

УДК 616.24-008.811.6-036.12(575.113+612.014.464)616-053.8

**ГЕНОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ СТАРШЕГО ВОЗРАСТА**О.Ю.Кытикова<sup>1</sup>, Т.А.Гвозденко<sup>1</sup>, Т.И.Виткина<sup>1</sup>, А.Д.Новгородцев<sup>2</sup><sup>1</sup>*Владивостокский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания – НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г*<sup>2</sup>*Клиника озонотерапии «ТриО», 690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73б***РЕЗЮМЕ**

Цель исследования – изучение генотоксического эффекта окислительного стресса у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) стабильного течения старшей возрастной группы. У соматически здоровых лиц и больных ХОБЛ зрелого и старшего возраста определяли уровень малонового диальдегида (МДА), общий антиоксидантный статус (АОА) и уровень 8-гидроксидезоксигуанозина (8-OHdG) в крови. Установлено возраст-зависимое увеличение уровня маркера оксидативного повреждения ДНК у здоровых лиц (на 27%,  $p<0,05$ ). У больных ХОБЛ зрелого возраста выявлено состояние гипероксидации при угнетении системы антиоксидантной защиты (повышение МДА на 67%,  $p<0,001$  и снижение АОА на 25%,  $p<0,01$ ), сопровождаемое ростом коэффициента МДА/АОА на 126% ( $p<0,001$ ). В группе больных старшего возраста уровень МДА соответствовал параметрам контрольной группы, при снижении АОА на 26% ( $p<0,05$ ). Коэффициент пероксидации МДА/АОА на 46% ( $p<0,01$ ) превышал контрольный уровень, что свидетельствует о смещении баланса в сторону прооксидантных процессов. Уровень 8-OHdG у больных ХОБЛ старшего возраста был выше, чем в группе зрелого возраста на 15% ( $p<0,05$ ). Интенсивность окислительного повреждения генома у больных ХОБЛ относительно контрольных групп сходного возрастного диапазона выше на 97% ( $p<0,001$ ) в группе зрелого и на 82% ( $p<0,001$ ) в группе старшего возраста. Таким образом, окислительный стресс сопровождает течение ХОБЛ у больных как зрелого, так и старшего возраста, опосредуя развитие процессов оксидативного повреждения ДНК. Наиболее выражен генотоксический эффект у больных ХОБЛ старших возрастных групп, что может быть обусловлено возраст-зависимым угнетением функционирования ферментативного звена системы антиоксидантной защиты, снижением скорости репарации ДНК, или может указывать на адаптационную реорганизацию генома. Исследования генотоксического эффекта окислительного стресса у больных ХОБЛ с учетом возрастного аспекта позволяют идентифицировать молекулярные механизмы патогенеза заболевания и разработать превентивные методы коррекции.

*Ключевые слова:* окислительный стресс, генотоксический эффект, хроническая обструктивная болезнь легких, старший возраст.

**SUMMARY****GENOTOXIC EFFECT OF OXIDATIVE STRESS IN ELDERLY PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE**O.Yu.Kytikova<sup>1</sup>, T.A.Gvozdenco<sup>1</sup>, T.I.Vitkina<sup>1</sup>, A.D.Novgorodtsev<sup>2</sup><sup>1</sup>*Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, 73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation*<sup>2</sup>*Ozone Therapy «TriO» Clinic, 73b Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation*

The aim of the research is the study of genotoxic effects of oxidative stress in elderly patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The levels of malondialdehyde (MDA), total antioxidant activity (TAA) and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) were studied in the blood of somatically healthy persons and middle-aged and elderly COPD patients. The age-dependent 27% increase in oxidative DNA damage marker was found for somatically healthy people ( $p<0.05$ ). The hyperoxidation and the suppression of antioxidant defense were revealed for mature patients with COPD (67% MDA increase,  $p<0.001$ ; 25% TAA decrease,  $p<0.01$ ); it was followed by 126% increase in MDA/TAA ratio ( $p<0.001$ ). In elderly patients with COPD the levels of MDA were comparable with control group, with 26% decrease in TAA levels ( $p<0.05$ ). The peroxidation coefficient MDA/TAA was 46% higher than that of the control group ( $p<0.01$ ), which indicates the shift in balance towards prooxidant processes. The 8-OHdG levels were 15% higher for elderly patients in comparison with healthy patients of the same age ( $p<0.05$ ). The intensity of oxidative genome damage also was 97% higher for middle-aged ( $p<0.001$ ) and 82% for elderly patients ( $p<0.001$ ) in comparison to healthy people of the same age. Thus, oxidative stress accompanies COPD in middle-aged and elderly patients and causes oxidative DNA damage. The genotoxic effect is most pronounced in elderly patients with COPD, which may be due to the age-dependent suppression of activity of antioxidant ferments, the reduction in DNA repair activity or may indicate the adaptive reorganization of genome. The study of genotoxic effects of oxidative stress in COPD patients considering the age allows to identify molecular pathogenetic mechanisms and develop prevention methods for correction.

*Key words:* oxidative stress, genotoxic effect, chronic

*obstructive pulmonary disease, elder age.*

Мировой феномен демографического старения населения привлекает внимание научного мира к проблеме распространенности хронической патологии в старшей возрастной группе, в частности, к масштабам хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [6]. Сложность своевременной диагностики ХОБЛ, проблема выбора адекватной восстановительной терапии в связи с системным характером заболевания и наличием возрастной полиморбидности и полипрагмазии, подчеркивают социально-экономическую значимость данной патологии [5, 8].

Низкая эффективность медикаментозного лечения обуславливает необходимость выяснения молекулярных и клеточных механизмов развития ХОБЛ с целью поиска новых патофизиологических мишеней для адекватной терапии данного заболевания [4, 9].

Процессы старения организма и формирования ХОБЛ опосредованы лавинообразным накоплением оксидативных повреждений биологических молекул в результате развития окислительного стресса [11]. Нарушение баланса в системе перекисидации сохраняется и в период ремиссии патологического процесса, что свидетельствует о важной роли прооксидантных процессов в поддержании хронического течения ХОБЛ. Одной из важных мишеней для окислительной атаки активных форм кислорода является клеточная ДНК. Повреждения ДНК опосредуют развитие процессов мутагенеза, канцерогенеза, старения и развития возраст-ассоциированных заболеваний [7]. В этой связи, определение уровня 8-гидроксидезоксигуанозина (8-OHdG), образующегося в ДНК при действии синглетного кислорода и гидроксильных радикалов, необходимо для всестороннего изучения процессов старения и развития возраст-ассоциированных заболеваний. 8-OHdG считают интегральным маркером окислительного повреждения ДНК [3].

В последние десятилетия отмечается возрастающий интерес к изучению уровня 8-OHdG при старении [10]. Единичные исследования посвящены оценке уровня 8-OHdG при ХОБЛ [12]. В доступной литературе мы не встретили результатов изучения уровня данного маркера у больных ХОБЛ стабильного течения старшего возраста. Анализ последствий действия факторов окислительного стресса на ДНК больных ХОБЛ стабильного течения старшей возрастной группы позволит разработать методы превентивной коррекции развития генотоксического эффекта и снизить риск канцерогенеза.

Цель исследования: изучить генотоксический эффект окислительного стресса у больных ХОБЛ стабильного течения старшей возрастной группы.

#### Материалы и методы исследования

Исследование носило проспективный, сравнительный, контролируемый, рандомизированный характер, одобрено локальным биоэтическим комитетом.

В исследование было включено 70 лиц старшего возраста. К старшей возрастной группе, согласно клас-

сификации ВОЗ (1963 г.), относили лиц старше 60 лет. Контингент обследованных больных ХОБЛ стабильного течения был разделен на основную группу и группу сравнения. Основную группу составили пациенты старшего возраста ( $n=20$ ; средний возраст  $66,7\pm 1,3$  года), группу сравнения – пациенты зрелого возраста ( $n=20$ ; средний возраст  $40,3\pm 2,0$  года). Соматически здоровые лица, сопоставимые по возрасту с группами наблюдения, вошли в группы контроля зрелого ( $n=15$ ; средний возраст  $49,3\pm 1,6$  года) и старшего возраста ( $n=15$ ; средний возраст  $64,9\pm 1,7$  года). В контрольные группы отнесены соматически здоровые лица с отсутствием в анамнезе указаний на наличие обострения хронических, острых воспалительных процессов менее чем за месяц до момента обследования.

Уровень малонового диальдегида (МДА) оценивали с применением набора фирмы Northwest Life Science Specialties (USA, MDA). Общий антиоксидантный статус (АОА) определяли с помощью набора реактивов для колориметрического количественного определения (RANDOX, Великобритания). Коэффициент перексидации МДА/АОА находили расчетным методом. Оценку содержания Human 8-Hydroxy-desoxyguanosine (8-OHdG) в сыворотке крови проводили с использованием набора «ELISA Kit» (Cusabio, PRC).

Математическая обработка результатов исследования проводилась на основе базы данных с использованием пакета статистических программ Statistica 6.1. Проверку нормальности распределения признаков проводили с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Количественные признаки представлялись в виде среднего значения ( $M$ ), стандартной ошибки среднего ( $m$ ). Критерий Стьюдента использовался после проверки соблюдения равенства дисперсий групп сравнения по критерию Левена.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведенных исследований свидетельствовали о развитии дисбаланса в системе перексидации у больных ХОБЛ обеих возрастных групп (табл.).

У больных зрелого возраста (группа сравнения) отмечалось состояние гипероксидации при угнетении системы антиоксидантной защиты – повышение уровня МДА на 67% ( $p<0,001$ ) и снижение АОА на 25% ( $p<0,01$ ), сопровождаемое ростом коэффициента перексидации на 126% ( $p<0,001$ ) относительно контроля. Данный вариант взаимоотношений между параметрами системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОЗ) свидетельствовал о превалировании оксидативных процессов и характеризовал стадию нестойкой ремиссии патологического процесса. В группе больных старшего возраста (основная группа) было выявлено, что уровень МДА соответствовал параметрам контрольной группы, при угнетении АОА на 26% ( $p<0,05$ ). Коэффициент перексидации МДА/АОА на 46% ( $p<0,01$ ) превышал контрольный уровень, что свидетельствует о смещении баланса в сторону прооксидантных процессов.

Установлено возрастзависимое увеличение уровня

маркера оксидативного повреждения ДНК у соматически здоровых лиц (группа контроля). Так, у лиц старшего возраста данный показатель на 27% ( $p < 0,05$ ) превышал аналогичный параметр у группы сравнения (лица зрелого возраста). Возрастзависимый рост уровня 8-ОНдГ может свидетельствовать об угнетении

функционирования ферментативного звена системы АОЗ и о снижении репарации ДНК с возрастом. В процессе старения организма репаративные системы ДНК становятся более подверженными ошибкам, индуцирующим мутации [2].

Таблица

Динамика показателей системы ПОЛ-АОЗ и уровня 8-ОНдГ у больных ХОБЛ

Показатели	Лица зрелого возраста (n=35)		Лица старшего возраста (n=35)	
	контрольная группа (n=15)	группа сравнения (n=20)	контрольная группа (n=15)	группа сравнения (n=20)
МДА, мкмоль/л	2,46±0,13	4,11±0,26***	2,58±0,14	2,80±0,26
АОА, ммоль/л	1,33±0,10	0,99±0,05**	1,45±0,13	1,07±0,08*
МДА/АОА, у.е.	1,98±0,18	4,49±0,44***	1,93±0,18	2,83±0,28**
8-ОНдГ, нг/мл	7,07±0,37	13,95±0,66***	9,00±0,36	16,42±0,94***

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  – уровни статистической значимости показателей при сравнении с контролем; n – количество проведенных исследований.

Уровень 8-ОНдГ у больных ХОБЛ старшего возраста выше, чем в группе зрелого возраста на 15% ( $p < 0,05$ ). Интенсивность окислительного повреждения геномного аппарата клетки у больных ХОБЛ относительно контрольных групп сходного возрастного диапазона выше на 97% в группе зрелого ( $p < 0,001$ ), и на 82% – в группе старшего возраста ( $p < 0,001$ ). Это может быть обусловлено исходно высоким уровнем накопления продуктов оксидативного повреждения биологических молекул у лиц старших возрастных групп.

**Заключение**

На основании изучения процессов липопероксидации, динамики образования основного маркера окисленной ДНК, получены новые данные об интенсивности свободнорадикальных процессов у здоровых лиц и больных ХОБЛ стабильного течения старших возрастных групп. В результате анализа результатов проведенных нами исследований можно заключить, что окислительный стресс сопровождает течение ХОБЛ как у больных зрелого, так и старшего возраста, опосредуя развитие процессов оксидативного повреждения ДНК. Наиболее выражен генотоксический эффект окислительного стресса у больных ХОБЛ старших возрастных групп, что может быть обусловлено возрастзависимым угнетением функционирования ферментативного звена системы АОЗ, снижением скорости репарации 8-ОНдГ, или может указывать на адаптационную реорганизацию генома, более выраженную в старшей возрастной группе больных [1].

Окислительный стресс и дестабилизация генома являются постоянными, взаимозависимыми звеньями патогенеза хронического воспаления в бронхолегочной системе и процессов старения, что обосновывает необходимость контроля сбалансированности процессов пероксидации.

Исследования уровня повреждения ДНК при ХОБЛ с учетом возрастного аспекта позволяют прицельно идентифицировать молекулярные механизмы патогене-

за этого заболевания и разработать превентивные, патогенетически ориентированные методы лечения. Оправдано применение протекторов окислительного стресса у больных ХОБЛ стабильного течения, особенно в старших возрастных группах, с целью минимизации генотоксических эффектов.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Генетика окислительного стресса / Е.П.Гуськов, Т.П.Шкурят, Т.В.Вардуни, Е.В.Машкина. Ростов-на-Дону: СКНЦ ВШ, 2009. 156 с.
2. Жарков Д.О. ДНК-гликозилазы – основные элементы системы репарации ДНК // Вестник РАН. 2013. Т.83, №2. С.112–119.
3. Цитогенетические маркеры и гигиенические критерии оценки хромосомных нарушений у населения и работников в условиях воздействия химических факторов с мутагенной активностью (на примере металлов, ароматических углеводородов, формальдегида) / Н.В.Зайцева, М.А.Землянова, В.Б.Алексеев, С.Г.Щербина. Пермь, 2013. 222 с.
4. Диспергационный и мукоцилиарный транспорт при болезнях органов дыхания / В.П.Колосов, В.А.Добрых, А.Н.Одиреев, М.Т.Луценко. Владивосток: Дальнаука, 2011. 276 с.
5. Заболевания органов дыхания на Дальнем Востоке России: эпидемиологические и социально-гигиенические аспекты / В.П.Колосов, Л.Г.Манаков, П.Ф.Кику, Е.В.Полянская. Владивосток: Дальнаука, 2013. 220 с.
6. Хроническая обструктивная болезнь легких / под ред. А.Г.Чучалина. М.: Атмосфера, 2008. 568 с.
7. Яшин А., Яшин Я. Высокоэффективная жидкостная хроматография маркеров окислительного стресса // Техносфера. 2011. Т.1, № 1. С.34–43.
8. The Pharmacological Approach to the Elderly COPD Patient / T.E.Albertson [et al.] // Drugs Aging. 2013. Vol.30, №7. P.479–502.
9. Ito K., Kolley T., Mercado N. Geroprotectors as a

novel therapeutic strategy for COPD, an accelerating aging disease // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2012. №7. P.641–652.

10. Lagouge M., Larsson N.G. The role of mitochondrial DNA mutations and free radicals in disease and ageing // *J. Intern. Med.* 2013. Vol.273, №6. P.529–543.

11. Melis J.P., van Steeg H., Luijten M. Oxidative DNA damage and nucleotide excision repair // *Antioxid. Redox Signal.* 2013. Vol.18, №18. P.2409–2419.

12. DNA damage due to oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) / E.Neofytou [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* 2012. Vol.13, №12. P.16853–16864.

REFERENCES

1. Gus'kov E.P., Shkurat T.P., Varduni T.V., Mashkina E.V. Genetics of oxidative stress. Rostov-na-Donu; 2009 (in russian).

2. Zharkov D.O. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Nauk* 2013; 83(2):112–119.

3. Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Alekseev V.B., Shcherbina S.G. Cytogenetic markers and hygienic criteria for assessment of chromosomal abnormalities in residents and workers exposed to chemical mutagens (the case study of metals, aromatic hydrocarbons and formaldehyde). Perm'; 2013 (in russian).

4. Kolosov V.P., Dobrykh V.A., Odireev A.N., Lutsenko M.T. Dispergation and mucociliary transport at respiratory

diseases. Vladivostok: Dal'nauka; 2011 (in russian).

5. Kolosov V.P., Manakov L.G., Kiku P.F., Polyanskaya E.V. Respiratory diseases in the Far East of Russia: epidemiologic and social-hygienic aspects. Vladivostok: Dal'nauka; 2013 (in russian).

6. Chuchalin A.G., editor. Chronic obstructive pulmonary disease. Clinical guidelines. Moscow: Atmosfera; 2008 (in russian).

7. Yashin A., Yashin Ya. *Tekhnosfera* 2011; 1(1):34–43.

8. Albertson T.E., Schivo M. Zeki A.A., Louie S., Sutter M.E., Avdalovic M., Chan A.L. The Pharmacological Approach to the Elderly COPD Patient. *Drugs Aging* 2013; 30(7):479–502.

9. Ito K., Kolley T., Mercado N. Geroprotectors as a novel therapeutic strategy for COPD, an accelerating aging disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2012; 7:641–652.

10. Lagouge M., Larsson N.G. The role of mitochondrial DNA mutations and free radicals in disease and ageing. *J. Intern. Med.* 2013; 273(6):529–543.

11. Melis J.P., van Steeg H., Luijten M. Oxidative DNA damage and nucleotide excision repair. *Antioxid. Redox Signal.* 2013; 18(18):2409–2419.

12. Neofytou E., Tzortzaki E., Chatziantoniou A., Siafakas N.M. DNA damage due to oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13(12): 16853–16864.

Поступила 20.04.2015

Контактная информация

Оксана Юрьевна Кытикова,

кандидат медицинских наук, врач-физиотерапевт,

НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения,

690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г.

E-mail: kytikova@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Oksana Yu. Kytikova,

MD, PhD, Physiotherapist,

Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment,

73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation.

E-mail: kytikova@yandex.ru