

УДК 616.13–004.6:616.12–005.4]:577.1

ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНОВОГО ЗВЕНА АНТИРАДИКАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ В УСЛОВИЯХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ У БОЛЬНЫХ ИБС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Е. П. Ткач

Буковинская государственная медицинская академия,
58000 Черновцы

Исследовали состояние процессов свободнорадикального окисления липидов (СРОЛ) и антиоксидантный потенциал системы глутатиона у 36 больных ИБС, 32 больных ИБС с атеросклеротическим поражением мезентериальных артерий и 30 практически здоровых лиц в возрасте 45–82 лет. У больных с атеросклеротическим поражением мезентериальных артерий отмечается усиление процессов СРОЛ, не компенсирующееся активацией антиоксидантной защиты с базально низким уровнем восстановленного глутатиона. Дисбаланс в системе “липопероксидация — антиоксиданты” наиболее выражен в пожилом и старческом возрасте, что требует включения в комплекс лечения больных не только антиоксидантов, но и донаторов глутатиона с целью повышения общего антиоксидантного потенциала организма.

Атеросклероз — одна из наиболее частых причин развития сердечно-сосудистых заболеваний; он проявляется синдромами ишемии различных органов и систем. Атеросклероз артерий органов желудочно-кишечного тракта по частоте распространения занимает пятое место

после атеросклероза коронарных артерий, аорты, брохиоцефальных и почечных артерий. Еще недавно развитие хронической мезентериальной ишемии вследствие атеросклероза мезентериальных артерий и чревного ствола считали редким заболеванием [2, 5, 10]. Однако результаты патологоанатомических вскрытий, проведенных А. В. Покровским, показали, что поражение непарных висцеральных ветвей брюшной аорты наблюдалось в 73,5% случаев [9]. В генезе ишемических повреждений кишечника с поражением слизистой оболочки и нарушением проницаемости капилляров важную роль играют свободные радикалы [11], однако данные литературы о состоянии процессов свободнорадикального окисления липидов (СРОЛ) и антиоксидантной защиты у больных ИБС с сопутствующим атеросклеротическим поражением мезентериальных артерий практически отсутствуют.

Целью нашего исследования было изучение состояния СРОЛ, степени нарушения антиоксидантной защиты у больных разного возраста с атеросклерозом мезентериальных артерий для разработки прогностических критериев прогрессирования и расширения атеросклеротического процесса. Атеросклеротическое поражение мезентериальных артерий (шифр по МКБ 10 — К 55.1) с развитием хронической мезентериальной ишемии по классификации М. Б. Коломойской и соавт. [4] получило название хронической ишемической болезни кишечника (ХИБК) и, на наш взгляд, является наиболее удобным термином для использования в практической медицине.

Обследуемые и методы. Обследовано 68 больных в возрасте от 45 до 82 лет, подразделенных на следующие группы: I — больные ИБС без признаков ХИБК (36 чел.), II — больные ИБС с сопутствующей ХИБК (32 чел.). Кроме того, было обследовано 30 практически здоровых лиц. В зависимости от возраста пациенты были распределены таким образом: зрелый возраст (45–60 лет) — 30 чел. (10 больных из I группы, 10 — из II и 10 практически здоровых лиц); пожилой возраст (61–74 года) — 36 чел. (14, 12 и 10, соответственно); старческий возраст (75–82 года) — 32 чел. (12, 10 и 10, соответственно).

Диагноз ХИБК устанавливали, учитывая характер болевого синдрома, его провоцирующие факторы (четкая связь с приемом и количеством пищи), эффективность сосудорасширяющих препаратов, нитропрепаратов, наличие дисфункции кишечника (поносы, запоры, метеоризм), выслушивание систолического шума в эпигастральной области на середине отрезка, соединяющего мечевидный отросток и пупок, и данные цветного доплероультрасонографического исследования с определением нарушения проходимости чревного ствола, верхней или нижней мезентериальных артерий.

Состояние перекисного окисления липидов оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА) без инициации, с инициацией $NADPH_2$

или аскорбатом в крови больных по методике Ю. А. Владимирова, А. И. Арчакова [1]. Концентрацию в крови восстановленного глутатиона (ВГ) определяли титрационным методом О. В. Травиной (1955) в модификации И. Ф. Мещишена, И. В. Петровой [8], активность глутатионзависимых ферментов — глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (ГСТ), глутатионпероксидазы (ГП) — по И. Ф. Мещишену [7]; активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Гл-6-ФДГ) — по А. Kornberg, B. L. Horecker (1955) в модификации Ю. Л. Захарьина [3]. Активность ферментов рассчитывали на 1 г Нб, который определяли гемоглобинцианидным методом.

Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием критерия Стьюдента.

Результаты. У больных I и II групп уровень МД в крови без инициации был достоверно выше, чем у практически здоровых лиц: в зрелом возрасте — на 54 % и 53,7 %, соответственно, в пожилом — на 14,7 % и 19,2 %, в старческом — на 24,5 % и 26,3 %. Но достоверных различий значений этих показателей в обеих группах не зарегистрировано (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация МДА в крови больных ИБС в зависимости от наличия хронической ишемической болезни кишечника (ХИБК) и возраста, мкмоль/л

Возраст обследованных	Группа	Без инициации	С инициацией $NADPH_2$	С инициацией аскорбатом
Зрелый	ИБС (10)	6,1 ± 0,3*	9,1 ± 0,3*	9,2 ± 0,5*
	ИБС+ХИБК (10)	6,1 ± 0,1*	10,5 ± 0,5*#	9,2 ± 0,5*
	Здоровые (10)	3,9 ± 0,3	7,0 ± 0,3	5,7 ± 0,1
Пожилой	ИБС (14)	7,3 ± 0,1*	10,9 ± 0,5	9,5 ± 0,3*
	ИБС+ХИБК (12)	7,6 ± 0,2*	11,8 ± 0,4*	9,8 ± 0,3*
	Здоровые (10)	6,4 ± 0,2	10,5 ± 0,3	8,5 ± 0,2
Старческий	ИБС (12)	6,9 ± 0,3*	12,2 ± 0,3*	8,5 ± 0,2*
	ИБС+ХИБК (10)	7,0 ± 0,6*	10,5 ± 0,6*#	9,3 ± 0,6*
	Здоровые (10)	5,6 ± 0,3	8,9 ± 0,4	7,7 ± 0,3

Примечания (здесь и в табл. 2–3): * — $P < 0,05$ по сравнению с практически здоровыми лицами; # — $P < 0,05$ по сравнению с больными одного возраста.

У больных зрелого возраста I и II групп выявлено повышение уровня МДА с инициацией $NADPH_2$ по сравнению с практически здоровыми лицами — в 1,3 и 1,5 раза, соответственно; у больных II группы уровень МДА в крови был достоверно выше, чем у больных I группы

(см. табл. 1). У больных пожилого возраста II группы отмечены достоверные различия между значениями этого показателя по сравнению с практически здоровыми лицами; у больных старческого возраста I и II группы они были выше, соответственно, на 37,9 % и 18,9 (см. табл. 1).

В зрелом, пожилом и старческом возрасте уровень МДА с инициацией аскорбатом у больных I и II групп возрастал в 1,6 раза по сравнению с практически здоровыми лицами без достоверных различий этого показателя между группами больных.

При исследовании активности глутатионовой системы защиты в крови больных зрелого возраста установлено снижение уровня ВГ на 31,0 % во II группе по сравнению с практически здоровыми лицами и I группой — на 19,5 %, в которой он был достоверно ниже возрастной нормы на 14,3 % (табл. 2). В пожилом и старческом возрасте уровень ВГ у больных II группы был достоверно ниже, чем у больных I группы и практически здоровых лиц.

Таблица 2

Уровень восстановленного глутатиона (ВГ), активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и глутатионредуктазы (ГР) в крови больных ИБС в зависимости от наличия хронической ишемической болезни кишечника (ХИБК) и возраста

Возраст обследованных	Группа	Содержание ВГ, $\mu\text{кмоль/г Hb}$	Активность Г-6-ФДГ, $\mu\text{кмоль NADPH}_2/(\text{мин} \cdot \text{г Hb})$	Активность ГР, $\mu\text{кмоль NADPH}_2/(\text{мин} \cdot \text{г Hb})$
Зрелый	ИБС (10)	$6,1 \pm 0,3^*$	$2,1 \pm 0,2^*$	$2,1 \pm 0,1$
	ИБС+ХИБК (10)	$4,9 \pm 0,2^{*\#}$	$2,3 \pm 0,1^*$	$2,2 \pm 0,1$
	Здоровые (10)	$7,1 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,1$
Пожилой	ИБС (14)	$5,7 \pm 0,1^*$	$2,7 \pm 0,05^*$	$2,0 \pm 0,02^*$
	ИБС+ХИБК (12)	$3,7 \pm 0,2^{*\#}$	$2,3 \pm 0,1^\#$	$2,7 \pm 0,1^{*\#}$
	Здоровые (10)	$6,4 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$
Старческий	ИБС (12)	$5,7 \pm 0,1^*$	$2,6 \pm 0,1^*$	$2,1 \pm 0,1^*$
	ИБС+ХИБК (10)	$3,9 \pm 0,1^{*\#}$	$1,9 \pm 0,1^{*\#}$	$2,4 \pm 0,1$
	Здоровые (10)	$6,5 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,03$	$2,4 \pm 0,02$

В зрелом и старческом возрасте у больных II группы установлено достоверное снижение активности Гл-6-ФДГ по сравнению с практически здоровыми лицами. В пожилом и старческом возрасте зафиксировано значительное снижение активности данного фермента у больных II группы по сравнению с больными I группы (см. табл. 2).

Достоверное повышение активности ГР у больных II группы по сравнению с практически здоровыми лицами и больными I группы зарегистрировано только в пожилом возрасте (см. табл. 2).

У больных зрелого возраста II группы выявлено достоверное повышение активности GST по сравнению с практически здоровыми лицами и больными I группы (табл. 3). В пожилом возрасте активность GST у больных I и II групп была достоверно выше, чем у практически здоровых лиц, причем у больных II группы она была выше, чем в I группе. В старческом возрасте у больных I и II групп наблюдалось достоверное повышение активности GST по сравнению с практически здоровыми лицами, причем у больных II группы она была достоверно выше, чем в I группе (см. табл. 3).

Таблица 3

GST- и ГП-активности в крови больных ИБС в зависимости от наличия хронической ишемической болезни кишечника (ХИБК) и возраста, $\mu\text{моль ВГ}/(\text{мин} \cdot \text{г Hb})$

Возраст обследованных	Группа	Активность GST	Активность ГП
Зрелый	ИБС (10)	144,9 ± 3,2*	164,8 ± 3,4
	ИБС+ХИБК (10)	159,7 ± 5,0*#	212,4 ± 15,9*#
	Здоровые (10)	117,2 ± 2,1	157,6 ± 6,6
Пожилой	ИБС (14)	142,9 ± 2,1*	166,7 ± 3,0*
	ИБС+ХИБК (12)	189,8 ± 12,9*#	212,1 ± 9,7*#
	Здоровые (10)	97,9 ± 4,4	272,6 ± 25,6
Старческий	ИБС (12)	148,3 ± 4,7*	163,6 ± 3,4*
	ИБС+ХИБК (10)	176,7 ± 12,8*#	222,7 ± 21,2*#
	Здоровые (10)	105,1 ± 3,6	291,0 ± 18,7

У больных зрелого возраста II группы установлено достоверное возрастание активности ГП по сравнению не только с практически здоровыми лицами, но и с больными I группы. У больных пожилого возраста зафиксировано снижение активности данного фермента в I группе в 1,6 раза и во II группе в 1,3 раза по сравнению с практически здоровыми лицами (см. табл. 3). У больных старческого возраста I и II групп также наблюдалось снижение активности ГП по сравнению с практически здоровыми лицами, причем у больных II группы она была достоверно выше по сравнению с I группой (см. табл. 3).

Обсуждение. У больных ИБС с сопутствующей ХИБК всех возрастных групп выявлено значительное возрастание концентрации МДА без инициации, с инициацией $NADPH_2$ и аскорбатом по сравнению с практически здоровыми лицами, что свидетельствует о значительном усилении процессов липопероксидации. У больных I и II групп не установлено достоверных различий между уровнем МДА без инициации и с инициацией аскорбатом.

Синдром ишемии-реперфузии у больных ХИБК характерен как для миокарда, так и органов желудочно-кишечного тракта, в частности кишечника. Известно, что кишечная ксантинооксидаза локализуется преимущественно в области верхушек ворсинок, то есть там, где возникают наиболее тяжелые послеишемические поражения кишки. Поэтому в фазе реперфузии реоксигенация вызывает повышение продукции свободных радикалов, источник образования которых — поврежденная ткань [16].

Важная роль в интенсификации перекисного окисления липидов отводится прооксидантным системам. Накопление пуриновых метаболитов, снижение АТФ, ГМФ в энтероцитах при экспериментальной ишемии-реперфузии кишки [17, 19], накопление полиморфноядерных лейкоцитов в ишемизированных капиллярах кишечной стенки [15, 18] приводят к генерации в чрезмерном количестве активных форм кислорода, реагирующих с липидами клеточных мембран и стимулирующих активацию процессов СРОЛ [16]. Интенсификация процессов липопероксидации эпителиальных клеток приводит к деструкции базальной мембраны эпителия слизистой кишки, содержащей гиалуроновую кислоту (последняя разрушается свободными радикалами) [12, 14].

Установлено, что у больных ХИБК существенно (по сравнению со значениями показателей у больных ИБС без признаков ХИБК) снижается уровень ВГ, активность Гл-6-ФДГ, повышается активность GST, происходят разнонаправленные изменения в активности ГР и ГП, что указывает на несбалансированность работы системы глутатиона. Это может быть связано со следующими явлениями: во-первых, с возрастом увеличивается дефицит микроэлемента магния и макроэргических соединений, которые необходимы для синтеза ВГ в γ -глутамильном цикле Майстра; во-вторых, во всех возрастных группах возрастает активность GST по сравнению с больными ИБС и практически здоровыми лицами при повышенной активности ГП в зрелом и пониженной — в пожилом и старческом возрасте. То есть, утилизация ВГ вследствие высокой активности GST в старших возрастных группах приводит к уменьшению пула глутатиона с дальнейшей его невосполнимой потерей. В-третьих, при анализе суммарной активности ферментов, устраняющих промежуточные продукты СРОЛ (GST и ГП), и ферментов, возвращающих глутатион в восстановленное состояние (ГР и Гл-6-ФДГ), у больных ХИБК зрелого возраста отмечен направленный сдвиг преимущественно в сторону первых, что свидетельствует о значительном напряжении антиоксидантной защиты и является относительно эффективным для поддержания содержания ВГ на более высоком уровне, чем в старших возрастах. В пожилом и старческом возрасте суммарная активность данных ферментов при значительно меньшем содержании ВГ находится в относительном равновесии и на более низком уровне.

Снижение уровня ВГ можно объяснить, вероятно, и проявлением энтеральной недостаточности с нарушением всасывания необходимых синтетических составляющих для глутатиона (в частности, цистеина, глицина, глутаминовой кислоты, транспорт которых связан с использованием энергии макроэргов) [19]. К тому же, в условиях усиления процессов СРОЛ происходит окисление тиоловых групп цистеина до соответствующих дисульфидов, что приводит к снижению его синтеза [13].

В условиях развития ИБС с наличием ХИБК уменьшение содержания ВГ обусловлено его увеличенным потреблением при активации процессов липопероксидации. Это подтверждается установленной обратной корреляцией между содержанием ВГ и уровнем МДА с инициацией $NADPH_2$ ($r = -0,71, P = 0,03$), а также МДА с инициацией аскорбатом ($r = -0,70, P = 0,035$).

Очень низкий уровень ВГ у больных ХИБК по сравнению с больными ИБС без сосудистой патологии кишечника при практически одинаковом уровне активности реакций липопероксидации (по уровню МДА) может быть следствием следующих процессов, не характерных для ИБС: в энтероцитах и щеточной кайме слизистой кишечника осуществляется обмен ВГ из трех источников — глутатиона желчи (экспортный глутатион — 50–60 % общего глутатиона, образовавшегося в печени), глутатиона, синтезированного в энтероцитах (его доле участие невелико), и глутатиона плазмы (тоже синтезированного в печени), который попадает в ткани и органы. На щеточной кайме энтероцитов в кишечнике существует транспортная (натрийзависимая) система переноса ВГ из просвета кишки в энтероциты и даже в сосудистое русло [6]. Следовательно, слизистая оболочка кишечника уменьшает потери глутатиона организмом и обеспечивает обратное всасывание ВГ, который уходит с желчью, а также всасывание глутатиона с продуктами питания. При нарушении кровообращения кишечной стенки в условиях атеросклеротического поражения мезентериальных сосудов, когда в первую очередь повреждается слизистая оболочка, резервные возможности ферментов щеточной каймы, вероятно, значительно снижены так же, как и возможности энтероцитов по синтезу собственного глутатиона и поступления глутатиона плазмы в энтероциты при гипоксии.

Активность ГП у больных ИБС существенно ниже, чем у больных с сопутствующей мезентериальной ишемией, хотя содержащиеся ВГ, напротив, достоверно выше. Это подтверждает предположение о существовании критического уровня ВГ, при котором нарушается соответствие активности фермента и содержания ВГ. Только у больных пожилого возраста в ответ на критическое уменьшение содержания ВГ было зафиксировано компенсаторное возрастание активности ГР. Но низкий уровень активности Гл-6-ФДГ у обследованных всех групп делает это

компенсаторное повышение неэффективным. Эти факты, как и значительное повышение активности ГТ у больных ХИБК старших возрастов, могут указывать на подключение и гиперактивацию так называемой безглутатионовой линии защиты как следствие истощения пула и нарушения метаболизма глутатиона.

Таким образом, у больных ХИБК отмечается усиление процессов СРОЛ, не компенсирующееся активацией антиоксидантной защиты с базально низким уровнем ВГ. Наличие хронической мезентериальной ишемии при атеросклеротическом поражении сосудов брыжейки требует включения в комплекс лечения больных (в особенности лиц пожилого и старческого возраста) не только антиоксидантов, но и донаторов глутатиона с целью повышения его общего уровня и антиоксидантного потенциала.

Литература

1. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
2. *Давыдов Ю. А.* Инфаркт кишечника и хроническая мезентериальная ишемия. – М.: Медицина, 1997. – 208 с.
3. *Захарьин Ю. Л.* Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы // Лаб. дело. – 1967. – № 6. – С. 327–330.
4. *Коломойская М. Б., Дикштейн Е. А., Михайличенко В. А., Ровенская Н. М.* Ишемическая болезнь кишок. – К.: Здоров'я, 1986. – 134 с.
5. *Логинов А. С., Звенигородская Л. А., Самсонова Н. Г. и др.* Хроническая абдоминальная ишемия: клинические проявления, диагностические возможности и тактика лечения // Терапевт. архив. – 2000. – № 2. – С. 36–40.
6. *Мазо В. К.* Глутатион как компонент антиоксидантной системы желудочно-кишечного тракта // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 1998. – № 1. – С. 47–52.
7. *Мещицен И. Ф.* Метод определения активности глутатионтрансферазы в крови // Применение ферментов в медицине. – Симферополь, 1987. – С. 135.
8. *Мещицен И. Ф., Петрова И. В.* Окисление и восстановление глутатиона в органах крыс при введении этония // Укр. биохим. журн. – 1983. – 55, № 4. – С. 571–573.
9. *Покровский А. В., Казанчян П. О., Дюжинов А. А.* Диагностика и лечение хронической ишемии органов пищеварения. – Ростов н/Д: Изд-во Ростов. ун-та, 1982. – 220 с.
10. *Попов В. А., Зашихин А. Л., Федотова Е. В., Костылев С. А.* Клинико-морфологические аспекты ишемического колита у лиц пожилого возраста // Клин. геронтол. – 2001. – 7, № 8. – С. 30.
11. *Рабдиль О. С.* Свободные радикалы и заболевания органов пищеварения (Обзор иностранной литературы) // Клин. мед. – 1989. – № 3. – С. 17–21.
12. *Horton J., Wolker P., Kaufman T.* O₂ free radicals mediate ischemia induced changes in intestinal permeability: [Abstr.] 15th Annu. Conf. Shock Soc. (Point Clean, Ala, 1992, June 7–10) // Circ. Shock. – 1992. – 37, № 1. – P. 50.
13. *Mills B. J., Lang C. A.* Differential distribution of free and bound glutathione and cyst(e)ine in human blood // Biochem. Pharmacol. – 1996. – 52, № 3. – P. 401–406.

14. *Nalimi S., Balasubramanian K. A.* Effect of luminal exposure of oxidants on intestinal mucosal lipid peroxidation and absorptive function // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1993. – **28**, № 3. – P. 281–284.
15. *Oliver M. G., Specian R. D., Perry M. A., Granger D. N.* Morphologic assessment of leukocyte-endothelial cell interactions in mesenteric venules subjected to ischemia and reperfusion // *Inflammation.* – 1991. – **15**, № 5. – P. 331–346.
16. *Otamiri T., Tagesson C.* Role of phospholipase A₂ and oxygenated free radicals in mucosal damage after small intestinal i ischemia and reperfusion // *Amer. J. Surg.* – 1989. – **157**, № 6. – P. 562–565.
17. *Schoenberg M. H., Poch B., Younes M. et al.* Involvement of neutrophils in postischaemic damage to the small intestine // *Gut.* – 1991. – **32**, № 8. – P. 905–912.
18. *Sibbons P., Spitz L., van Velzen D.* The role of lymphatics in the pathogenesis of pneumatosis in experimental bowel ischemia // *J. Pediatr. Surg.* – 1992. – **27**, № 3. – P. 339–342.
19. *Siems W., Grune T., Lehmann C. et al.* Superoxide dismutase promotes ATP and GTP restoration of rat small intestine during postischaemic reperfusion // *Pharmazie.* – 1991. – **46**, № 10. – P. 735–737.

Поступила 03.01.2002

PROCESSES OF FREE RADICAL OXIDATION OF LIPIDS AND ACTIVITY OF GLUTATHIONE LINK OF ANTIRADICAL PROTECTION IN CONDITIONS OF ATHEROSCLEROTIC DAMAGE OF MESENTERIAL ARTERIES IN IHD PATIENTS OF VARIOUS AGE

E. P. Tkach

Bukovyna State Medical Academy, 58000 Chernivtsy

The status of processes of free radical lipid oxidation (FRLO) and antioxidant potential of glutathione system was investigated in 36 patients with IHD, 32 patients with IHD and atherosclerotic damage of mesenterial arteries, and 30 apparently healthy subjects aged 45–82. Patients with atherosclerotic damage of mesenterial arteries demonstrated an enhancement of FRLO processes, which cannot be compensated by activation of antioxidant protection with basally low level of restituted glutathione. Imbalance in “lipoperoxidation-antioxidants” system is most marked in the elderly and old age, which requires inclusion of not only antioxidants, but also donators of glutathione to patients’ therapy in order to increase total antioxidant potential of an organism.