

УДК 601–127–005.4.612.014.4

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА, ИМЕЮЩИХ КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИИ НАПРЯЖЕНИЯ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ¹

© 2003 И.Ф. Васильева²

Установлена взаимосвязь между степенью тяжести ИБС и характером изменений антиоксидантных систем эритроцитов, интенсивностью процессов перекисного окисления липидов и изменением электрической стабильности мембран.

Введение

Производственная среда обладает повышенной концентрацией негативных факторов, приводящих к заболеваниям значительного числа людей. По данным Госкомитета РФ по статистике, наиболее широкое распространение получили болезни системы кровообращения (БСК), основным фактором которых является атеросклероз. Основная доля принадлежит ишемической болезни сердца (ИБС). Исследованиями последних лет доказано, что в патогенезе ИБС ведущую роль играет интенсификация процессов свободно-радикального окисления (СРО) [5, 6].

Считается, что основной противоперекисный потенциал сосредоточен в эритроцитах крови. Важную информацию может дать изучение взаимосвязи между активностью перекисного окисления липидов (ПОЛ) и уровнем антиоксидантной защиты, которая представлена системами ферментативной и неферментативной природы. Детоксикация перекисных радикалов обеспечивается комплексом ферментных (глутатионпероксидаза — ГП, глутатионредуктаза — ГР, супероксиддисмутаза — СОД, каталаза — КТ) и неферментных (глутатион, витамин Е) антиоксидантных систем. Установлено также, что ПОЛ является основным регулятором барьерной функции мембран эритроцитов, критерием которых служит потенциал электродиф-

¹ Представлена доктором биологических наук профессором В.Г. Подковкиным

² Васильева Ирина Федоровна, кафедра безопасности жизнедеятельности и охраны окружающей среды, Самарская государственная архитектурно-строительная академия, 443001, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 194.

фузионного пробоя (ЭДП), считающийся одним из важнейших биофизических параметров клетки [1].

Определенную сложность представляет выбор наиболее информативных показателей, которые могут служить критериями оценки состояния антиоксидантной системы у больных с различной степенью тяжести ИБС и эффективности проводимой терапии.

Цель настоящей работы — оценить степень нарушения окислительного гомеостаза у больных ИБС, возникшей в результате производственной деятельности, имеющих клинические проявления стабильной стенокардии напряжения (ССН) различной степени тяжести, и выбрать наиболее информативные показатели.

Материалы и методы

Обследовано 92 больных ССН в возрасте от 37 до 56 лет, направленных МСЭК, которые были подразделены на 1 и 2 группы, в состав которых входили 44 больных с ССН II функционального класса (ФК) — 1 группа и 48 человек с ССН III ФК — 2 группа. В качестве контрольной группы обследовано 56 практически здоровых людей (ПЗЛ) той же возрастной градации. Исследования проводились на базе клиники пропедевтики внутренних болезней СамГМУ.

Определение активности глутатионпероксидазы проводили по методу [7], глутатионредуктазы — по методу E. Beutler в модификации В.Б. Колиной с соавт. [3], супероксиддисмутазы [2], каталазы [4] проводили в гемолизатах эритроцитов венозной крови. Для осаждения эритроцитов осуществляли центрифугирование при 1500 об/мин в течение 10 минут. Полученный осадок трижды отмывали 0,154 М раствором хлористого натрия, содержащего 0,058 мМ ЭДТА путем тщательного перемешивания и центрифугирования. Полученная суспензия эритроцитов использовалась для выделения мембран эритроцитов и приготовления гемолизатов. Вычисление параметров Нв (определение проводилось циангемоглобиновым методом) и белка определяли по методу Лоури [11].

Состояние неферментативной антиоксидантной системы оценивали по концентрации сульфгидрильных групп SH групп (восстановленного глутатиона), определяли с применением реактива Элмана [12] содержание α -токоферола (витамина Е) согласно [10].

Для оценки состояния мембранных липидов определяли уровень электролиффузионного пробоя мембран эритроцитов [8].

Интенсивность процессов ПОЛ регистрировали по концентрации малонового диальдегида (МДА) согласно методу [9] в мембранах эритроцитов, выделяемых по методу [13].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью параметрических методов статистики с вычислением показателей нормального закона распределения.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования представлены в таблице. Наиболее важным элементом системы восстановленного глутатиона (ВГ) является ГП, которому принадлежит основная роль в утилизации липидных гидроперекисей и перекиси водорода. Среднее значение активности фермента в группе ПЗЛ составило $204,96 \pm 9,23$ мкМ/гНв/л/мин. У пациентов 1 и 2 групп она прогрессивно снижалась на 13,59% ($P < 0,05$) и 31,73% ($P < 0,01$) соответственно. Данная направленность имела место и у остальных компонентов системы ВГ. У больных II и III ФК активность ГР снижалась соответственно на 6,6% ($P > 0,05$) и 24,75% ($P < 0,05$). Содержание ВГ уменьшилось на 17,87% ($P < 0,05$) и 32,64% ($P < 0,01$). Таким образом, отмечается наибольшее снижение показателей ферментативной и неферментативной антиоксидантной защиты у больных более тяжелой степенью тяжести стенокардии.

Важнейшим компонентом АО — защиты эритроцитов является система ферментов СОД — каталаза. Фермент СОД на 90% локализован в цитозоле клетки и играет важнейшую роль в защите ее от токсического действия анион-радикала, образуя при этом перекись водорода, которая разлагается каталазой на безрадикальные продукты. Средние показатели активности СОД и каталазы у лиц контрольной группы составили $3,45 \pm 0,25$ МЕ/г/л и $12,38 \pm 1,02$ МЕ/гНв/л. У пациентов 1 группы достоверных изменений отмечено не было, а у лиц 2 группы активность ферментов достоверно снизилась соответственно на 25,51% ($P < 0,05$) и на 26,66% ($P < 0,05$).

Таким образом, изменения АО — системы СОД — каталаза характеризовались отчетливым синергизмом ее компонентов и имели достоверное снижение у больных 2 группы.

Витамин Е, так же как и ВГ, входит в систему неферментативной защиты антиоксидантной системы.

Он является уникальным антиоксидантом, т.к. растворяется в липидах, поддерживая их антиокислительную активность (АОА). Его значение в группе ПЗЛ составило $56,89 \pm 2,25$ у.е. В группах больных с различной степенью тяжести ССН наблюдалось прогрессирующее снижение концентрации витамина Е соответственно на 17,14% ($P < 0,01$) и 24,64% ($P < 0,0001$). Таким образом, состояние систем антиоксидантной защиты у больных ССН II ФК можно рассматривать как компенсированное и у лиц ССН III ФК — декомпенсированное.

Подтверждением этой оценки является снижение электрической стабильности мембран (показатель ЭДП) на 10,57% ($P < 0,01$) в 1 группе и на 19,52% ($P < 0,0001$) во 2 группе. Наиболее значимым является соответствующее изменение СРО (по содержанию МДА). У пациентов 1 группы содержание МДА увеличилось на 35,15% ($P < 0,05$). Но наибольшая интенсивность ПОЛ на 125,78% ($P < 0,001$) отмечалась у больных с тяжелым течением ССН.

Полученные данные свидетельствуют, что у больных 2 группы в эрит-

Таблица

Показатели антиоксидантных систем и интенсивности ПОЛ эритроцитов у больных стабильной стенокардией напряжения

Обозначения	Контрольная группа	Стабильная стенокардия напряжения	
		II ФК	III ФК
Кол-во чел. в группе	56	44	48
ГП мкМ/гНв/л/мин р	204,96 ± 9,23	177,12 ± 7,35 <0,05	139,98 ± 6,02 <0,001
ГР мкМ/гНв/л/мин р	20,01 ± 1,52	18,89 ± 1,35 >0,05	15,06 ± 0,99 <0,01
ВГ мкМ/гНв/л р	19,53 ± 1,22	16,04 ± 0,95 <0,05	13,19 ± 0,81 <0,01
СОД МЕ/г/л р	3,45 ± 0,25	3,37 ± 0,23 >0,05	2,56 ± 0,21 <0,01
Каталаза МЕ/гНв/л р	12,98 ± 1,02	12,41 ± 0,85 >0,05	9,52 ± 0,56 <0,01
Витамин Е у.е. р	56,89 ± 2,25	47,14 ± 2,05 <0,01	40,03 ± 2,17 <0,001
ЭДП Мв р	61,80 ± 1,52	55,27 ± 0,86 <0,01	49,70 ± 1,05 <0,001
МДА мкМ/г/л р	1,28 ± 0,11	1,74 ± 0,16 <0,05	2,89 ± 0,32 <0,01

Примечание: Данные были получены И.Ф. Васильевой как дополнительные дифференциально-диагностические тесты в ходе обследования больных ССН по направлению МСЭК в 2000–2002 гг. на базе кафедры пропедевтики внутренних болезней СамГМУ под руководством зав. кафедрой д-ра мед. наук проф. В.Н. Фатенкова и при участии зав. отделением клиники д-ра мед. наук И.Л. Давыдкина.

роцитах наблюдаются признаки метаболического синдрома оксидативного стресса, характеризующегося выраженной интенсификацией (более чем в 2 раза) свободнорадикального метаболизма и достоверным падением активности антиоксидантных систем.

Выводы

1. У больных стенокардией II и III ФК выявляется снижение активности ферментативных и неферментативных антиоксидантных систем эритроцитов, сопровождающееся интенсификацией процессов перекисного окисления липидов.

2. Характер изменения антиоксидантных свойств эритроцитов связан со степенью тяжести стенокардии и наиболее выражен у больных с III ФК.

3. Исследуемые показатели могут существенно дополнить комплекс обследования больных ИБС и позволят оптимизировать тактику применения антиоксидантов при лечении.

Литература

- [1] Владимиров Ю.А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного биослоя биологических мембран// Биофизика. 1987. Т. 32. №5. С. 830–844.
- [2] Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментативный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека// Лаб. дело. 1983. №10. С. 30–33.
- [3] Колина В.Б., Филипович И.В., Романцев Е.Ф. Исследование условий распада смешанных дисульфидов между протекторами–аминотиолами и клеточными белками как факторов, определяющих устойчивость дисульфидных связей// Вопр. мед. химии. 1976. №4. 529 с.
- [4] Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Т. и др. Метод определения активности каталазы// Лаб. дело. 1988. №1. С. 16–21.
- [5] Кратнов А.Е., Хрусталева О.А. Современные представления о развитии внутрисосудистых феноменов при обострении ишемической болезни сердца// Российский кардиологический журнал. 1999. №4. С. 61–68.
- [6] Ланкин В.З., Тихадзе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно–сосудистой системы// Кардиология. 2000. №7. С. 48–61.
- [7] Монк В.М. Простой и специфический метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах// Лаб. дело. 1986. №12. 724 с.
- [8] Путвинский А.В., Попов С.А., Пучкова Т.В. Электрический пробой мембран эритроцитов за счет диффузной разницы потенциалов// Биофизика. 1983. Т. 28. №3. С. 505–506.

- [9] Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты// Современные методы в биохимии. М., 1977. С. 66–68.
- [10] Harry A. Cynamon, J. Nevin Isenberg and Co H. Nguen. Erythrocyte malon dialdehyde release in vitro: a functionfk measure of vitamin E status// Clinica Chimica Acta. 1985. Vol. 151. P. 169–176.
- [11] Lowry O., Rosenbrough W., Farr A. et al. Pzotein measurement with the Fol.in plenol reagent// J. Biol. Chem. 1951. №1. P. 265–279.
- [12] Shivastava S.K., Beutler E. Ckliolisid gluglutation levels in erythrocytes of glucose-6-phosphate degidrogenade defecient subjects// Lancet. 1968. Vol. 7558. P. 23–24.
- [13] Taverna R.D., Langdon R.G. Glucose transport in white erythrocyte ghots and membrane — derived vesicles// Biochim. et Biophysica Acta. 1973. Vol. 298. P. 422–428.

**EVALUATION OF CHANGES OF ERYTHROCYTES
ANTIOXIDANT SYSTEMS OF PATIENTS WITH
ISCHEMIA HARD DISEASE AND DIFFERENT
FUNCTION CLASSES OF STENOCARDIA**

© 2003 I.F. Vassilyeva³

The relation of ischemia disease severity level to character of changes in erythrocytes antioxidant systems, intensity of lipid oxidation by free radicals (peroxides) and changing in electric stability of erythrocyte membranes is studied.

Поступила в редакцию 19/IX/2003.

³ Vassilyeva Irina Fedorovna Dept. of Vital Activity's Safety and Environment Protection, Samara State Academy of Architecture and Building, Samara, 443001, Russia.