

ИНДУЦИРОВАННОЕ ОКИСЛЕНИЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

М. В. Шерешнева^{1*}

М. В. Ильин¹, доктор медицинских наук,

А. В. Сандугей¹, кандидат медицинских наук

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

РЕЗЮМЕ Цель – изучение показателей индуцированного окисления крови (ИОК) у больных стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материал и методы. Обследовано 89 пациентов со стабильной ИБС, из которых 64 человека перенесли ранее инфаркт миокарда. Группа контроля – 24 здоровых добровольца. Моделирование окислительного стресса проводилось в условиях *in vitro*. Скорость ИОК (Vox) определялась с помощью биологического кислородного монитора YSI 5300A Biological Oxygen Monitor (YSI, США).

Результаты и обсуждение. Скорость ИОК в контрольной группе составила $1,9 (1,7; 2,2) \times 10^{-8}$ моль/(лхс), у больных ИБС – $2,07 (1,8; 2,3) \times 10^{-8}$ моль/(лхс) ($p < 0,05$). Выявлены пациенты с низкой (3,4 %) и высокой скоростью ИОК (28,1 %). У большей же части больных ИБС – у 61 из 89 (68,5%) – уровень окисления был средним. Частота высокой, средней и низкой скоростей ИОК была одинаковой в группах лиц с перенесенным инфарктом миокарда и без него.

Заключение. Вероятно, биохимические механизмы, влияющие на скорость ИОК, универсальны для пациентов со стабильной ИБС и не связаны с наличием постинфарктного кардиосклероза.

Ключевые слова: атеросклероз, окислительный стресс, ишемическая болезнь сердца.

* Ответственный за переписку (corresponding author): m.shereshneva@yandex.ru

Ключевую роль в развитии сердечно-сосудистого континуума играет атеросклероз и тесно связанный с ним окислительный стресс, биохимическим субстратом которого служит дисбаланс между массивным высвобождением активных форм кислорода (АФК) при ишемии и активностью антиоксидантной системы. АФК, будучи продуктами нормального клеточного метаболизма, образуются в ходе восстановления кислорода, участвуют в реализации иммунной защиты, играя роль внутриклеточных сигнальных молекул. В супрафизиологических концентрациях АФК окисляют компоненты клеточных мембран, белковые и липидные макромолекулы и ДНК [1].

Воздействуя на ключевые молекулы клеточных сигнальных путей, участвующих в воспалении, АФК способствуют окислительной модификации липидов, повышая их атерогенность [2]. Повреждение кардиомиоцитов приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов и рекрутингу нейтрофилов, которые в свою очередь генерируют дополнительные АФК и протеолитические ферменты, формируя тем самым порочный круг.

В исследованиях по проблеме окислительного стресса используются различные методы оценки окислительного статуса, такие как определение сывороточных концентраций маркеров повышенной выработки АФК (малоновый диальдегид и др.) и антиоксидантов

(витамин С, витамин Е, мочевая кислота, билирубин, ферменты антиоксидантной защиты), косвенная оценка антиоксидантной способности крови с помощью индукторов и ингибиторов АФК. В этом ряду привлекательными выглядят методы изучения окисления всей (нефракционированной) плазмы под влиянием различных индукторов (метод ИОК), отражающие участие в процессах окисления большого числа факторов (ферментов, липопротеиновых фракций, водо- и жирорастворимых антиоксидантов и др.), что, как представляется, позволяет приблизиться к условиям *in vivo*.

Цель исследования – изучить показатели ИОК у больных стабильной ИБС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая больница». Работа включена в план научных исследований ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, прошла этическую экспертизу.

Группу наблюдения составили 89 больных стабильной ИБС, подтвержденной результатами коронароангиографии, в том числе 64 (71,9 %) пациента с инфарктом миокарда в анамнезе. Группу контроля составили 24 относительно здоровых добровольца,

сопоставимые по возрасту и полу с группой наблюдения.

Для изучения показателей ИОК использовался биологический кислородный монитор YSI 5300A Biological Oxygen Monitor (YSI, США). С помощью электрода Кларка определялась скорость поглощения кислорода крови. В условиях *in vitro* был смоделирован окислительный стресс. В плазму крови вносили индуктор ААРН (2,2-азобис (2-амидинопропан) дигидрохлорид) в фосфатном буфере в соотношении 1:5 при pH = 7,4 и температуре 37,0°C. Пробы помещались в биологический кислородный монитор. Происходила диффузия молекулярного кислорода из плазмы в проводящий раствор электролита через полупроницаемую мембрану. На катоде кислород восстанавливался, а величина возникавшего диффузного тока линейно зависела от концентрации кислорода в пробе. Индуктор ААРН, внесенный в исследуемую плазму, распадался на молекулярный азот и два углерод-центрированных радикала, вступающих в реакцию с кислородом плазмы с формированием пер- и алкоксильного радикалов [3].

Антиоксиданты плазмы вступали в реакцию с продуктами распада ААРН, после чего наступало истощение системы антиокислительной защиты крови. По наклону кривой концентрации кислорода определялась скорость ИОК (Vox).

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Проверка нормальности распределения

количественных признаков осуществлялась с использованием критериев Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллифорса и Шапиро – Уилка. Ввиду логнормального распределения признаков приводимые данные представлены в виде медианы (Me) и процентилей (25,0 и 75,0 %). Для изучения взаимосвязи двух признаков использовался корреляционный анализ по Спирмену. Критическое значение уровня статистической значимости принималось равным 5,0 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При установлении референсного диапазона для количественных признаков использовалось процентильное определение нормы, основанное на измерениях, предпринятых на здоровой популяции. Референсный интервал для показателя скорости окисления крови установлен в пределах $1,5-2,3 \times 10^{-8}$ моль/(лхс).

Vox в контрольной группе составила 1,9 (1,7; 2,2) $\times 10^{-8}$ моль/(лхс), у больных ИБС – 2,07 (1,8; 2,3) $\times 10^{-8}$ моль/(лхс) (p = 0,049).

У больных ИБС показатели скорости окисления крови сильно различались. Выявлены пациенты с низкой – 3 (3,4 %) человека и высокой скоростью окисления – 25 (28,1 %). У большей же части лиц с ИБС – 61 из 89 (68,5 %) – уровень Vox был средним.

Распределение больных по группам в зависимости от скорости ИОК приведено в *таблице*.

Таблица. Распределение больных ишемической болезнью сердца в зависимости от скорости индуцированного окисления крови

Группы больных	Число больных, абс./%			
	всего	скорость ИОК (Vox)		
		низкая	средняя	высокая
ИБС, всего	89	3 (3,4 %)	61 (68,5 %)	25 (28,1 %)
ИБС (постинфарктный кардиосклероз)	64	3 (4,7 %)	45 (70,3 %)	16 (25,0 %)
ИБС (без инфаркта миокарда в анамнезе)	25	–	16 (64,0 %)	9 (36,0 %)

В группе пациентов с ИБС без инфаркта миокарда в анамнезе чаще наблюдалась средняя скорость ИОК, низкой Vox не выявлено. У больных с постинфарктным склерозом преобладала средняя скорость ИОК, однако низкие показатели отмечены у 4,7 %. В обеих группах высокая скорость ИОК наблюдалась реже, чем средняя, но чаще, чем низкая. По данным сравнительного анализа с использованием метода χ^2 с поправкой Йейтса, статистически значимых различий по частоте разных скоростей ИОК в группах лиц с инфарктом миокарда в анамнезе и без него не выявлено.

У больных со средней и высокой скоростью ИОК был проведен корреляционный анализ. Пациенты с низким показателем Vox в исследование не включались ввиду малочисленности группы. У лиц со средней скоростью ИОК выявлена отрицательная связь между уровнем липопротеидов очень низкой плотности и скоростью ИОК ($r = -0,34$); с высокой скоростью ИОК – статистически значимая корреляция Vox с концентрацией мочевины ($r = 0,55$) и уровнем глюкозы в крови ($r = 0,53$).

На основании полученных данных можно полагать, что биохимические механизмы, влияющие на ско-

рость окисления плазмы, универсальны для пациентов со стабильной ИБС и, вероятно, не ассоциированы с наличием постинфарктного кардиосклероза.

В целом полученные результаты не противоречат данным литературы. Общеизвестно, что для больных ИБС характерен избыточный синтез АФК, повышение уровня окислительного стресса и снижение антиоксидантной защиты. При этом у пациентов с острыми формами ИБС отмечается ассоциированное с уровнем оксидативного стресса более выраженное повреждение ядерных структур [6]. У лиц со стабильной ИБС повышение маркеров окислительного стресса (малонового диальдегида, глутатионпероксидазы и восстановленного глутатиона), а также снижение уровня антиоксидантов прогрессируют по мере увеличения числа вовлеченных коронарных бассейнов [2, 11, 12, 14]. Также при ИБС обнаружена положительная корреляция между маркерами окислительного стресса и индексом коронарного кальция [13]. В то же время у больных с атеросклеротическим поражением коронарных артерий отмечены более высокие показатели общей антиоксидантной активности, нежели у здоровых лиц [9]. Накапливающиеся данные требуют всестороннего осмысления и в целом, вероятно, свидетельствуют о нелинейном характере изменений параметров оксидативного стресса при прогрессировании ИБС, отражающем формирование в условиях хронического повреждения адаптационных механизмов и истощение пула антиоксидантов во время острого коронарного события [2, 8]. Не исключено, что неоднозначные результаты связаны с различиями лабораторных методик оценки оксидативного стресса и антиоксидантной активности крови.

Интересны данные о роли отдельных компонентов окислительного стресса в процессах ишемического прекодиционирования. АФК, генерируемые в ткани миокарда семейством НАДФН-оксидаз, в физиологических условиях выступают в качестве вторичных мессенджеров, регулирующих рост и дифференцировку кардиомиоцитов в ходе эмбриогенеза [4]. Процессы ишемии-реперфузии стимулируют активность НАДФН-оксидазы, и АФК в этих условиях способствуют стресс-индуцированному прекодиционированию. При низком уровне окислительного стресса также активируется продукция белков теплового шока, ингибирующих клеточный апоптоз, что играет существенную роль в развитии ишемического прекодиционирования.

Другой источник АФК – синтазы оксида азота (NO) – являются модуляторами биодоступности NO в клет-

ках и тканях. В условиях контролируемого окислительного стресса активные формы NO модифицируют белковые остатки, тем самым защищая их от действия окислителей [5]. В условиях ишемии высвобождение АФК позволяет кардиомиоциту адаптироваться к гипоксии (через продукцию гипоксией индуцируемого фактора HIF1 α), обеспечивая переход метаболизма миокарда в режим низкого давления кислорода, способствуя развитию коллатерального кровотока и стимулируя ангиогенез [7].

Таким образом, роль субстанций и продуктов окислительного стресса неоднозначна и до сих пор во многом не изучена. Это не препятствует попыткам использовать показатели оксидативного стресса и антиоксидантной защиты для диагностических и прогностических целей. Так, в исследовании Z. Sendar et al. (2007) было показано, что пациенты с более высоким уровнем оксидативного стресса (по уровню маркеров – малонового диальдегида и сиаловой кислоты) характеризуются более тяжелым течением острого коронарного синдрома и более высокими рисками развития последующих сердечно-сосудистых событий [15]. Полученные нами данные о возможности выделения среди пациентов со стабильной ИБС профилей по скорости ИОК как показателя выраженности окислительного стресса, вероятно, позволит сформировать группы риска массивного поражения коронарных артерий и неблагоприятных сердечно-сосудистых событий до проведения визуализирующих исследований.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов со стабильной ИБС наблюдается более высокая скорость ИОК, чем у здоровых лиц, что может свидетельствовать о дезадаптации компенсаторных механизмов в условиях хронической ишемии.
2. Обнаруженный феномен гетерогенности показателей скорости ИОК позволяет выделить у больных стабильной ИБС три клинико-патогенетических профиля, соответствующих низкому, среднему и высокому уровням окислительного стресса.
3. Не выявлено различий показателей ИОК у пациентов со стабильной ИБС в зависимости от ранее перенесенного острого инфаркта миокарда, что, вероятно, свидетельствует об универсальных биохимических механизмах, влияющих на скорость окисления крови при ИБС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kibel A, Lukinac AM, Dambic V, Juric I, Selthofer-Relatic K. Oxidative Stress in Ischemic Heart Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020;2020:1-30
2. Bastani A, Rajabi S, Daliran A, Saadat H, Karimi-Busheri F. Oxidant and antioxidant status in coronary artery disease. *Biomedical Reports*. 2018;9(4):327-332
3. Werber J, Wang YJ, Milligan M, Li X, Ji JA. Analysis of 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride degradation and hydrolysis in aqueous solutions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011;100(8):3307-3315.
4. D'Orta R, Schipani R, Leonardini A, Natalicchio A, Perrini S, Cignarelli A, Laviola L, Giorgino F. The Role of Oxidative Stress in Cardiac Disease: From Physiological Response to Injury Factor. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020. 2020:1-29
5. Kurian GA, Rajagopal R, Vedantham S, Rajesh M. The Role of Oxidative Stress in Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury and Remodeling: Revisited. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016:1-14
6. Bhat MA, Gandhi G. Elevated oxidative DNA damage in patients with coronary artery disease and its association with oxidative stress biomarkers. *Acta cardiologica*. 2019;74(2):153-160.
7. Chandel NS. Mitochondria as signaling organelles. *BMC biology*. 2014;12(34):1-7
8. Lubrano V, Pingitore A, Traghella I, Storti S, Parri S, Berti S, Ndreu R, Andrenelli A, Palmieri C, Iervasi G, Mastorci F, Vassalle C. Emerging Biomarkers of Oxidative Stress in Acute and Stable Coronary Artery Disease: Levels and Determinants. *Antioxidants (Basel)*. 2019;8(5),115:1-12.
9. Sotoudeh Anvari M, Mortazavian Babaki M, Boroumand MA, Eslami B, Jalali A, Goodarzynejad H. Relationship between calculated total antioxidant status and atherosclerotic coronary artery disease. *Anatolian journal of cardiology*. 2016;16(9):689-695
10. Yılmaz M, Altın C, Özyıldız A, Müderrisoğlu H. Are oxidative stress markers helpful for diagnosing the disease and determining its complexity or extent in patients with stable coronary artery disease? *Türk Kardiyoloji Derneği arşivi : Türk Kardiyoloji Derneğinin yayın organıdır*. 2017;49(5):599-605.
11. El-Mahdy RI, Mostafa MM, El-Deen HS. Serum Zinc Measurement, Total Antioxidant Capacity, and Lipid Peroxide Among Acute Coronary Syndrome Patients With and Without ST Elevation. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2019;188:208-224.
12. Chen D, Liang M, Jin C, Sun Y, Xu D, Lin Y. Expression of inflammatory factors and oxidative stress markers in serum of patients with coronary heart disease and correlation with coronary artery calcium score. *Experimental and therapeutic medicine*. 2020;20(3):2127-2133.
13. Serdar Z, Yeşilbursa D, Dirican M, Sarandöl E, Serdar A. Sialic acid and oxidizability of lipid and proteins and antioxidant status in patients with coronary artery disease. *Cell Biochemistry and Function*. 2007;25(6):655-664.
14. Serdar Z, Serdar A, Altın A, Eryılmaz U, Albayrak S. The relation between oxidant and antioxidant parameters and severity of acute coronary syndromes. *Acta Cardiologica*. 2007;62(4):373-380.

INDUCED BLOOD OXIDATION IN PATIENTS WITH MYOCARDIAL ISCHEMIA

M. V. Shereshneva, M. V. Ilyin, A. V. Sandugay

ABSTRACT *Objective* – to study the indices of induced blood oxidation (IBO) in patients with stable myocardial ischemia (MI).

Material and methods. 89 patients with stable myocardial ischemia were examined among them 64 patients who had myocardial infarction in the past. Control group – 24 healthy volunteers. Modeling of the oxidative stress was performed *in vitro*. IBO rate (Vox) was determined by YSI5300ABiologicalOxygenMonitor (YSI, USA).

Results and discussion. IBO rate in control group was amounting to 1,9 (1,7; 2,2) $\times 10^{-8}$ mole/(lxs), in patients with MI – 2,07 (1,8; 2,3) $\times 10^{-8}$ mole/(lxs) ($p < 0,05$). Some patients with low (3,4%) and high (28,1%) rate of IBO were revealed. In the most part of patients with MI – 61 from 89 (68,5%) the oxidative level was moderate. Frequency of high, moderate and low rates of IBO was the same in the groups of patients with myocardial infarction or without it.

Conclusion. Biochemical mechanisms which influence IBO rate are probably universal for patients with stable MI and are not connected with post-infarction atherosclerosis.

Key words: atherosclerosis, oxidative stress, myocardial ischemia.