

**Ключевые слова:** функциональное состояние печени, ишемическая болезнь сердца, неалкогольная жировая болезнь печени, коморбидность, хроническое низкоинтенсивное сосудистое воспаление.

### THE CLINICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF LIVER FUNCTIONAL STATE IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE IN COMBINATION WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Kazakov Yu. M., Manusha Yu. I., Trybrat T. A., Chekalina N. I., Shut' S. V.

**Abstract.** According to WHO, ischemic heart disease (IHD) ranks first among the causes of worldwide mortality. The recent scientific research confirm that the chronic systemic inflammations (CSI) low-intensity have an leading place in occurrence and progression of atherosclerosis, pathogenic basic of it is endothelial dysfunction (ED) and dyslipidemia. The hepatocytes is involved in support of lipidic homeostasis. The functional disorders influence on potentiation of dyslipidemia (PD) and respectively development and progressing of IHD. According to modern representations of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is considered as a risk factor for cardiovascular disease. The question about formatting of fatty liver infiltration is also quite relevant. NAFLD is a stadium process that provides voluntary livers fatty infiltration with the further progression of diseases like as steatohepatitis, hepatocellular carcinoma or cirrhosis of liver.

The increase of prevalence of this comorbidity disease is required a further deep research of features of the functional livers state with the goal of looks for new more effective methods of diagnostic and treatment of IHD in combination with NAFLD.

The research have 135 involved patients with IHD: stable angina, I-II of functional class, 0-I of heart failure in combination with NAFLD and 30 healthy persons.

At the moment of primary clinical examination of patients with IHD in combination with NAFLD is revealed that patients periodically feel abdominal pain and dyspeptic syndrome with moderate and mild intensity of pain. The feeling of moderate periodical pain and/or feeling of discomfort of right subcostal region is noted by 98 (89%) patients. The dyspeptic syndrome in the form of belching air, feeling of bitterness in the mouth, nausea, bloating is observed in 75 (68%) patients. In 5 (20%) patients with IHD is effected of periodical discomfort in epigastric region of the abdomen, 7 (5,5%) patients have belching, nausea, bloating that connected with chronic comorbid disease of upper gastrointestinal tract.

An objective examination showed an increase in liver size in 68 (61.8%) patients with comorbid pathology. The presence of pain during palpation in the area of the right hypochondrium is observed in 35 (31.8%) patients, bloating in the course of the colon in 31 (28%) patients. The increasing livers size isn't observed in patients with IHD. Slight pain full sensations is observed at the moment of palpation in the area of the right subcostal region by 6 (24%) patients, that can be explained by the presence of other concomitant diseases of the gastrointestinal tract.

According to ultrasound liver diagnostics in patients with IHD in combination with NAFLD ultrasound signs of hepatosis are revealed in 110 (100%): increased echostructure, increased echogenic and decreased sound conductivity of the liver, increased liver size (hepatomegaly) is revealed in 68 (61.8%) patients, diagnosed with chronic cholecystitis (sealing the wall of the gallbladder) in 42 (38.2%) and previously performed cholecystectomy in 13 (11.8%). The increasing livers size and echogenicity aren't observed in patients with IHD.

The pulse Doppler of the liver vessels are used with the purpose of estimating livers blood flow. Increasing of blood flow velocity in the portal and hepatic veins in patients with IHD in combination with NAFLD can be a result of possible compaction of the parenchyma of the liver against the background of impaired functional status and the response of vessels to chronic low-intensity vascular inflammation.

**Key words:** functional state of the liver, ischemic heart disease, non-alcoholic fatty liver disease, comorbidity, chronic low-intensity vascular inflammation.

*Рецензент – проф. Катеренчук І. П.*

*Стаття надійшла 28.08.2019 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2019-3-152-121-127

УДК 616.74+616.8]-009.17:612.176]-092

*Кальбус О. І.*

### ПОКАЗНИКИ ОКСИДАНТНОГО ТА НІТРОЗИНОВОГО СТРЕСУ ПРИ ГЕНЕРАЛІЗОВАНІЙ МІАСТЕНІЇ ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)

*kalbus.dp@gmail.com*

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи «Клініко-нейрофізіологічні особливості формування нейромедіаторних порушень в клініці нервових хвороб», № державної реєстрації 0114U000929. Прикладна. Ініціативна.

**Вступ.** Міастенія – відносно нечасте аутоімунне захворювання, що призводить до значних економічних та соціальних втрат. Етіологія даного захворювання не визначена до цього часу, проте встановлено, що в основі патогенезу захворювання лежить

ураження пост-синаптичних терміналей нервово-м'язових синапсів переважно внаслідок вироблення антитіл до ацетилхолінових рецепторів (AChR) або до м'язово-специфічної тирозин-кінази (MuSK). Певну роль в цьому процесі відіграють антитіла до титину [1-3].

У більшості типових випадків, міастенія починається зі стомлюваності та слабкості екстраокулярної мускулатури. Генералізована форма характеризується патологічною стомлюваністю та слабкістю смугас-

тої мускулатури (кінцівок та/або бульбарних м'язів) [2-3].

За даними епідеміологічних досліджень, загальна захворюваність на міастенію складає від 17 до 300 випадків на 1 млн. населення в рік. Поширеність захворювання поступово зростає протягом останніх десятиліть, головним чином у літніх людей, незважаючи на значний прогрес у діагностиці, лікувальних підходах та покращенні прогнозу захворювання в цілому [4-8]. Поширеність міастенії в Україні складає 5,16 випадків на 100 тис. населення на рік [9].

Оксидантний стрес (ОС) спостерігається при розвитку багатьох захворювань, в т. ч. відіграючи певну роль у патогенезі деяких з них, наприклад, при запальних та аутоімунних захворюваннях [10]. Хоча зв'язок між ОС та міастенією вивчено недостатньо, деякі дослідження вказують на роль ОС в патогенезі розвитку міастенії [11]. Так, існують вказівки на роль збільшення концентрації реактивного кисню що може призводити до інактивації AchR [12] та можуть призводити до пошкодження їх структури [13].

Існують деякі дані про роль нітрозинового стресу при міастенії. Так, Adamczyk-Sowa M. et al., 2017, вказують про збільшення концентрації дітирозины як у хворих з очною, так і з генералізованою міастенією [14].

Отже, роль показників оксидантного та нітрозинового стресу при розвитку міастенії залишаються до кінця не вивченими та потребують уточнення.

**Метою даної роботи** було вивчити роль оксидантного та нітрозинового шоку при розвитку генералізованої міастенії.

**Об'єкт і методи дослідження.** Було обстежено 147 хворих на генералізовану міастенію, середній вік яких склад 53,0 (37,0; 65,0) років, з них 98 (66,7%) жінок та 49 (33,3%) чоловіків. Додатково було обстежено 10 майже здорових осіб, що сформували групу контролю.

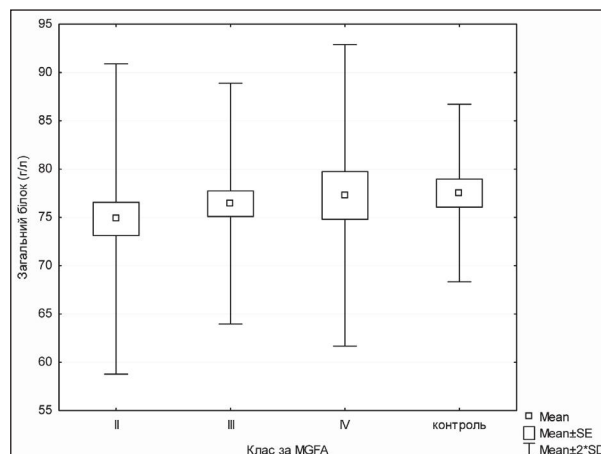
Для оцінки клінічної форми, класу та підкласу міастенії використовували класифікацію MGFA (Myasthenia Gravis Foundation of America, 2001) [3].

Хворим на міастенію та особам з контрольної групи визначали рівень загального білка, сульфгідрильних груп (SH-груп), рівень глутатіонзалежних ферментів (глутатіонпероксидази – ГПО, глутатіонредуктази – ГР, глутатіон-S-трансферази – ГТ). Крім того, визначали рівень відновленого (GSH) та окисленого (GSSG) глутатіону, рівень білка теплового шоку масою 70 кДа (HSP70).

Додатково проводили визначення рівня нітритрозины як основного показника нітрозинового стресу.

При математичній обробці даних використовували методи параметричної та непараметричної статистики. Статистична обробка результатів дослідження проводилась за допомогою персонального комп'ютера з використанням програмних продуктів Microsoft Excel (Microsoft Office 2016 Professional Plus, Open License 67528927), STATISTICA 6.1 (StatSoftInc., серійний № AGAR909E415822FA).

**Результати дослідження та їх обговорення.** З загальної вибірки хворих з генералізованою формою 52 (28,6%) мали клас II міастенії за MGFA, 64 (35,2%) – клас III, 31 (17%) – клас IV міастенії.



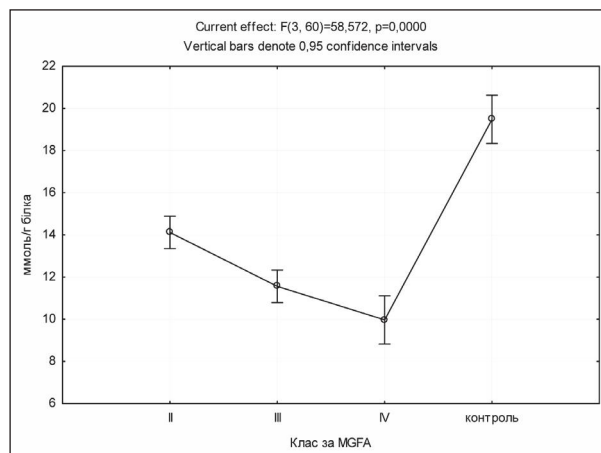
**Рисунок 1** – Середній рівень загального білка крові (г/л) в залежності від класу захворювання (М – середня арифметична, SE – стандартна похибка, SD – стандартне відхилення).

Рівень загального білка крові коливався серед усіх обстежених від 62,9 г/л до 95,0 г/л і складав в середньому (M(SD)) в групі контролю 77,5 (4,59), а серед хворих на генералізовану форму міастенії – 75,9 (7,23) г/л, без статистично значущих розбіжностей між генералізованою формою та контролем, між класами (рис. 1) та підкласами захворювання ( $p > 0,05$ ).

Показники оксидантного, нітрозативного стресу і білки теплового шоку в залежності від класу/підкласу захворювання наведено у таблиці.

Рівень сульфгідрильних груп (SH-груп) серед усіх обстежених хворих на генералізовану форму міастенії був статистично значуще ( $p < 0,001$ ) нижчим порівняно з контрольною групою. Визначено статистично високозначущі розбіжності ( $p < 0,001$ ) порівняно з контролем усіх досліджених класів захворювання (рис. 2). Найменший рівень SH-груп спостерігається у IV класі захворювання, який статистично значуще відрізняється від II класу ( $p < 0,001$ ) але не мав розбіжностей порівняно з III-м класом ( $p > 0,05$ ). У III-му та IV-му класах міастенії відповідні показники у B підкласах нижчі порівняно з A підкласами, але без статистично значущих розбіжностей ( $p > 0,05$ ).

Середній рівень глутатіонзалежних ферментів (глутатіонпероксидази – ГПО, глутатіонредуктази – ГР, глутатіон-S-трансферази – ГТ) у хворих не гене-



**Рисунок 2** – Середній рівень SH-групи (ммоль/г білка) в залежності від класу захворювання (середня арифметична та 95% ДІ).

Таблиця – Середній рівень показників оксидантного, нітрозативного стресу і білки теплового шоку хворих на генералізовану форму міастенії

Показники М (SD)	Генералізована форма										Конт- роль n=10	p
	Всього n=147	II-A n=37	II-B n=15	Клас II n=52	III-A n=35	III-B n=29	Клас III n=64	IV-A n=14	IV-B n=17	Клас IV n=31		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
SH-групи, ммоль/г білка	12,3 (2,28)*	14,2 (1,51)	13,9 (0,83)	14,1 (1,35)	11,8 (2,02)	10,6 (1,58)	11,6 (1,96)	10,2 (1,57)	9,7 (1,32)	10,0 (1,4)	19,5 (2,57)	$p < 0,001$ $p_{II-K} < 0,001$ $p_{III-K} < 0,001$ $p_{IV-K} < 0,001$ $p_{II-III} = 0,001$ $p_{II-IV} < 0,001$
ГПО, ммоль/(хвхг білка)	1,7 (0,73)	2,4 (0,4)	2,5 (0,61)	2,4 (0,46)	1,4 (0,44)	1,2 (0,32)	1,3 (0,42)	1 (0,45)	1,1 (0,58)	1,0 (0,49)	2,1 (0,56)	$p < 0,001$ $p_{II-K} < 0,001$ $p_{IV-K} < 0,001$ $p_{II-III} < 0,001$ $p_{II-IV} < 0,001$
ГР, мкмоль/(хвхг білка)	0,9 (0,21)	1,1 (0,08)	1,0 (0,07)	1,0 (0,08)	0,8 (0,15)	0,8 (0,17)	0,8 (0,15)	0,7 (0,2)	0,6 (0,25)	0,6 (0,22)	0,9 (0,07)	$p < 0,001$ $p_{II-K} = 0,026$ $p_{IV-K} = 0,003$ $p_{II-III} = 0,001$ $p_{II-IV} < 0,001$ $p_{III-IV} = 0,043$
ГТ, мкмоль/(хвхг білка)	1,4 (0,51)	1,7 (0,19)	1,6 (0,1)	1,7 (0,17)	1,4 (0,67)	1,1 (0,33)	1,3 (0,62)	0,9 (0,26)	0,8 (0,31)	0,9 (0,28)	1,4 (0,43)	$p < 0,001$ $p_{IV-K} = 0,047$ $p_{II-IV} < 0,001$
GSH, мкмоль/л	16,4 (4,98)*	20,0 (2,67)	20,1 (2,19)	20,0 (2,5)	15,8 (4,69)	12,3 (1,66)	15,0 (4,43)	11,5 (3,23)	11,6 (6,42)	11,5 (4,79)	28,7 (1,6)	$p < 0,001$ $p_{II-K} < 0,001$ $p_{III-K} < 0,001$ $p_{IV-K} < 0,001$ $p_{II-III} < 0,001$ $p_{II-IV} < 0,001$
GSSG, мкмоль/л	8,1 (2,22)*	6,2 (0,81)	6,8 (0,57)	6,3 (0,79)	8,0 (1,7) <sup>#</sup>	11,1 (2,33) <sup>#</sup>	8,7 (2,23)	10,1 (1,6)	10,6 (0,95)	10,4 (1,27)	4,7 (0,57)	$p < 0,001$ $p_{II-K} < 0,001$ $p_{III-K} < 0,001$ $p_{IV-K} = 0,006$ $p_{II-III} < 0,001$ $p_{II-IV} = 0,014$
HSP70, у.о./г білка	16,7 (5,65)	21,9 (3,48)	20,6 (4,86)	21,6 (3,83)	14,4 (2,23)	16,2 (6,58)	14,8 (3,56)	9,9 (4,11)	10,9 (3,5)	10,4 (3,63)	13,6 (0,8)	$p < 0,001$ $p_{II-K} < 0,001$ $p_{III-K} < 0,001$ $p_{II-III} < 0,001$ $p_{II-IV} = 0,015$
Нітротирозин, у.о./г білка	12,3 (7,41)*	7,9 (2,58)	7,5 (1,98)	7,8 (2,39)	12,7 (4,88)	13,3 (8,67)	12,9 (5,7)	20,6 (9,95)	21,5 (10,93)	21,1 (9,87)	5,8 (0,9)	$p < 0,001$ $p_{III-K} = 0,011$ $p_{IV-K} < 0,001$ $p_{II-III} = 0,023$ $p_{II-IV} < 0,001$ $p_{III-IV} = 0,002$

**Примітки.** p – розбіжності між класами за однофакторним дисперсійним аналізом ANOVA; при виявленні розбіжностей, попарні порівняння за критерієм Шеффе:  $p_{II-K}$  – між II класом та контролем;  $p_{III-K}$  – між III класом та контролем;  $p_{IV-K}$  – між IV класом та контролем;  $p_{II-III}$  – між II та III класом;  $p_{II-IV}$  – між II та IV класом;  $p_{III-IV}$  – між III та IV класом; \* –  $p < 0,05$  розбіжності між генералізованою формою міастенії та контролем за критерієм Стьюдента; <sup>#</sup> –  $p < 0,05$  розбіжності між підкласами одного класу за критерієм Шеффе

ралізовану форму міастенії загалом не відрізнявся від показників групи контролю, однак виявляються певні розбіжності за класами (рис. 3).

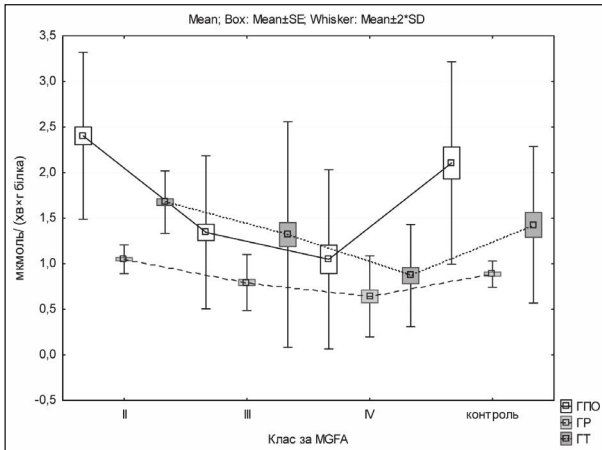
Щодо ГПО, то при порівнянні з практично здоровими людьми, не відрізняється від контролю II клас міастенії за рівнем даного глутатіонзалежного ферменту, щодо ГР – III клас, а для ГТ виявлено розбіжності порівняно з контролем лише для IV класу ( $p < 0,001$ ).

Хворі з IV класу міастенії мають статистично значущо менші рівні глутатіонзалежного ферменту, як порівняно з контролем ( $p < 0,001$ ), так і порівняно з іншими дослідженими класами захворювання: для

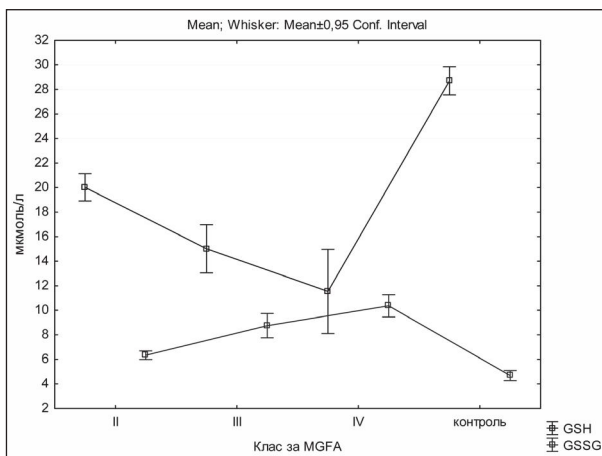
ГПО та ГТ – порівняно з II-м, для ГР – порівняно з II-м та III-м;  $p < 0,05$ ).

Рівень відновленого (GSH) та окисленого (GSSG) глутатіону суттєво відрізнявся у групі обстежених хворих на генералізовану форму міастенії від групи контролю але мав протилежну спрямованість – для GSH був нижче контрольних значень, для GSSG – суттєво перевищував їх ( $p < 0,001$ ). Ця тенденція простежується і за класами (рис. 4).

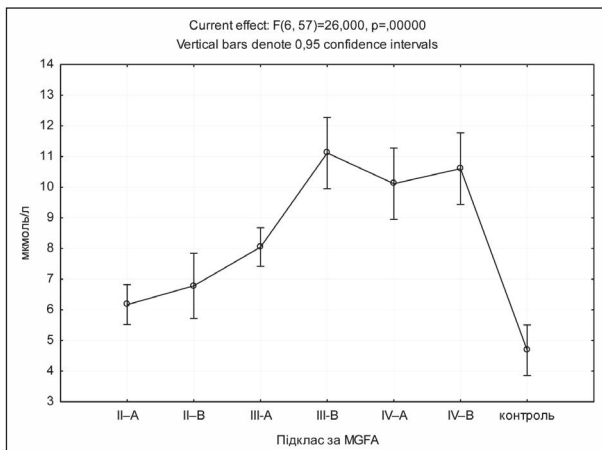
Для відновленого глутатіону виявлено розбіжності усіх досліджених класів порівняно з контрольною групою у якій спостерігався суттєво більший його рівень ( $p < 0,001$ ). Для окисленого глутатіону встановлено подібні розбіжності для всіх класів, окрім другого,



**Рисунок 3 – Середній рівень глутатіонзалежних ферментів (мкмоль/(хв·г білка)) в залежності від класу захворювання (M – середня арифметична, SE – стандартна похибка, SD – стандартне відхилення).**

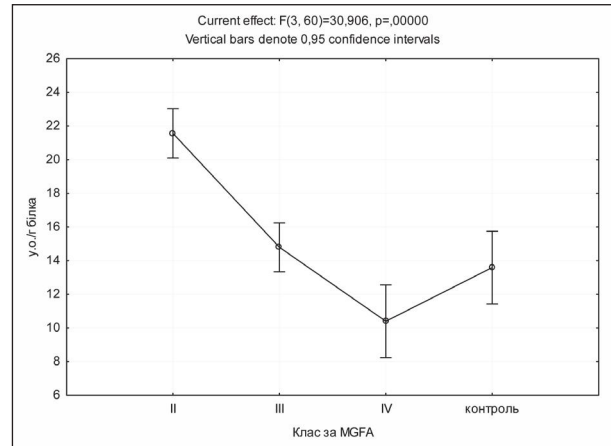


**Рисунок 4 – Середній рівень відновленого та окисненого глутатіону (мкмоль/л) в залежності від класу захворювання (середня арифметична та 95% ДІ).**

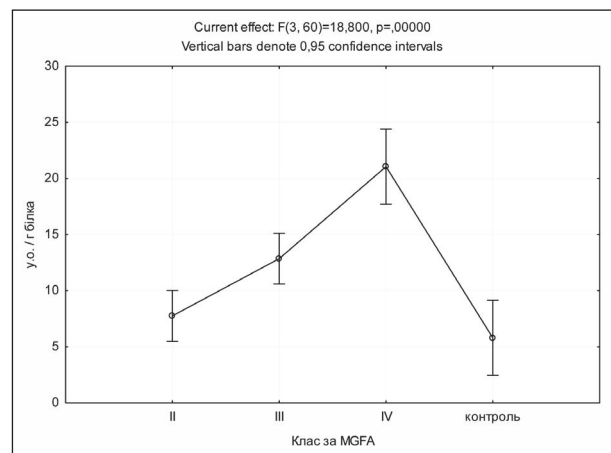


**Рисунок 5 – Середній рівень окисненого глутатіону (мкмоль/л) в залежності від підкласу захворювання (середня арифметична та 95% ДІ).**

який статистично значуще не відрізнявся від контролю ( $p > 0,05$ ). У пацієнтів II класу середні значення GSH та GSSG суттєво відрізнялися від груп інших обстежених хворих ( $p < 0,01$ ). Представники IV класу відрізнялися від представників інших класів за рівнем GSSG. Найвищий рівень відновленого глутатіону визначався у III-B підкласі (рис. 5), це єдиний випадок



**Рисунок 6 – Середній рівень HSP70 (у.о./г білка) в залежності від класу захворювання (середня арифметична та 95% ДІ).**



**Рисунок 7 – Середній рівень нітритирозину (у.о./г білка) в залежності від класу захворювання (середня арифметична та 95% ДІ).**

наявності розбіжностей ( $p = 0,004$ ) між підкласами одного класу серед досліджених білків та ферментів.

Отже можна стверджувати про пригнічення синтезу відновленого глутатіону та його ферментів при наявності генералізованої міастенії та при підвищенні ступеню пригнічення зі збільшенням важкості захворювання.

Окиснена форма глутатіону (GSSG), яка є потужним промотором метаболічних перетворень в системі антиоксидантного захисту підвищується при важких формах міастенії.

При міастенії лише у хворих IV класу пригнічується синтез білка теплового шоку масою 70 кДа (HSP70) (рис. 6), однак статистично значущих розбіжностей між відповідною групою та контролем не визначено ( $p > 0,05$ ).

В той же час рівень білка теплового шоку у хворих II класу міастенії суттєво перевищує показник контрольної групи ( $p < 0,01$ ). Отже, білки теплового шоку, що характеризуються здатністю модулювати різні види імунітету, більшою мірою притаманні для менш важких форм міастенії.

Підвищення рівню нітритирозину (рис. 7), що є проявом посилення процесів нітрозуючого стресу спостерігається у хворих на міастенію III та IV класів ( $p < 0,05$  порівняно з контролем).

Обмеження реакцій нітрозуючого стресу більшою мірою проявляється у II класі захворювання на

міастенію ( $p < 0,05$  порівняно з III та IV класами), меншою у III-му ( $p = 0,002$  порівняно з IV класом).

В рамках проведення дисперсійного аналізу ANOVA оцінювали ступінь впливу незалежного фактору (клас захворювання) на досліджувану ознаку – досліджуваний білок, фермент антиоксидантної системи (K, %).

Встановлено значний вплив класу міастенії на варіабельність показників оксидантного стресу та білків теплового шоку: найбільший на коливання SH-групи ( $K = 75,45$  %;  $p < 0,001$ ), далі (в порядку убавання) – вплив на окислений та відновлювальний глутатіон (відповідно  $K = 73,24$  % та  $K = 72,29$  %;  $p < 0,001$ ), HSP ( $K = 62,08$  %;  $p < 0,001$ ), ГПО ( $K = 60,34$  %;  $p < 0,001$ ), ГР ( $K = 56,66$  %;  $p < 0,001$ ), нітротирозамін ( $K = 48,58$  %;  $p < 0,001$ ) та найменший на ГТ-глутатіон-S-трансферазу ( $K = 32,0$  %;  $p = 0,001$ ).

Отже за проведеним аналізом показників оксидантного і нітрозативного стресів та білків теплового шоку можна зробити висновки, що при генералізованій міастенії, при посиленні її тяжкості розвивається стан хронічного оксидантного стресу, показником якого є зниження активності ферментів-антиокси-

дантів та підвищення ферментів промоторів метаболічних перетворень.

Ці залежності підтверджуються й кореляційним аналізом. За ранговим кореляційним аналізом визначено, що з класом та підкласом захворювання за MGFA корелюють глутатіонпероксидаза (коефіцієнти рангової кореляції Спірмена відповідно  $r = -0,44$  та  $r = -0,44$ ;  $p < 0,001$ ); глутатіонредуктаза (відповідно  $r = -0,60$  та  $r = -0,61$ ;  $p < 0,001$ ); ГТ-глутатіон-S-трансфераза (відповідно  $r = -0,53$  та  $r = -0,54$ ;  $p < 0,001$ ) та білок теплового шоку HSP70 (відповідно  $r = -0,74$  та  $r = -0,71$ ;  $p < 0,001$ ).

### Висновки

1. Отже, посилення ступеню клінічних проявів міастенії супроводжується ознаками хронічного оксидантного стресу.

2. При наростанні клінічних проявів генералізованої міастенії відбувається зниження концентрації ферментів-антиоксидантів, що опосередковано підтверджує роль оксидантного стресу в розвитку міастенії.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективним є вивчення ролі оксидантного та нітрозинового стресу в розвитку міастенічного кризу.

### Література

- Kalbus OI. Kliniko-imunologichni spivstavlennya u khvorykh na miasteniyu. Ukr. journal medicyny, biol. ta sport. 2018;3(1):135-8. Dostupno: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.01.135> [in Ukrainian].
- Sanadze AG. Miasteniyi i miastenicheskie sindromy: rukovodstvo. M.: GEOTAR-Media; 2017. 256 s. [in Russian].
- Engel A. Myasthenia gravis and myasthenic disorders. New York: Oxford University Press; 2012. 304 p.
- Andersen JB, Haldal AT, Engeland A, Gilhus NE. Myasthenia gravis epidemiology in a national cohort; combining multiple disease registries. Acta neurologica Scandinavica. Supplementum. 2014;198:26-31. Available from: <https://doi.org/10.1111/ane.12233>
- Blum S, Lee D, Gillis D, McEnery DF, Reddel S, McCombe P. Clinical features and impact of myasthenia gravis disease in Australian patients. Journal of Clinical Neuroscience. 2015;22(7):1164-9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2015.01.022>
- Breiner A, Widdifield J, Katzberg HD, Barnett C, Bril V, Tu K. Epidemiology of myasthenia gravis in Ontario, Canada. Neuromuscular Disorders. 2016;26(1):41-6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2015.10.009>
- Breiner A, Young J, Green D, Katzberg H, Barnett C, Bril V, et al. Canadian Administrative Health Data Can Identify Patients with Myasthenia Gravis. Neuroepidemiology. 2015;44(2):108-13. Available from: <https://doi.org/10.1159/000375463>
- Carr AS, Cardwell CR, McCarron PO, McConville J. A systematic review of population based epidemiological studies in Myasthenia Gravis. BMC Neurology. 2010;10:46. Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2377-10-46>
- Kalbus OI. Medyko-statystychni ta epidemiolohichni kharakterystyky poshyrenosti miasteniyi v Ukraini. Ukr medical journal. 2019;2(2):42-5. Dostupno: <https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.132.161828> [in Ukrainian].
- Brambilla D, Mancuso C, Scuderi M, Bosco P, Cantarella G, Lempereur L, et al. The role of antioxidant supplement in immune system, neoplastic, and neurodegenerative disorders: a point of view for an assessment of the risk/benefit profile. Nutrition Journal. 2008;7(1):29. Available from: <https://doi.org/10.1186/1475-2891-7-29>
- Yang D, Su Z, Wu S, Bi Y, Li X, Li J, et al. Low antioxidant status of serum bilirubin, uric acid, albumin and creatinine in patients with myasthenia gravis. International Journal of Neuroscience. 2016;126(12):1120-6. Available from: <https://doi.org/10.3109/00207454.2015.1134526>
- Krishnaswamy A, Cooper E. Reactive oxygen species inactivate neuronal nicotinic acetylcholine receptors through a highly conserved cysteine near the intracellular mouth of the channel: implications for diseases that involve oxidative stress. The Journal of Physiology. 2011;590(1):39-47. Available from: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.214007>
- Venkatesham A, Babu PS, Sagar JV, Krishna DR. Effect of reactive oxygen species on cholinergic receptor function. Indian J Pharmacol. 2005;37:366-70.
- Adamczyk-Sowa M, Bieszczad-Bedrejcuk E, Galiniak S, Rozmiłowska I, Czyżewski D, Bartosz G, et al. Oxidative modifications of blood serum proteins in myasthenia gravis. Journal of Neuroimmunology. 2017;305:145-53. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2017.01.019>

### ПОКАЗНИКИ ОКСИДАНТНОГО ТА НІТРОЗИНОВОГО СТРЕСУ ПРИ ГЕНЕРАЛІЗОВАНІЙ МІАСТЕНІЇ

**Кальбус О. І.**

**Резюме.** Метою даної роботи було вивчити роль оксидантного та нітрозинового стресу при розвитку генералізованої міастенії.

**Об'єкт і методи.** Було обстежено 147 хворих на генералізовану міастенію та 10 майже здорових осіб, що сформували групу контролю. Для оцінки клінічної форми, класу та підкласу міастенії використовували класифікацію MGFA (Myasthenia Gravis Foundation of America, 2001). Хворим на міастенію та особам з контрольної групи визначали рівень загального білку, сульфгідрильних груп (SH-груп), рівень глутатіонзалежних ферментів (глутатіонпероксидази – ГПО, глутатіонредуктази – ГР, глутатіон-S-трансферази – ГТ). Крім того, визначали рівень відновленого (GSH) та окисленого (GSSG) глутатіону, рівень білка теплового шоку масою 70 кДа (HSP70). Проводили визначення рівня нітротирозину як основного показника нітрозинового стресу.

**Результати та їх обговорення.** Встановлено значний вплив класу міастенії на варіабельність показників оксидантного стресу та білків теплового шоку: найбільший – на коливання SH-групи ( $K = 75,45$  %;  $p < 0,001$ ), далі (в порядку убавання) – вплив на окислений та відновлювальний глутатіон (відповідно  $K = 73,24$  % та  $K = 72,29$  %;

$p < 0,001$ ), HSP (K=62,08 %;  $p < 0,001$ ), ГПО (K=60,34 %;  $p < 0,001$ ), ГР (K=56,66 %;  $p < 0,001$ ), нітротирозамін (K=48,58 %;  $p < 0,001$ ) та найменший на ГТ-глутатіон-S-трансферазу (K=32,0 %;  $p = 0,001$ ).

Ці залежності підтверджуються кореляційним аналізом. За ранговим кореляційним аналізом визначено, що з класом та підкласом захворювання за MGFA корелюють глутатіонпероксидаза (коефіцієнти рангової кореляції Спірмена відповідно  $r = -0,44$  та  $r = -0,44$ ;  $p < 0,001$ ); глутатіонредуктаза (відповідно  $r = -0,60$  та  $r = -0,61$ ;  $p < 0,001$ ); ГТ-глутатіон-S-трансфераза (відповідно  $r = -0,53$  та  $r = -0,54$ ;  $p < 0,001$ ) та білок теплового шоку HSP70 (відповідно  $r = -0,74$  та  $r = -0,71$ ;  $p < 0,001$ ).

**Висновки.** При наростанні клінічних проявів генералізованої міастенії відбувається зниження концентрації ферментів-антиоксидантів та підвищення концентрації ферментів-промоутерів метаболічних процесів, що є ознакою розвитку хронічного оксидантного стресу.

**Ключові слова:** міастенія, оксидантний стрес, нітрозиновий стрес, глутатіон, білок теплового шоку, нітротирозамін.

### ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАНТНОГО І НИТРОЗИНОВОГО СТРЕСА ПРИ ГЕНЕРАЛІЗОВАНІЙ МІАСТЕНІЇ

Кальбус А. І.

**Резюме.** Целью данной работы было изучить роль оксидантного и нитрозинового стресса при развитии генерализованной миастении.

**Объект и методы.** Было обследовано 147 больных генерализованной миастенией и 10 практически здоровых лиц из группы контроля. Для оценки клинической формы, класса и подкласса миастении использовали классификацию MGFA (Myasthenia Gravis Foundation of America, 2001). Больным миастенией и лицам из контрольной группы определяли уровень общего белка, сульфгидрильных групп (SH-групп), уровень глутатионзависимых ферментов (глутатионпероксидазы – ГПО, глутатионредуктазы – ОС, глутатион-S-трансферазы – ГТ). Кроме того, определяли уровень восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона, уровень белка теплового шока массой 70 кДа (HSP70). Проводили определение уровня нитротирозина как основного показателя нитрозинового стресса.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено значительное влияние класса миастении на вариабельность показателей оксидантного стресса и белков теплового шока: наибольшее влияние на колебания SH-группы (K = 75,45%;  $p < 0,001$ ), далее (в порядке убывания) – воздействие на окисленный и восстановительный глутатион (соответственно K = 73,24% и K = 72,29%;  $p < 0,001$ ), HSP (K = 62,08%;  $p < 0,001$ ), ГПО (K = 60,34%;  $p < 0,001$ ), ГР (K = 56,66%;  $p < 0,001$ ), нитротирозамин (K = 48,58%;  $p < 0,001$ ) и маленький на ГТ-глутатион-S-трансферазу (K = 32,0%;  $p = 0,001$ ). Эти зависимости подтверждаются корреляционным анализом. По данным рангового корреляционного анализа установлено, что с классом и подклассом миастении по MGFA коррелируют глутатионпероксидаза (коэффициенты ранговой корреляции Спирмена соответственно  $r = -0,44$  и  $r = -0,44$ ;  $p < 0,001$ ); глутатионредуктаза (соответственно  $r = -0,60$  и  $r = -0,61$ ;  $p < 0,001$ ); ГТ-глутатион-S-трансфераза (соответственно  $r = -0,53$  и  $r = -0,54$ ;  $p < 0,001$ ) и белок теплового шока HSP70 (соответственно  $r = -0,74$  и  $r = -0,71$ ;  $p < 0,001$ ).

**Выводы.** При нарастании клинических проявлений генерализованной миастении происходит снижение концентрации ферментов-антиоксидантов и повышение концентрации ферментов-промоутеров метаболіческих процессов, что является признаком развития хронического оксидантного стресса.

**Ключевые слова:** миастенія, оксидантний стрес, нітрозиновий стрес, глутатіон, білок теплового шока, нітротирозамін.

### INDICATORS OF OXIDATIVE AND NITROSIN STRESS IN GENERALIZED MYSTENA

Kalbus O. I.

**Abstract.** Although the relationship between oxidative stress (OS) as well as nitrosine stress (NS) and myasthenia gravis has been poorly studied, some studies indicate a role for OS in the pathogenesis of myasthenia gravis development.

*The purpose of this work* was to study the role of the OS and NS in the development of generalized myasthenia gravis.

**Object and methods.** A total of 147 patients with generalized myasthenia gravis and 10 near-healthy controls were included into the study.

The MGFA classification (Myasthenia Gravis Foundation of America, 2001) was used to evaluate the clinical form, class and subclass of myasthenia gravis. The level of total protein, sulfhydryl groups (SH-groups), level of glutathione-dependent enzymes (glutathione peroxidase – GPO, glutathione reductase – GR, glutathione-S-transferase – GT) were evaluated. In addition, the level of reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione, heat shock protein 70 kDa mass (HSP70) was determined. The level of nitrotyrosine was determined as the main indicator of the NS. Methods of parametric and non-parametric statistics were used in mathematical data processing.

**Results and Discussion.** Of the total sample of patients with generalized form, 52 (28.6%) had MGFA class II myasthenia, 64 (35.2%) had class III, 31 (17%) had class IV myasthenia accordingly.

The level of total blood protein ranged from 62.9 g/l to 95.0 g/l in all surveyed patients. The average level (M(SD)) in the control group was 77.5 (4.59) and among patients with generalized myasthenia gravis – 75.9 (7.23) g/l, with no statistically significant differences between generalized form and control, as well as between classes and subclasses of the disease ( $p > 0.05$ ).

Within the ANOVA, the degree of influence of an independent factor (disease class) on the investigated trait – the investigated protein, the enzyme of the antioxidant system (K,%) – was evaluated.

Significant influence of the myasthenia class on the variability of oxidative stress and heat shock proteins was found: the greatest influence was on the SH-group fluctuations ( $K = 75.45\%$ ;  $p < 0.001$ ), then (in descending order) – on oxidized and reducing glutathione (respectively  $K = 73.24\%$  and  $K = 72.29\%$ ;  $p < 0.001$ ), HSP ( $K = 62.08\%$ ;  $p < 0.001$ ), GPO ( $K = 60.34\%$ ;  $p < 0.001$ ), GR ( $K = 56, 66\%$ ;  $p < 0.001$ ), nitrotyrosamine ( $K = 48.58\%$ ;  $p < 0.001$ ) and the lowest one – GT-glutathione-S-transferase ( $K = 32.0\%$ ;  $p = 0.001$ ).

Therefore, by the analysis of indicators of oxidative and nitrosative stress and heat shock proteins, we can conclude that with generalized myasthenia, with increasing its severity develops a state of chronic oxidative stress, which is an indicator of the decrease of the activity of antioxidant enzymes and increase of enzymes – promoters of metabolic processes.

These dependencies are confirmed by correlation analysis. By rank correlation analysis it was determined that glutathione peroxidase correlates with MGFA disease class and subclass (Spearman rank correlation coefficients, respectively,  $\rho = -0.44$  and  $\rho = -0.44$ ;  $p < 0.001$ ); glutathione reductase (respectively,  $\rho = -0.60$  and  $\rho = -0.61$ ;  $p < 0.001$ ); GT-glutathione-S-transferase (respectively  $\rho = -0.53$  and  $\rho = -0.54$ ;  $p < 0.001$ ) and heat shock protein HSP70 (respectively  $\rho = -0.74$  and  $\rho = -0.71$ ;  $p < 0,001$ ).

**Conclusions.** With increasing clinical manifestations of generalized myasthenia, there is a decrease in the concentration of antioxidant enzymes and an increase in the concentration of promoter enzymes of metabolic processes, which is a sign of the development of chronic oxidative stress.

**Key words:** myasthenia gravis, oxidative stress, nitrosine stress, glutathione, heat shock protein, nitrotyrosamine.

Рецензент – проф. Дельва М. Ю.  
Стаття надійшла 26.08.2019 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-3-152-127-131

УДК 615.9:632.95:612.6:591.16

Колянчук Я. В., Шепельская Н. Р., Проданчук Н. Г., Бубало Н. Н., Петрашенко Г. И.

### МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕСТИЦИДА ЛЯМБДА-ЦИГАЛОТРИНА В ИССЛЕДОВАНИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ТОКСИЧНОСТИ НА САМЦАХ И САМКАХ КРЫС WISTAR HAN

ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л. И. Медведя МЗ Украины» (г. Киев)

kolyanchuk.yana@gmail.com

**Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами.** Работа выполнена в рамках НИР ГП «Научный токсикологический центр имени академика Л.И. Медведя МЗ Украины» по теме «Научное обоснование современных нормативных требований к применению пестицидов и агрохимикатов: прогнозирование отдаленных эффектов действия (канцерогенного, мутагенного, тератогенной активности, репродуктивной токсичности, хронических интоксикаций)»; государственный регистрационный № 0108U007458.

**Вступление.** Инсектицид лямбда-цигалотрин (ЛЦТ) – представитель четвертого поколения синтетических пиретроидов широко применяется в качестве активного ингредиента в препаративных формах средств защиты растений. Известно, что все пестициды, обладая высокой биологической активностью в отношении целевых объектов, могут оказывать токсический эффект и на нецелевые организмы [1-5]. Наибольшую обеспокоенность в настоящее время вызывают химические соединения, оказывающие модулирующее действие на половые гормоны, что угрожает репродуктивной способности человека и диких животных [6].

Многие гормоноподобные химические соединения, имитируя физиологические гормоны, связываются с рецептором и запускают ответ, не обязательно совпадающий с ответом, вызываемым эндогенными лигандами [7-11]. Возникающие вследствие этого нарушения системы воспроизведения потомства могут быть выявлены в процессе идентификации опасности в тест-системах исследования целостного организма.

Принимая во внимание эстрогеноподобную активность ЛЦТ [12-14], в данном эксперименте представляло интерес изучить влияние ещё одного образца этого соединения на репродуктивную функцию самцов и самок крыс Wistar Han в условиях воздействия в период гаметогенеза и провести сравнительную характеристику половой чувствительности подопытных животных к тестируемому инсектициду. А так же **целью** данной **работы** было идентифицировать опасность и оценить риски гонадо- и репродуктивной токсичности на организм самцов и самок крыс.

**Объект и методы исследования.** Крысы Wistar Han (самцы и самки) были получены из питомника SPF (specific pathogen free) животных ГП «Научный токсикологический центр имени академика Л.И. Медведя МЗ Украины». В процессе эксперимента животные получали деионизированную, обеззараженную питьевую воду и сбалансированный гранулированный гипофитоэстрогенный корм производства Альтромин (Германия) *ad libitum*. Период адаптации составлял 5 дней. Лямбда-цигалотрин технический (ЛЦТ) 95,6 % чистоты, вводился перорально в виде водной эмульсии трём группам животных, по 20 самцов и 20 самок в каждой, в дозах 0,0; 0,3 и 3 мг/кг массы тела в течение 11 недель самцам и 10 недель самкам. Контрольные животные (0,0 мг/кг м.т.) получали внутривентрикулярно, с помощью зонда, эквивалентное количество растворителя (дистиллированную воду с эмульгатором). Исследования на животных проведены согласно требованиям и положениям «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментальных и других