

Активність оксидантного стресу та особливості деяких метаболічних порушень в умовах гіпертонічної хвороби

Л.С. Мхітарян, Н.М. Орлова, О.Г. Купчинська, І.Н. Євстратова, Н.М. Василичук, Т.Ф. Дроботько, О.Ю. Короткоручко

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

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпертонічна хвороба, оксидантний стрес, метаболічні порушення

Останніми роками порушення балансу про-оксидантних та антиоксидантних факторів, що реалізується підвищенням утворення вільних радикалів і формуванням оксидантного стресу, розглядають як універсальний молекулярний механізм розвитку більшості серцево-судинних захворювань і, зокрема, гіпертонічної хвороби (ГХ) [3, 5, 7, 12]. Разом з тим вивчення особливостей вільнорадикальних окиснювальних процесів за цієї патології зосереджується головним чином на процесах переокиснення ліпідів (ПОЛ) та ранніх етапах становлення ГХ за меншої уваги до так званого «білкового компонента» оксидантного стресу та сталих стадій захворювання.

Згідно із сучасними поглядами, у становленні та прогресуванні ГХ поряд з порушенням регуляції артеріального тиску певну роль можуть відігравати так звані традиційні, а також нові, або нетрадиційні, чинники ризику серцево-судинних захворювань. До останніх відносять деякі прозапальні та метаболічні порушення: підвищення вмісту С-реактивного білка, інтерлейкіну-6, фібриногену, сечової кислоти, мікроальбумінурію, інсулінорезистентність тощо. Окремі дослідження свідчать, що ГХ можна вважати хронічним запальним процесом низької градації [10, 14]. Зростає інтерес до вивчення ендотеліальної дисфункції та змін біодоступності оксиду азоту в умовах ГХ.

Мета роботи – вивчити ступінь вираження та особливості активації вільнорадикальних окиснювальних процесів і деяких метаболічних порушень у хворих на гіпертонічну хворобу з тривалим анамнезом захворювання та ураженням

органів-мішеней, що повинно сприяти виявленню нових біохімічних чинників прогресування захворювання та його ускладнень.

Матеріал і методи

Було досліджено кров 159 пацієнтів з ГХ віком 43–63 роки, які перебували під спостереженням відділу гіпертонічної хвороби ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска».

У сироватці крові хворих визначали показники активності процесів ПОЛ – вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду [4]. Одночасно досліджували інтенсивність реакцій вільнорадикального окиснення білків сироватки крові та апопротеїнів атерогенних ліпопротеїнів – вміст кінцевих продуктів реакції – 2,4-динітрофенілгідрозонів [1]. Ефективність системи ферментативного антиоксидантного захисту визначали за змінами активності головних антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази, каталази та глутатіонредуктази [8, 14]. Ліпідний спектр крові – рівень загального холестерину (ХС), ХС ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), ХС ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), ХС ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), тригліцеридів, вміст у крові глюкози, глікозильованого гемоглобіну, сечової кислоти, фібриногену – вивчали за допомогою біохімічного аналізатора А-25 (Іспанія) з використанням відповідних тест-систем. Атерогенний потенціал крові визначали за вмістом дієнових кон'югатів у атерогенних ліпопротеїнах – індекс переокисної модифікації атерогенних ліпопротеїнів (ІПМАЛП) та розраховували коефіцієнт атерогенності.

Таблиця 1

Показники біохімічного складу крові у хворих на гіпертонічну хворобу

Показник	Величина показника (M±m)	
	у здорових (n=25)	у хворих на ГХ (n=159)
Глюкоза, ммоль/л	4,74±0,09	5,26±0,05**
Глікозильований гемоглобін, %	4,84±0,06	5,23±0,05**
Інсулін, мкОд/мл	4,87±0,99	12,69±0,69**
Індекс НОМА	1,02±0,21	3,00±0,015**
Сечова кислота, мкмоль/л	275,1±14,6	364,4±6,7**
Фібриноген, мг/дл	285,4±6,1	311,2±4,9*
С-реактивний білок, мг/л	3,16±0,12	4,87±0,11**
Цитрулін, мкмоль/л	68,0±7,0	104,6±2,7**

Примітка. Різниця показників достовірна порівняно з такими у здорових осіб: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,001$. Те саме в табл. 2

Імунотурбідиметричним методом оцінювали вміст С-реактивного білка в крові. Хворих обстежували амбулаторно за активним викликом. Протягом тривалого перебігу захворювання (15 років і більше) антигіпертензивну терапію проводили за різними алгоритмами із застосуванням препаратів різних фармакологічних груп.

Контрольну групу становили 25 практично здорових осіб відповідного віку та статі.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою програми SPSS, версія 13. Нормальність розподілення перемінних автоматично оцінювали за допомогою тесту Колмогорова – Смірнова.

Результати та їх обговорення

У хворих на ГХ вміст глюкози в крові не перевищував нормальних значень, проте був достовірно вищим, ніж у осіб контрольної групи (табл. 1). Це супроводжувалося помірним збільшенням рівня глікозильованого гемоглобіну, який у хворих не перевищував верхньої межі нормальних значень. Разом з тим в умовах ГХ спостерігали підвищення більш ніж удвічі концентрації інсуліну та індексу НОМА. Середній рівень цих показників сягав верхніх меж контрольних значень (для інсуліну – 12,5 мкОд/л, для індексу НОМА – 2,77). Таким чином, зміни у вуглеводному обміні в умовах ГХ свідчили про наявність у хворих інсулінорезистентності.

В умовах ГХ спостерігали також певні порушення пуринового обміну. І, хоча абсолютні значення вмісту сечової кислоти у хворих, як і в осіб

Таблиця 2

Показники ліпідного обміну у хворих на гіпертонічну хворобу

Показник	Величина показника (M±m)	
	у здорових (n=25)	у хворих на ГХ (n=159)
Загальний ХС, ммоль/л	4,50±0,40	6,37±0,09**
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	2,30±0,20	4,48±0,05**
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,30±0,03	0,55±0,03**
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,50±0,41	1,35±0,02*
Тригліцериди, ммоль/л	1,10±0,30	1,69±0,08
Коефіцієнт атерогенності, ум. од.	2,0±0,1	4,1±0,2**
ІПМАЛП, ум. од.	2,5±0,2	3,4±0,1**

контрольної групи, не перевищували нормативних показників, середній рівень сечової кислоти в крові хворих на 32,5 % ($P < 0,001$) був більшим, ніж у здорових. Відомо, що урикемію визнано предиктором серцево-судинних захворювань як у загальній популяції, так і у пацієнтів з ГХ [9, 15]. Поряд з цим експериментальні дані чітко продемонстрували розвиток артеріальної гіпертензії у щурів під впливом фармакологічно відтвореної гіперурикемії та запобігання її розвитку за допомогою алопуринолу [11].

У хворих на ГХ спостерігали також певну активацію прозапальних факторів (див. табл. 1). У цілому вміст неспецифічного маркера системного запалення – С-реактивного білка – у пацієнтів не перевищував загальноприйнятих контрольних значень (до 5,0 мг/л), однак був практично у півтора разу (на 54,1 %) вищим, ніж у здорових осіб, при менш значному збільшенні рівня фібриногену. Згідно із сучасними уявленнями зв'язок між активацією системного запалення та прогресуванням ГХ обумовлений, головним чином, активацією ренін-ангіотензинової системи [2, 6].

При дослідженні в умовах ГХ особливостей ліпідного обміну виявлено суттєві проатерогенні порушення (табл. 2). Найбільш значущим серед них було підвищення майже вдвічі (на 94,8 %) вмісту ХС ЛПНЩ при одночасному значному (на 83,8 %) збільшенні ХС ЛПДНЩ. Це відбувалося на тлі суттєвого (на 41,5 %) підвищення рівня загального ХС і виявлялося зростанням коефіцієнта атерогенності крові майже вдвічі. ІПМАЛП у хворих на ГХ достовірно збільшувався в середньому на 36 %. Наведені несприятливі зміни супроводжувалися помірним зростанням вмісту тригліцеридів крові та незначним зменшенням рівня ХС ЛПВЩ (див. табл. 2).

Серед метаболічних порушень у пацієнтів з ГХ було зафіксовано суттєве підвищення вмісту в крові цитруліну, який використовували як маркер активності NO-утворювальних систем. В умовах ГХ спостерігали суттєве (на 53,8 %) зростання кількості цього продукту, що утворюється з L-аргініну при активації NO-синтаз в еквімолярному співвідношенні до оксиду азоту.

Для характеристики функціонального стану NO-синтаз у більшості досліджень останніми роками частіше використовують визначення вмісту стабільних метаболітів NO – NO₂, NO₃. Не підлягає сумніву, що рівень NO₂ та NO₃ у крові значно залежить від якості та асортименту продуктів харчування, овочів, фруктів, питної води, складу та доз лікарських препаратів, що приймають пацієнти. З цієї точки зору більш інформативним та точним вважається визначення рівня цитруліну, який може характеризувати функціональну активність NO-синтаз, тоді як NO₂ та NO₃ є метаболітами NO – тобто, продуктами його подальших перетворень.

Водночас необхідно враховувати, що вміст цитруліну в сироватці крові – сумарний продукт реакцій, які активуються конституційною та індукційною NO-синтазними системами. Відомо, що найбільш високі потенційні можливості до активації та продукції NO має індукційна NO-синтаза. Ізоформа цієї ферментної системи представлена здебільшого в імунікомпетентних клітинах крові – моноцитах, нейтрофілах тощо. Згідно з даними літератури, її потужність значно вища за інші ізоформи цього ферменту і, в першу чергу, порівняно з її ендотеліальною ізоформою. Встановлено, що в умовах розвитку патологічного процесу (оксидантний стрес, зміни гемостазу, запалення, гіпоксія, ішемія, переохолодження, вірусна та бактеріальна інфекція та ін.) активація імунікомпетентних клітин супроводжується викидом у кровоплин продуктів NO-синтазної реакції.

Відомо, що оксидантний стрес розвивається паралельно з надмірним утворенням супероксидного радикалу (O₂⁻). При цьому, незважаючи на активацію індукційних NO-синтазних систем, рівень NO може бути зменшеним, оскільки NO вступає в реакцію з O₂⁻ і формує високотоксичну сполуку – пероксинітрит. Це, своєю чергою, призводить до зменшення парціального тиску кисню (PO₂), недостатньої перфузії життєво важливих органів (серця, нирок), посилення реабсорбції Na⁺ та прогресування ГХ

Таблиця 3
Показники оксидантного стресу у хворих на гіпертонічну хворобу

Показник	Величина показника (M±m)	
	у здорових (n=25)	у хворих на ГХ (n=159)
Дієнові кон'югати сироватки, ум. од./мл	1,6±0,3	2,6±0,1**
Малоновий діальдегід сироватки, мкмоль/мл	8,5±0,4	11,1±0,2***
2,4-динітрофенілгідрозони сироватки, ум. од./мл	3,8±0,4	6,0±0,2***
2,4-динітрофенілгідрозони ЛПНЩ та ЛПДНЩ, ум. од./мг ліпідів	0,60±0,05	0,91±0,03***
Каталаза, Од./л	12,5±0,5	7,4±0,3***
Супероксиддисмутаза, Од./л	2138±127	1848±63*
Глутатіонредуктаза, Од./л	20,4±0,8	17,9±1,8**

Примітка. Різниця показників достовірна порівняно з такими у здорових осіб: * – P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001.

[13]. Встановлено, що детоксикація пероксинітриту в організмі відбувається шляхом реакції з тіол-(SH⁻)-вмісними речовинами, зокрема глутатіоном, цистеїном, які в умовах оксидантного стресу в організмі мають переважно окиснену форму, що містить замість SH⁻ – дисульфідні групи –S–S–. У зв'язку з цим може посилюватися токсичний та ушкоджувальний вплив пероксинітриту.

Відзначені несприятливі зміни обміну оксиду азоту розвивалися на тлі активації вільнорадикальних окиснювальних реакцій у більшості хворих на ГХ.

У загальній групі пацієнтів з ГХ (n=159) мали місце ознаки оксидантного стресу різного ступеня вираження. Про це свідчили посилення процесів ПОЛ, активація реакцій вільнорадикального окиснення білків та зниження активності антиоксидантних ферментів. Так, вміст проміжних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югат – у сироватці крові обстежених пацієнтів з ГХ у цілому в групі збільшувався на 60,6 %, а вміст кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду – підвищувався на 30,2 % (табл. 3) порівняно з показником у практично здорових осіб. Активація вільнорадикального окиснення білків сироватки крові досліджуваних пацієнтів виявлялася суттєвим підвищенням продукту цієї реакції – 2,4-динітрофенілгідрозонів – у загальній групі на 57,4 %, а вміст цього продукту в апопротеїнах

ЛПНЩ та ЛПДНЩ зростав на 51,7 % щодо контрольних значень (див. табл. 3).

Ці дані вказують на модифікацію структури та функціонального стану білків сироватки крові, таких як альбуміни, глобуліни, фібриноген, плазмін, біологічно активні сполуки білкової природи, ферменти, гормони (зокрема інсулін) та ін. У зв'язку з окисненням їх N-кінцевої частини виникає можливість набуття ними антигенних властивостей та розвитку автоімунних реакцій. Вільнорадикальна модифікація білків гемостазу та фібринолізу є можливою причиною змін гемореологічних властивостей крові хворих на ГХ.

Збільшення кількості кінцевих продуктів вільнорадикального окиснення білків в апопротеїновій фракції ЛПНЩ та ЛПДНЩ прямо вказує на їх окиснювальну модифікацію та зростання атерогенного потенціалу крові хворих. Окрім цього, ознаки інтенсифікації вільнорадикальних окиснювальних процесів супроводжувалися пригніченням активності каталази на 41,0 % та супероксиддисмутази – на 13,6 % і менш значним, але достовірним зниженням активності глутатіонредуктази на 12,0 % (див. табл. 3).

Таким чином у хворих на ГХ спостерігали чіткі ознаки оксидантного стресу, в якому брали участь як ліпідні, так і білкові компоненти на тлі пригнічення ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

У попередніх дослідженнях (110 хворих на ГХ) ми провели індивідуальну оцінку глибини оксидантного стресу в кожного з обстежених пацієнтів з урахуванням ступеня вираження трьох його головних компонентів: 1) інтенсифікації процесів ПОЛ, 2) активації вільнорадикального окиснення білків, 3) змін активності антиоксидантних ферментів. До чітких ознак оксидантного стресу були віднесені зміни всіх трьох зазначених компонентів за умови, що хоча б одна зі складових змінювалася більш ніж у півтора разу, або удвічі. До помірних ознак оксидантного стресу належали коливання головних його компонентів, що були статистично значущими та у більшості наближалися до 50 % від вихідного рівня.

Проведений аналіз показав, що серед дослідженого контингенту хворих практично в одній третині випадків (33 %) спостерігали чіткі ознаки оксидантного стресу. Ще у третини пацієнтів (31 %) реєстрували помірні ознаки актива-

ції вільнорадикальних окиснювальних реакцій. Крім того, у частини хворих (19,6 %) зміни показників оксидантного стресу були лише на рівні тенденції і не перевищували 10–15 %. Найбільш значущим порушенням у таких пацієнтів було зниження активності ферментів антиоксидантного захисту. Слід також зауважити, що майже у 20 % хворих на момент обстеження взагалі не було виявлено значущих ознак оксидантного стресу.

Висновки

1. В умовах гіпертонічної хвороби II стадії мають місце ознаки активації вільнорадикальних окиснювальних реакцій різного ступеня вираження: посилення процесів перекисного окиснення ліпідів та інтенсифікація вільнорадикального окиснення білків на тлі зниження активності ферментів антиоксидантного захисту.

2. Незважаючи на антигіпертензивну терапію, у 64 % пацієнтів з гіпертонічною хворобою II стадії виявляють чіткі та помірні ознаки оксидантного стресу.

3. Встановлено, що вагомим компонентом оксидантного стресу в умовах гіпертонічної хвороби є активація вільнорадикального окиснення білків, зокрема апопротеїнової фракції атерогенних ліпопротеїнів, що відображає їх атерогенну модифікацію та свідчить про підвищення атерогенного потенціалу крові, яке відбувається на тлі несприятливих змін ліпідного обміну – значного зростання вмісту холестерину ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності.

4. Із нетрадиційних чинників ризику серцево-судинних захворювань у хворих на гіпертонічну хворобу II стадії спостерігають несприятливі зміни вуглеводного обміну з розвитком інсулінорезистентності, відносно (в діапазоні фізіологічних коливань) підвищення вмісту C-реактивного білка та зміни пуринового обміну – відносно підвищення рівня сечової кислоти.

5. В умовах гіпертонічної хвороби виявляються суттєві зміни функціонального стану NO-утворювальних систем, які реалізуються підвищенням вмісту цитруліну крові, що на наш погляд, може відображати певну активацію індукцйбельної ізоформи головного ферменту реакції утворення оксиду азоту, однак не свідчить про підвищення біодоступності останнього.

Література

1. 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.
2. Коэлю Р.О. Снижение кардиоваскулярного риска при артериальной гипертензии и поражении органов-мишеней: в фокусе – телмисартан // Здоров'я України. – 2011. – № 8 (261). – С. 10–11.
3. Свищенко Е.П., Коваленко В.Н. Гипертоническая болезнь. Вторичные гипертензии. – К., 2002. – 204 с.
4. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64–65.
- Baldassarre D., De Jong A., Amato M. et al. Carotid intima-media thickness and markers of inflammation, endothelial damage and hemostasis // Ann. Med. – 2008. – Vol. 40. – P. 21–44.
- Chi Y.Y., Wing T.W., Xiao Y.T. et al. Telmisartan inhibits vasoconstriction via PPAR-dependent expression and activation endothelial nitric oxide synthase // Cardiovascular Research. – 2011. – Vol. 90, N 1. – P. 122–129.
7. Corry D.B., Eslami P., Yamamoto K. et al. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress via the vascular renin-angiotensin system // J. Hypertens. – 2008. – Vol. 26. – P. 269–275.
8. Dauphine V., Roche R., Kossovsky M.R. C-reactive protein prote; implication in new onset hypertension in a healthy population initially aged 65 years: PROOF study // J. Hypertens. – 2009. – Vol. 27. – P. 736–743.
9. Feig D.I., Rang D.H., Johnson R.J. Uric acid and cardiovascular risk // New Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 359. – P. 1811–1821.
10. Li J.J. Inflammation in hypertension: primary evidence // Clr. Med. J. – 2006. – Vol. 119. – P. 1215–1221.
11. Mazzali M., Hughes J., Kim Y.G. et al. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism // Hypertens. – 2001. – Vol. 38. – P. 1101–1106.
12. Salles G.R., Ryszman R., Claudia R.L. et al. Relation of left ventricular hypertrophy with systemic inflammation and endothelial damage in resistant hypertension // Hypertens. – 2007. – Vol. 50. – P. 723–728.
13. Sautin Y.Y., Nakagawa T., Zharikov S. et al. Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2007. – Vol. 239. – P. 554–596.
14. Sesso H.D., Lu Wang A., Buring J.E. et al. Comparison of interleukin-6 and C-reactive protein for the risk of developing hypertension in women // Hypertension. – 2007. – Vol. 49. – P. 304–310.
15. Tavi Y., Kaya M.G., Ohtar S.O. et al. Uric acid level and its association with carotid intima-media thickness in patients with hypertension // Atheroscl. – 2008. – Vol. 197. – P. 159–163.

Надійшла 5.06.2012 р.

Expression of oxidative stress and features of some metabolic disturbances under conditions of essential hypertension

L.S. Mkhitarian, N.M. Orlova, O.G. Kupchynska, I.N. Yevstratova, N.M. Vasylynchuk, T.F. Drobotko, O.Yu. Korotkoruchko

The purpose of the research was to study activation of free radical oxidizing processes and some metabolic shifts in patients with essential hypertension (EH) with long-term anamnesis of the disease and target organ damages. In blood sera of patients with EH we defined indicators of free radical oxidations of proteins and lipids, a system of free radical protection, blood lipid spectrum, glycosylated haemoglobin, uric acid, fibrinogen, C-reactive protein. As control group we investigated blood of practically healthy subjects. It was shown that EH of II stage is associated with moderate signs of oxidative stress, activation of free radical oxidations of proteins, in particular apoprotein fractions of atherogenic lipoproteins, development of insulin resistance, increase of C-reactive protein and uric acid and change of functional condition of NO-synthase systems with increased blood citrulline.