

*С.С.Білецький<sup>1</sup>, С.В.Білецький<sup>2</sup>*

## СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА НЕСТАБІЛЬНУ СТЕНОКАРДІЮ І ІНФАРКТ МІОКАРДА

<sup>1</sup>Обласний кардіологічний диспансер, м. Чернівці,

<sup>2</sup>Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** Обстежено 102 хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) та 20 здорових осіб. У 30 пацієнтів діагностована нестабільна стенокардія (НС), у 39 – не Q-інфаркт міокарда (не Q-ІМ), у 33 – Q-ІМ. Визначали вміст у крові продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окиснювальної модифікації білків (ОМБ). Виявлено вірогідне підвищення кількості первинних, проміжних та вторинних продуктів ПОЛ, ОМБ у хворих на не Q-ІМ та Q-ІМ, вторинних продуктів ПОЛ – у хворих на НС. Встановлено вірогідне зниження активності суперок-

сиддисмутази (не Q-ІМ, Q-ІМ), концентрації відновленого глутатіону, зростання вмісту церулоплазміну, активності глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази за відсутності змін активності каталази та глутатіонпероксидази. Отримані дані свідчать про активацію процесів ПОЛ та виснаження антиоксидантного захисту у хворих на ІХС, особливо в пацієнтів із ІМ.

**Ключові слова:** нестабільна стенокардія, інфаркт міокарда, пероксидне окиснення ліпідів, окиснювальна модифікація білків.

**Вступ.** Пероксидне вільнорадикальне окиснення ліпідів, яке в незначній кількості відбувається в організмі, є життєво важливою ланкою в регуляції ліпідного складу біомембран і мембранасоційованих ферментів, бере участь у регуляції

проникності і транспорті речовин через мембрану, у синтезі простагландинів, лейкотриєнів, тромбоксанів, простагліклінів, стероїдних гормонів, метаболізм катехоламінів [15]. За фізіологічних умов рівень пероксидного окиснення ліпідів

(ПОЛ) підтримується завдяки рівновазі про- і антиоксидантів, а вони, у свою чергу, є важливими складовими гомеостазу організму [3]. Активация ПОЛ викликає значні зміни в клітинному обміні і функції біомембран, є важливою ланкою патогенезу багатьох захворювань [4].

На сучасному етапі накопичено інформацію про участь вільнорадикальних процесів у патогенезі ішемічної хвороби серця (ІХС) та інфаркту міокарда (ІМ) [12,13]. При ІХС інтенсифікація ПОЛ призводить до змін складу мембран, порушення їх проникності та дисбалансу електролітів у кардіоміоцитах [2,14]. Виявлена позитивна кореляційна залежність між вмістом продуктів ПОЛ у ліпопротеїнах низької густини і площею ураження коронарних судин [5,10]. Підвищення активності ПОЛ при гострому ІМ веде до збільшення активності тромбоцитів, що призводить до внутрішньосудинного тромбозу [5]. Поряд з цим у хворих на ІХС спостерігається зниження рівня активності антиоксидантного захисту (АОЗ) [6,12]. Однак трапляються повідомлення про відсутність активзації процесів ПОЛ та зниження активності АОЗ у хворих на НС [11] і гострий ІМ [6]. Не вивченим є питання про стан окиснювальної модифікації білків (ОМБ) крові у хворих на НС та ІМ.

**Мета дослідження.** Вивчити стан оксидантної та антиоксидантної систем у крові хворих на НС та ІМ.

**Матеріал і методи.** Обстежено 30 хворих на НС та 72 - на ІМ. У 39 пацієнтів діагностований не Q-ІМ (інфаркт міокарда без зубця Q), у 33 - Q-ІМ. Вік хворих коливався від 36 до 79 років. Як контроль обстежено 20 здорових пацієнтів віком 30-68 років.

Кров для дослідження брали з ліктьової вени вранці, натще. Як стабілізатор крові використовували гепарин. Визначали вміст у крові ізольованих подвійних зв'язків, дієнових кон'югатів, кетодієнів та спряжених триєнів, у плазмі крові та еритроцитах – малонового альдегіду. Стан АОЗ визначали за даними вмісту в крові глутатіону відновленого (ГВ), активності глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіон-S-трансферази (ГТ), супероксиддисмутази (СОД), каталази, церулоплазміну. Визначали інтенсивність ОМБ у сироватці крові: вміст альдегідо- і кетонпохідних динітрофенілгідрозонів основного (АКДНФГ (E<sub>430</sub>) та нейтрального (АКДНФГ (E<sub>370</sub>)) характеру. Результати досліджень опрацьовані статистично. За таблицею Стьюдента-Фішера визначали коефіцієнт вірогідності (p). Статистично вірогідною вважали різницю при p<0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Аналіз отриманих даних свідчить, що у хворих на ІМ показники ПОЛ, ОМБ та АОЗ суттєво різняться від показників практично здорових осіб (таблиця). Виявлено вірогідне підвищення первинних (ізольовані подвійні зв'язки, дієнові кон'югати), проміжних (кетодієни та спряжені триєни) та вторинних (МА плазми та еритроцитів)

продуктів ПОЛ у хворих на Q-ІМ та не Q-ІМ. У пацієнтів на НС встановлено зростання вмісту тільки вторинних продуктів ПОЛ (МА плазми та еритроцитів). Підвищений вміст МА у хворих на НС за відсутності вірогідних змін первинних і проміжних продуктів ПОЛ можливо пов'язано з підвищеним розкладом останніх, хоча механізм цього явища невідомий.

Доведено, що ушкодження міокарда при ішемії зумовлене не тільки гіпоксією і метаболічними порушеннями в міокардіоцитах, але й молекулярно-клітинними змінами, які спричинені надмірною кількістю продуктів ПОЛ [2,14] і запускаються при активації симпато-адреналової системи [8]. Як відомо, ПОЛ ініціюється вільними радикалами, які утворюються переважно при взаємодії кисню з відновлювачами неферментативним або ферментативним шляхами. При цьому в ланцюгах мітохондріального та мікросомального окиснення утворюються активні форми кисню (АФК), які реагують із ненасиченими жирними кислотами мембранних фосфоліпідів [4].

В організмі людини існує два основні шляхи активації (використання) кисню: оксидантний і оксигеназний. Оксидантний шлях пов'язаний з окисненням енергетичних субстратів і утворенням АТФ. Оксигеназний шлях є одним з основних шляхів утворення АФК. Одним із факторів, що сприяє переключенню використанню кисню із оксидантного шляху на оксигеназний, є надлишок катехоламінів і продуктів їх неповного окиснення [9].

При ІХС встановлено важливу роль вільних радикалів у виникненні «кисневого парадоксу»: зменшення концентрації кисню призводить до збільшення вмісту АФК [2,7]. За умов гіпоксії активується гліколіз, підвищується концентрація лактату в кардіоміоцитах, що зумовлює виникнення ацидозу. У той же час глутатіонпероксидаза (антиоксидант) чутлива навіть до незначного підвищення кислотності середовища, знижує свою активність при гіпоксії [2,3]. Важливим джерелом вільних радикалів в ішемізованому міокарді є поліморфноядерні лейкоцити. Вони мігрують через стінку судин в ушкоджену ділянку міокарда й активуються продуктами протеолізу, фрагментами комплементу, лейкотриєнами, а під час «респіраторного вибуху» генерують супероксид-аніонрадикал [3]. При гіпоксії інгібується β-окиснення вищих жирних кислот, які накопичуються у великій кількості в ішемізованій ділянці, реагують із вільними радикалами з утворенням ліпопероксидів і альдегідів. Останні спричиняють сильну руйнівну дію [1,2].

Показники системи АОЗ у хворих на ІМ та НС змінювалися по-різному. Встановлено вірогідне зниження активності СОД у хворих на не Q-ІМ, Q-ІМ. У хворих на НС зменшення активності СОД статистично недостовірне. Відмічена тенденція до підвищення активності каталази крові у всіх обстежених хворих. Концентрація церулоплазміну виявилася вірогідно підвищеною як у

Таблиця

## Показники ПОЛ, антиоксидантного захисту та окиснювальної модифікації білків крові у хворих на нестабільну стенокардію (НС) і інфаркт міокарда (ІМ) (M±m)

Показники	Контроль (n=20)	НС (n=30)	не Q-ІМ (n=39)	Q-ІМ (n=33)
Ізольовані подвійні зв'язки, E220/мл крові	5,24±0,40	5,61±0,19	6,36±0,14*	6,60±0,17*
Дієнові кон'югати, E232/мл крові	2,50±0,18	2,76±0,13	2,91±0,08*	3,12±0,12*
Кетодієни та спряжені триєни, E278/мл крові	1,05±0,08	1,09±0,06	1,57±0,05*	1,54±0,03*
Малоновий альдегід (МА) плазми, мкмоль/л	2,44±0,13	3,29±0,18*	3,28±0,09*	3,79±0,12*
МА еритроцитів, мкмоль/л	9,45±0,49	12,11±0,39*	11,38±0,34*	12,04±0,44*
Супероксиддисмутаза (СОД), од.акт. за 1 хв/г Нб	2,07±0,05	1,95±0,04	1,81±0,03*	1,57±0,03*
Каталаза, мкмоль за 1 хв/г Нб	14,93±0,79	17,35±1,09	16,38±0,78	16,95±0,74
Церулоплазмін, мг%	11,79±0,86	13,93±0,57*	14,51±0,40*	15,11±0,49*
Глутатіон відновлений (ГВ), ммоль/л	0,93±0,04	0,66±0,03*	0,70±0,02*	0,72±0,03*
Глутатіонредуктаза (ГР), мкмоль НАДФН за 1 хв/г Нб	2,24±0,06	2,44±0,04*	2,69±0,05*	2,77±0,05*
Глутатіонпероксидаза (ГП), ммоль ГВ за 1 хв/г Нб	180,3±9,87	192,0±7,05	189,3±7,51	188,2±6,31
Глутатіон-S-трансфераза (ГТ), ммоль ГВ за 1 хв/г Нб	124,2±4,49	139,5±3,63*	140,0±3,31*	147,8±3,99*
АКДНФГ основного характеру, E430 ммоль/г білка	18,46±1,50	19,95±1,29	22,33±0,85*	24,87±1,51*
АКДНФГ нейтрального характеру, E370 ммоль/г білка	2,43±0,12	2,80±0,16	3,22±0,11*	3,3±0,19*

Примітка. \* – p<0,05

хворих на НС, так і ІМ. Як відомо, СОД та каталаза нейтралізують супероксидний аніонрадикал та пероксид водню [3]. Церулоплазмін запобігає окисненню ліпідів мембран, перехоплює вільнорадикальні форми кисню. Зниження активності СОД свідчить про виснаження першої лінії захисту клітин від потенційно небезпечних АФК у хворих на ІМ.

Важливою складовою антиоксидантного захисту є система глутатіону, яка нейтралізує пероксиди ліпідів і підтримує у відновленому стані SH-групи білків, що забезпечує їх функціональну активність. Глутатіонзалежна антиоксидантна система представлена декількома ферментами, а саме: глутатіонпероксидазою (ГП) і глутатіон-S-трансферазою (ГТ), які відновлюють гідропероксиди ліпідів, а також глутатіонредуктазою (ГР), яка підтримує відповідний рівень відновленого глутатіону (ГВ) в клітинах. За нашими даними, у хворих на НС і ІМ спостерігали вірогідне збільшення активності ГР та ГТ. Активність ГП зростала не суттєво. Можливо, це пов'язане з тим, що фермент чутливий навіть до незначного підвищення кислотності середовища і знижує свою активність при гіпоксії, що має місце у хворих на ІХС [3]. Незважаючи на підвищення активності ГР, концентрація ГВ виявилася вірогідно зниженою, що також вказує на виснаженість АОЗ у обстежених хворих.

Дослідження процесів ОМБ показали, що їх суттєва активація має місце тільки у хворих на ІМ. Модифікація білка супроводжується змінами всіх рівнів їх структури, включаючи і первинну.

Встановлено, що ОМБ викликають проміжні продукти одноелектронного відновлення молекулярного кисню (супероксидний аніон-радикал, пероксид водню і гідроксильний радикал). ОМБ найбільш характерна для металоферментів – білків, які містять металозв'язувальну ділянку. Іони змінної валентності (заліза, міді), взаємодіючи з металозв'язувальним місцем ферменту, здатні утворювати гідроксильний радикал, який модифікує (найчастіше дезамінує) амінокислотні залишки, утворюючи карбонільні або інші похідні. Нагромадження окисненого білка може бути раннім критерієм пошкодження тканин АФК [9]. Існує також думка, що ОМБ виникає пізніше, ніж ПОЛ.

#### Висновки

1.Нестабільна стенокардія та гострий інфаркт міокарда проходять із значною активацією процесів вільнорадикального окиснення не тільки ліпідів (НС, не Q-ІМ, Q-ІМ), а й білків крові (не Q-ІМ, Q-ІМ), пригніченням антиоксидантного захисту.

2.У хворих на НС має місце інтенсифікація тільки вторинних продуктів ПОЛ.

3.Зміни інтенсивності окисної модифікації білків крові відображають загальну спрямованість вільнорадикальних процесів у хворих на ІМ.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальше дослідження полягає у вивченні впливу бета-адреноблокатора 3-го покоління карведилолу з антиоксидантними властивостями на стан окисдантно-антиоксидантної системи крові у хворих на гострий інфаркт міокарда.

### Література

1. Афонина Г.Б., Куюн Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ.- К., 2000.- 287 с.
2. Амосова Е.Н., Афонина Г.Б., Русин Е.В., Павлович А.В. Роль свободных радикалов в патогенезе ишемического повреждения миокарда // Укр. кардіол. ж. – 1999. – Вып.2, №2. – С. 121-126.
3. Гиріна О., Глушченко А. Перебіг вільнорадикальних процесів і підбір антиоксидантної терапії при ішемічній хворобі серця // Ліки України. – 2003. - № 4. – С. 13-19.
4. Гончарук Є.Г., Коршун М.М. Вільнорадикальне окиснення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) // Ж. Акад. мед. наук України. – 2004. – Т.10, №1. – С. 131-150.
5. Гулько И.Н. Роль процессов свободнорадикального окисления в развитии эндотелиальной дисфункции и гемореологических нарушений у больных с острым коронарным синдромом // Укр. мед. часопис. – 2002. - № 5 (31). – С. 138-141.
6. Кінах М.В., Фартушок Н.В., Полторак Л.В. Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантний захист у динаміці у хворих на інфаркт міокарда // Гал. лікар. вісник. – 2004. – Т.11, №1. – С. 118-119.
7. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы // Кардиология. – 2000. – Т.40, №7. – С. 48-61.
8. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 253 с.
9. Мещишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окиснювальної модифікації білків // Бук. мед. вісник. – 1999. – Т.3, №1. – С. 196-205.
10. Мхітарян Л.С., Орлова Н.М., Євстратова І.Н. та ін. Характеристика вільнорадикального окиснення білків та ліпідів в умовах ішемічної хвороби серця за різних типів порушення ліпідного обміну // Укр. кардіол. ж. – 2002. - №6. – С. 41-44.
11. Николаева А.А., Николаева Е.И., Попова Л.В. и др. Динамика адаптационных индексов, перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита при нестабильной стенокардии // Кардиология. – 1998. – Т.38, №7. – С. 16-20.
12. Полянська О.С. Активність процесів ліпопероксидації при нестабільній стенокардії та інфаркті міокарда // Бук. мед. вісник. – 2002. – Т.6, №2. – С. 77-79.
13. Сорокіна І. Роль вільнорадикальних процесів у патогенезі ішемічної хвороби серця, артеріальної гіпертензії та їх корекція // Ліки України. – 2003. – №2. – С. 18-19.
14. Rubany G.M. Vascular effects of oxygen derived free radicals // Free Radic. Biol. Med. – 1993. – Vol.4, №10. – P. 107-120.
15. Stubb J. Controlling radical reactions // Monthly Nature. - 1994. – Vol.2, №8. – P. 33.

### THE STATE OF FREE RADICAL OXIDATION OF LIPIDS AND OXIDATIVE MODIFICATION OF BLOOD PROTEINS IN PATIENTS WITH UNSTABLE ANGINA AND MYOCARDIAL INFARCTION

*S.S. Bilets'kyi, S.V. Bilets'kyi*

**Abstract.** 102 patients with ischemic heart disease (IHD) and 20 healthy subjects have been examined. Unstable angina (UA) was diagnosed in 30 patients, non Q-wave-MI - in 39, Q-wave-MI - in 33. The blood content of products of lipid peroxidation (LP) and an oxidative modification of proteins (OMP) were determined. A reliable rise of the number of primary, intermediate and secondary products of LP, OMP in patients with non Q-wave MI and Q-wave-MI, secondary products of LP in patients with UA has been detected. A considerable decrease of the activity of superoxide dismutase (non Q-wave MI, Q-wave MI), the concentration of reduced glutathione, ceruloplasmin, glutathione reductase, glutathione-S-transferase were established in the absence of changes of the content of catalase and glutathione peroxidase. The obtained findings are indicative of the activation of LP processes and exhausted antioxidant defense in patients with IHD, particularly in patients with MI.

**Key words:** unstable angina pectoris, myocardial infarction, lipid peroxidation, oxidative protein modification.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2006. – Vol.10, №2.- P.11-14

Надійшла до редакції 7.02.2006 року