

# Особливості оксидантного стресу та його основних компонентів в умовах коронарогенних і некоронарогенних захворювань серця

В.М. Коваленко, Л.С. Мхітарян, Н.М. Орлова, О.Г. Несукай, І.Н. Євстратова, Н.М. Василичук, С.В. Чернюк

Національний науковий центр «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска» НАМН України, м. Київ

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** оксидантний стрес, ішемічна хвороба серця, хронічний міокардит, дилатаційна кардіоміопатія

Результати численних досліджень свідчать про важливу роль активації процесів вільнорадикального окиснення в патогенезі багатьох серцево-судинних захворювань, зокрема як коронарогенної, так і некоронарогенної патології серця [1, 3, 4, 10, 12, 15]. Проте формування оксидантного стресу при різних захворюваннях може відрізнятися певними особливостями щодо частоти його виникнення, участі в ньому різних складових активації реакцій перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), вільнорадикального окиснення білків, зниження активності ферментів антиоксидантного захисту – та вираженості всіх зазначених компонентів [5, 7, 11, 12].

Метою роботи було вивчення особливостей та порівняльна характеристика проявів оксидантного стресу в умовах коронарогенних та некоронарогенних уражень серця.

## Матеріал і методи

Проведено дослідження сироватки крові хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) та хворих з некоронарогенними захворюваннями – дилатаційною кардіоміопатією (ДКМП) та хронічним міокардитом (ХМ). Діагноз встановлювали на підставі анамнезу, клініко-лабораторних та функціональних методів досліджень. Розвиток і вираженість оксидантного стресу проаналізовано з урахуванням наявності та величини його головних складових, а саме – активації ПОЛ, посилення процесів вільнорадикального окиснення білків та змін активності ключових антиоксидантних ферментів.

Обстежено 123 хворих на ІХС (85 чоловіків і 38 жінок віком 50–65 років), що перебували на

лікуванні у відділі атеросклерозу та ішемічної хвороби серця ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска», а також 68 хворих на ДКМП (58 чоловіків та 10 жінок віком 52–65 років) та 76 хворих на ХМ (46 чоловіків та 30 жінок віком 45–55 років), що перебували на лікуванні у відділі некоронарогенних хвороб серця та клінічної ревматології ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска». Контрольну групу становили 25 практично здорових донорів.

Визначали біохімічний склад сироватки крові: показники інтенсивності вільнорадикального окиснення білків – вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів, показники ПОЛ – вміст дієнових кон'югат та малонового діальдегіду, активність антиоксидантних ферментів (каталази, глутатіонредуктази) – спектрофотометричним методом та супероксиддисмутази (СОД) – за допомогою спектрофлуориметрії [2, 6, 8, 9, 13, 14].

При формуванні груп пацієнтів застосовано певні кількісні критерії для визначення інтенсивності оксидантного стресу в кожного хворого. При цьому до чітких ознак оксидантного стресу були віднесені зміни усіх трьох перерахованих вище компонентів оксидантного стресу за умови, що хоча б одна із складових характеристик змінювалася у півтора-два рази. Помірні ознаки оксидантного стресу включали коливання головних його компонентів, які були досить значущими, але не перевищували 50 % від вихідного рівня. Саме за цими критеріями було сформовано групи хворих, що підлягали аналізу в умовах як коронарогенних, так і некоронарогенних захворювань серця. Пацієнтів з незначними змінами показників вільно-

радикальних реакцій вилучали з аналізу. Статистичну обробку отриманих результатів було проведено з використанням пакета програм Microsoft Office Access та способу порівняння середніх розмірів. Використовували критерій Стюдента, зміни вважали достовірними при значенні  $P < 0,05$ .

## Результати та їх обговорення

У більшості хворих на ІХС та некоронарогенні захворювання серця виявляють ознаки посилення вільнорадикальних окиснювальних реакцій або зниження активності антиоксидантних ферментів, проте ці ознаки мають різну вираженість в достатньо широкому діапазоні. Наведені вище критерії використовували при дослідженні частоти виявлення оксидантного стресу в умовах ІХС та у пацієнтів з некоронарогенними захворюваннями серця (табл. 1). Частота розвитку чітких та помірних ознак оксидантного стресу у хворих на ІХС при їх первинному обстеженні в стаціонарі дорівнювала 76,5 %. У об'єднаній групі хворих на ДКМП та ХМ цей показник був дещо вищим і становив 60,7 %. З огляду на статистично значущий характер цієї різниці ( $P < 0,05$ ) можна зробити висновок, що в умовах ІХС частота виявлення чіткого та помірного оксидантного стресу була достовірно вищою. Також було досліджено частоту розвитку чітких та помірних ознак активації вільнорадикальних реакцій у хворих на ДКМП та окремо на ХМ (див. табл. 1). Виявлено, що відносна питома вага чіткого та помірного оксидантного стресу при ДКМП (79,2 %) практично не поступалася відповідному показнику в умовах ІХС і суттєво перевищувала частоту аналогічних змін у хворих на ХМ (48,7 %).

У подальшому порівняли частотні характеристики чіткого та помірного оксидантного стресу окремо при кожному із досліджуваних захворювань. Виявлено, що за частотною характеристикою чітких ознак оксидантного стресу достовірно відрізнялися між собою хворі на ДКМП та ХМ: якщо в умовах ДКМП відсоток виявлення чітких ознак стресу становив 45,8 %, що помірно переважало аналогічний показник при ІХС, то при ХМ він виявився достовірно нижчим – 21,6 % (див. табл. 1). Частота виявлення помірних ознак оксидантного стресу була найбільшою в умовах ІХС – 45,9 %, що достовірно перевищувало відповідний показник в умо-

Таблиця 1

Частота виявлення чітких та помірних ознак оксидантного стресу в умовах коронарогенних та некоронарогенних захворювань серця

Група	Вираженість стресу		
	Чіткі та помірні ознаки, %	Чіткі ознаки, %	Помірні ознаки, %
ІХС (n=57)	76,5	30,6	45,9
ДКМП та ХМ (n=73)	60,7*	31,2	29,5*
ДКМП (n=32)	79,2	45,8	33,3
ХМ (n=41)	48,7** <sup>oo</sup>	21,6 <sup>o</sup>	27,0* <sup>o</sup>

**Примітка.** Різниця показників достовірна порівняно з такими у хворих на ІХС: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ ; у хворих на ДКМП: <sup>o</sup> –  $P < 0,05$ , <sup>oo</sup> –  $P < 0,01$ .

вах некоронарогенних захворювань (ДКМП та ХМ) та при ХМ (див. табл. 1).

У цілому проведені дослідження свідчили, що за сумарною частотою чітких та помірних ознак оксидантного стресу хворі на ІХС практично не відрізнялися від пацієнтів з ДКМП, тоді як в умовах ХМ частота оксидантного стресу виявилася достовірно нижчою. Зазначене співвідношення зберігалось і при окремому порівнянні частоти розвитку чітких або помірних ознак оксидантного стресу: частота виявлення чітких ознак оксидантного стресу у хворих з ХМ була достовірно меншою, ніж у пацієнтів з ДКМП, а частота виявлення помірних ознак – меншою, ніж у хворих на ІХС.

Окрім зіставлення частотних характеристик активації вільнорадикальних реакцій при зазначених захворюваннях, було проаналізовано також вираженість головних компонентів оксидантного стресу. Чіткі ознаки оксидантного стресу виявилися найбільш вираженими у хворих на ІХС. У цих пацієнтів мало місце значне підвищення вмісту первинних (на 131,4 %) та кінцевих (на 63,2 %) продуктів ПОЛ (табл. 2). Це доповнювалося ознаками суттєвого посилення вільнорадикального окиснення білків у сироватці крові – на 108,8 %. Такі несприятливі зміни спостерігали на тлі значного (в 2 рази) зниження активності каталази при збереженні активності СОД, щодо якої виявлено тенденцію до зростання (на 18,7 %).

В умовах ІХС мали місце неоднорідні зміни активності глутатіонредуктази, що зумовили тільки слабку тенденцію до підвищення цього показника в цілому по групі (див. табл. 2). Так, за чітких проявів оксидантного стресу майже у двох третинах випадків (68,4 %) спостерігали під-

Таблиця 2

Показники вільнорадикальних окиснювальних реакцій та активності ферментів антиоксидантного захисту в умовах чітких проявів оксидантного стресу у хворих на ІХС, ДКМП та ХМ

Показник	Величина показника (M±m) у групах			
	здорових	хворих на ІХС (n=35)	хворих на ДКМП (n=32)	хворих на ХМ (n=36)
Дієнові кон'югати, ум. од./мл	1,59±0,20	3,68±0,27**	3,30±0,38*	3,46±0,31*
Малоновий діальдегід, мкмоль/мл	8,5±0,4	13,9±1,0**	12,8±1,0*	11,2±0,5**°
2,4-динітрофенілгідрозони у сироватці, ум. од./мл	3,75±0,30	7,83±0,61**	5,16±0,31**°°	6,94±0,69**△
Активність каталази, од./л	12,5±1,1	6,3±0,2**	7,8±0,8*	7,1±0,3**°°°
Активність СОД, од./л	2138±373	2538±210	2810±404	2779±428
Активність глутатіонредуктази, од./л	20,8±0,3	23,0±1,5	–	21,8±2,3

**Примітка.** Різниця показників достовірна порівняно з такими у здорових осіб: \* –  $P < 0,01$ , \*\* –  $P < 0,001$ ; порівняно з такими у хворих на ІХС: ° –  $P < 0,02$ , °° –  $P < 0,001$ ,  $P < 0,05$ ; порівняно з такими у хворих на ДКМП: △ –  $P < 0,05$ .

вищення активності глутатіонредуктази – до 26,8 од./л, що достовірно перевищувало контрольний рівень на 28,8 %. Поряд з цим у 26,3 % хворих на ІХС чіткі ознаки оксидантного стресу поєднувалися зі зниженням активності глутатіонредуктази до  $(13,6 \pm 1,3)$  од./л – на 34,6 % порівняно з контролем ( $P < 0,01$ ). Окрім того, у 5,3 % хворих на ІХС при чітких проявах оксидантного стресу активність глутатіонредуктази залишалася практично незмінною.

В умовах ДКМП чіткі ознаки оксидантного стресу, як і у хворих на ІХС, виявлялися значним і достовірним підвищенням кількості проміжних (на 107,5 %) та кінцевих (на 51,0 %) продуктів ПОЛ у сироватці крові (див. табл. 2). Разом з тим накопичення продуктів вільнорадикального окиснення білків у цих пацієнтів становило лише 37,4 %, що було достовірно меншим, ніж в умовах ІХС. Таким чином у хворих на ДКМП було виявлено достовірне послаблення так званої білкової складової оксидантного стресу навіть в умовах його найбільш чітких проявів. Зміни функціонального стану антиоксидантних ферментів за умов чіткого оксидантного стресу в пацієнтів з ДКМП кількісно помірно відрізнялися від відповідних зрушень при ІХС: активність каталази знижувалася в середньому на 37,8 % на тлі відносно рівнозначного підвищення активності СОД на 31,4 % (див. табл. 2).

Вираженість проявів оксидантного стресу у хворих з ХМ теж мала певні особливості. За ступенем зростання концентрації проміжних продуктів ПОЛ (на 117,6 %) не виявлено достовірної різниці чітких проявів оксидантного стресу між групою пацієнтів з ХМ і групами хворих з ДКМП та ІХС, проте вміст малонового

діальдегіду у групі хворих на ХМ збільшувався тільки на 32,0 %, що було достовірно менше порівняно з відповідними змінами у хворих на ІХС.

В умовах ХМ спостерігали неоднорідні зміни активності глутатіонредуктази. У більшій частині спостережень (60,0 %) мало місце достовірне (як і при чітких проявах оксидантного стресу в умовах ІХС) підвищення активності глутатіонредуктази (в середньому на 20,5 %), тоді як у 40,0 % досліджень спостерігали протилежні зміни – зниження активності глутатіонредуктази на 19,2 %. На нашу думку, виявлені неоднорідні зрушення активності глутатіонредуктази свідчили на користь існування фазових змін функціонального стану цієї ланки антиоксидантного захисту за чітких та помірних проявів оксидантного стресу як при коронарогенних, так і некоронарогенних ураженнях серця.

У цілому результати досліджень вираженості вільнорадикальних окиснювальних реакцій при чітких проявах оксидантного стресу в умовах коронарогенних та некоронарогенних уражень серця продемонстрували, що найбільш значна активація процесів ПОЛ мала місце у хворих на ІХС. Рівень малонового діальдегіду в умовах ІХС достовірно перевищував відповідний показник у хворих на ХМ при чітких ознаках оксидантного стресу.

Поряд з цим, у хворих на ІХС спостерігали найбільш значну активацію вільнорадикального окиснення білків сироватки крові, що достовірно перевищувало відповідні зміни при ДКМП в умовах оксидантного стресу.

Важливо відзначити, що на ступінь вираженості оксидантного стресу, який спостерігали

у 76,5 % хворих на ІХС, може значно впливати вільнорадикальне окиснення апопротеїнів ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності. Про це свідчило збільшення вмісту кінцевого продукту вільнорадикального окиснення білків – 2,4-динітрофенілгідрозонів – у апопротеїновій фракції атерогенних класів ліпопротеїнів (на 50 % порівняно з цим показником у контрольній групі). Така окиснювальна модифікація білкових компонентів атерогенних ліпопротеїнів прямо вказує на підвищення їх атерогенного потенціалу з одночасним набуттям цими класами ліпопротеїнів антигенних властивостей. Ці зміни можуть лежати в основі механізмів прогресування патологічного процесу та розвитку його ускладнень [3, 15].

У цілому у хворих з некоронарогенними захворюваннями серця активація вільнорадикального окиснення білків (особливо скорочувальних білків міокарда) може бути одним із важливих механізмів розвитку аутоімунних процесів, подальшого прогресування захворювання та порушення скорочувальної функції серця.

Коронарогенні ураження серця супроводжувалися найменш збалансованим співвідношенням змін активності антиоксидантних ферментів, за якого знижений рівень активності каталази виявився достовірно нижчим, ніж у хворих на ХМ. Водночас ступінь зростання активності СОД у хворих на ІХС виявився найменшим, порівняно з таким у пацієнтів з некоронарогенними захворюваннями, хоча такі відмінності виявлялися тільки на рівні тенденції (див. табл. 2).

У хворих з некоронарогенними захворюваннями серця – ДКМП та ХМ – виявлено певні відмінності ступеня активації вільнорадикального окиснення білків. В умовах ДКМП мала місце достовірно менш значна активація процесів вільнорадикального окиснення білків, порівняно не тільки зі змінами у хворих на ХМ, а й з відповідними зрушеннями в умовах ІХС.

## Висновки

1. В умовах коронарогенних та некоронарогенних захворювань серця спостерігають оксидантний стрес різної вираженості, у формуванні якого беруть участь активація перекисного окиснення ліпідів, вільнорадикального окиснення білків, та зниження активності ферментів антиоксидантного захисту.

2. Чіткі та помірні ознаки оксидантного стресу виявлено у 76,5 % хворих на ішемічну хворобу серця та дилатаційну кардіоміопатію, що достовірно переважає відповідний показник у пацієнтів з хронічним міокардитом (50 %).

3. Чіткі ознаки оксидантного стресу найбільш виражені в умовах коронарогенних уражень серця і виявляються значною активацією процесів перекисного окиснення ліпідів, вільнорадикального окиснення білків і найменш збалансованим співвідношенням змін активності антиоксидантних ферментів.

4. Встановлену активацію вільнорадикальних окиснювальних реакцій у разі коронарогенних і некоронарогенних захворювань серця можна розглядати як важливий механізм прогресування патологічних процесів та враховувати при виборі лікарських засобів у схемах лікування пацієнтів.

## Література

1. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, создание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. – СПб: «Издательство «Медицинская пресса», 2006. – 400 с.
2. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы мед. химии. – 1995. – Т. 41. – С. 24-26.
3. Євстратова І.Н., Мхітарян Л.С., Орлова Н.М. та ін. Спосіб діагностики прогресуючого атеросклерозу. – Патент № 30972 А. – Бюл. – 2000. – № 2.
4. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс. – М.: Наука, 2001. – 342 с.
5. Коробейникова Э.Н., Кудревич Ю.В., Яшина Л.М. Окислительная модификация белков сыворотки крови у больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью с дислипидопроteinемией и без нее // Биохимия. – 2006. – № 1. – С. 22-24.
6. Определение активности каталазы в крови // Методы исследований в профпатологии / Под ред. О.Г. Архиповой. – М.: Медицина, 1988. – С. 156-157.
7. Рагино Ю.И., Баум В.А., Полонская Я.В. Новые способы оценки окислительной модификации белков // Бюллетень СО РАМН. – Новосибирск, 2006. – № 4 (122). – С. 67-73.
8. Стальная И.Д. Метод определения диеновой коньюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64-65.
9. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66.
10. Chakravarti B. Oxidative modification of proteins: Age-related changes // Gerontology. – 2007. – Vol. 53, № 3. – P. 128-139.
11. Channon K.M. Oxidative stress and coronary plaque stability // Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. – 2002. – Vol. 22. – P.1751-1752.
12. Kostner K.M., Kostner G.M. Factor affecting plasma lipoprotein(a) levels: role of hormones and other nongenetic factors // Semin. Vasc. Med. – 2004. – Vol. 4(2). – P. 211-214.

13. Misra H., Fridovich I. Metode of determinate superoxididismutase activity in humen erythrocytes // J. Biol. Chem. – 1972. – Vol. 244. – P. 6049-6055.
14. Snell F.D., Snell C.T. Colorimetric metods of analysis. – N.Y.: Van Nostard. – 1984. – 560 p.
15. Sohal R.S. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process// Free Redic. Biol. Med. – 2002. – Vol. 33, № 1. – P. 37-44.

Надійшла 13.01.2011 р.

### **Oxidative stress development features and expressiveness of its basic components in coronarogenic and noncoronarogenic heart disease**

V.M. Kovalenko, L.S. Mkhitarian, N.M. Orlova, O.G. Nesukai, I.N. Yevstratova, N.M. Vasylynchuk, S.V. Cherniuk

*The work is devoted to the study of oxidative stress features and comparison of its characteristics in coronarogenic and noncoronarogenic heart disease. The object of the study was blood serum of patients with ischemic heart disease (IHD), patients with dilated cardiomyopathy (DCMP) and chronic myocarditis (CM). Oxidative stress development and expressiveness was analyzed by activity of protein and lipid free radical oxidation, as well as change of activity of antioxidant enzymes. The studies that were carried out revealed accompanying oxidative stress development in patients with coronarogenic and noncoronarogenic heart disease. Precise and moderately accurate signs of oxidative stress were observed in 75 % patients with IHD and DCMP and in 50 % patients with CM. Signs of oxidative stress were most significant in coronarogenic heart disease. The established activation of free radical oxidation should be regarded as an important mechanism of progressive pathological processes. This phenomen may be considered for patients treatment.*