоптоза. Рассматривается значение этих маркеров для клинико-лабораторной диагностики, изучения механизма действия противоопухолевых препаратов и выбора оптимальной схемы терапии.*

Ключевые слова: пролиферация, апоптоз, цитологические маркеры

*D.A. Shmarov, V.M. Pogorelov, G.I. Kozinetz*

#### THE ACTUAL ASPECTS OF EVALUATION OF PROLIFERATION AND APOPTOSIS IN CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTIC: A REVIEW

*The article deals with the issues of studying cell proliferation and apoptosis, relationship and conditionality of these two important physiologic processes. The main cytological markers of proliferation and apoptosis are analyzed, including the techniques of intravital non-invasive visualization of apoptosis. The value of these markers in clinical laboratory diagnostic and investigation is considered. The mechanisms of action of antineoplastic pharmaceuticals and issues of choosing the optimal scheme of treatment are analyzed.*

Key words: proliferation, apoptosis, cytological markers

В настоящее время пристальное внимание уделяют вопросам исследования клеточной пролиферации и апоптоза, взаимоотношениям и обусловленности этих двух важнейших физиологических процессов, которые имеют большое значение при многих видах патологии [2–7, 15–17], особенно при злокачественном опухолевом росте, для системы крови и иммунной системы. Рассматривая необходимость их изучения в клинико-

лабораторной диагностике, необходимо выделить три аспекта:

1) пролиферация и апоптоз являются сопряженными процессами, и необходимо стремиться к тому, чтобы рассматривать их совместно;

2) надо хорошо себе представлять, что это динамические характеристики, которые меняются в процессе лечения, в частности в ходе химиотерапии;

3) каждый врач должен стремиться к тому, чтобы составить себе представление о состоянии пролиферативной активности и апоптоза лимфоцитов (в иммунной системе), нормальных гемопоэтических клеток и опухолевого клона; настоящий обзор является попыткой расширить представления о возможностях современных лабораторных и функциональных методов исследований в оценке показателей пролиферации и апоптоза.

Для корреспонденции:

Шмаров Дмитрий Александрович, д-р мед. наук, вед. науч. сотр.

Адрес: 125167, Москва, Новый Зыковский пр., 4

Телефон: 8-917-583-81-88

E-mail: sda@blood.ru