

Глутатион эритроцитов, показатели окислительного стресса и воспаления при острых коронарных синдромах

И.В. Буко¹, Л.З. Полонецкий¹, А.Г. Мойсеёнок²

¹ Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь

² Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь

Буко И.В. — научный сотрудник лаборатории хронической сердечной недостаточности Республиканского научно-практического центра «Кардиология» (РНПЦ «Кардиология»); Полонецкий Л.З. — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией неотложной и интервенционной кардиологии РНПЦ «Кардиология»; Мойсеёнок А.Г. — доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси, главный научный сотрудник Института биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси.

Контактная информация: Республиканский научно-практический центр «Кардиология», ул. Р. Люксембург, д. 110, Минск, Беларусь, 220036. Тел.: + 7–10 (375) 222–01–69. E-mail: buko_iv@rambler.ru (Буко Инна Вацлавовна).

Резюме

Цель исследования — изучение системы глутатиона эритроцитов, его восстановительного потенциала в сопоставлении с показателями окислительного стресса и системного воспаления у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС). **Материалы и методы.** Исходя из концепции прооксидантных и антиоксидантных редокс-сигнализирующих функций эритрона, у 47 пациентов, перенесших инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (ИМпST), и у 71 пациента с нестабильной стенокардией (НС) исследованы и сопоставлены показатели окислительного стресса, воспаления, метаболизма и редокс-статуса глутатиона эритроцитов. **Результаты.** Установлена большая степень нарушения прооксидантно-антиоксидантного равновесия и системной воспалительной реакции у пациентов с НС при снижении активности супероксиддисмутазы в обеих группах пациентов. Получены противоположные изменения концентраций общего глутатиона и глутатиона в восстановленной форме в эритроцитах: увеличение при ИМпST и уменьшение при НС на фоне низкой активности глутатионредуктазы в первом случае. Выявлены значительный сдвиг на 15,4 мВ редокс-потенциала глутатиона эритроцитов в окисленную сторону у пациентов с НС и более высокая активность глутатионпероксидазы. **Выводы.** У пациентов с НС на фоне выраженных нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия и проявлений системной воспалительной реакции снижается концентрация общего глутатиона и глутатиона в восстановленной форме, соотношения восстановленной и окисленной форм глутатиона (в отличие от пациентов ИМпST), что обуславливает сдвиг редокс-потенциала глутатиона эритроцитов в окисленную сторону и увеличение активности глутатионпероксидазы — важнейшего прогностического фактора при ОКС. Изменения системы глутатиона эритроцитов при ОКС отражают процессы адаптации эритрона в поддержании системного редокс-сигналирования и предупреждения последующих гемореологических осложнений за счет деглутатионирования белков.

Ключевые слова: глутатион, редокс-потенциал, окислительный стресс, воспаление, острый коронарный синдромы.

Erythrocyte glutathione and parameters of oxidative stress and inflammation in acute coronary syndrome

I.V. Buko¹, L.Z. Polonetsky¹, A.G. Moiseenok²

¹ Republican Scientific-Practical Center “Cardiology”, Minsk, Belarus

² Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

Corresponding author: Republican Scientific-Practical Center “Cardiology”, 110 R. Luxemburg st., Minsk, Belorussia, 220036. Phone: + 7–10 (375) 222–01–69. E-mail: buko_iv@rambler.ru (Inna V. Buko, Researcher at the Laboratory of Chronic Heart Failure at Republican Scientific-Practical Center “Cardiology”).

Abstract

Objective. To study erythrocyte glutathione system, its reduction potential compared to oxidative stress indicators and systemic inflammation in patients with acute coronary syndrome (ACS). **Design and methods.** Based on the concept of prooxidant and antioxidant redox signaling erythron functions, parameters of oxidative stress, inflammation, metabolism and redox erythrocyte glutathione status in 47 patients with myocardial infarction with ST segment elevation (STEMI) on the electrocardiogram and 71 patients with unstable angina (UA) were studied and compared. **Results.** A severe disruption of prooxidant-antioxidant balance and systemic inflammatory response in patients with UA with a decrease in superoxide dismutase activity in both groups of patients was established. The opposite changes in the concentrations of total glutathione and reduced glutathione in erythrocytes were obtained: an increase in STEMI and reduction in UA together with the low glutathione reductase activity in the first case. A significant shift of erythrocytes redox potential in the oxidized side on 15,4 mV in patients with UA and higher glutathione peroxidase activity were revealed. **Conclusions.** Against the background of pronounced impairments in a prooxidant-antioxidant balance and manifestations of a systemic inflammatory response, patients with UA (in contrast to patients with STEMI) showed decreased concentrations of total and reduced glutathione and the ratio of reduced to oxidized glutathione. This causes a shift in the erythrocyte glutathione redox potential to the oxidized side and an increase in the activity of glutathione peroxidase, the key prognostic factor in ACS. The changes in the erythrocyte glutathione system in ACS reflect the processes of erythron adaptation in maintaining systemic redox signaling, due to protein deglutathionylation, and preventing further hemorheologic complications.

Key words: glutathione, redox potential, oxidative stress, inflammation, acute coronary syndromes.

Статья поступила в редакцию 19.05.14 и принята к печати 16.06.14.

Введение

Острые коронарные синдромы (ОКС), включающие инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST (ИМпST), инфаркт миокарда без подъема сегмента ST (ИМбST) и нестабильную стенокардию (НС), во многом имеют сходные клиническую симптоматику и патогенетические механизмы развития. Возникновение событий ОКС на фоне окислительного стресса (ОС), системного воспаления, сопутствующих нарушений углеводного обмена позволяет определить биомаркеры для их разграничения, оценки прооксидантно-антиоксидантного баланса, тяжести заболевания, значимости и выбора адекватной терапии. В последнее время осуществлен серьезный пересмотр роли эритрона (erythronum, от греч. erythros — красный, совокупность всех зрелых и незрелых клеток эритроидного ряда, как циркулирующих, так и находящихся в костном мозге) в концепции клеточного и внеклеточного редокс-статуса и, в частности, при ИМпST и НС, который позволил оценить высокую прогностическую значимость активации глутатионпероксидазы (ГП) в системе кровообращения и редокс-баланса плазмы (редокс-пары цистеин/цистин, глутатион восстановленный / глутатион окисленный, 2GSH/GSSG) и форменных элементов крови в условиях ОС. Установлено, что решающая роль в системной антиоксидантной защите организма принадлежит эритрому, поскольку неферментативная антиоксидантная способность цельной крови локализована преимущественно в эритроцитах, которые обладают

потенциалом и перекрестными механизмами защиты от продуктов свободнорадикального окисления эндогенного и экзогенного происхождения. Мобильность, плотность эритрона ($\approx 5 \times 10^9$ клеток/мл), время жизни клеток (120 ± 4 дня) в сочетании с высокой внутриклеточной концентрацией гемоглобина (≈ 20 ммоль/л в форме гема) и его пластические свойства, предопределяемые свойствами эритроцитарного цитоскелета и вязкостью мембраны, превращают эритроцит в идеальную функциональную структуру, а эритрон — в систему сохранения прооксидантно-антиоксидантного баланса при возникновении свободнорадикальной патологии [1, 2].

Несмотря на очевидную и многофакторную роль окислительного и нитрозильного стресса в развитии ишемической болезни сердца (ИБС) и, в частности, ОКС, роль ключевых компонентов антиоксидантной и антинитрозильной защиты нуждается в дальнейшем исследовании. Это прежде всего относится к системе глутатиона, обеспечивающего не только высокий антиоксидантный клеточный потенциал, но и осуществляющего системное редокс-сигналирование в кровообращении. Этому способствует высокое содержание глутатиона в эритроцитах (2–4 ммоль/л), тесная взаимосвязь системы глутатиона с такими физиологическими параметрами эритроцитов, как кислородтранспортная функция, адгезивные свойства, деформационная способность эритроцитарной мембраны, транспорт и высвобождение окиси

азота (NO) из S-нитрозогемоглобина. Содержание глутатиона в восстановленной форме во многом определяет баланс эндогенного вазодилатора, регулируя вазоконстрикторное и вазодилаторное свойства NO , оказывая непосредственное воздействие на скорость высвобождения депонированного монооксида азота [3, 4]. Системе глутатиона присуще универсальное свойство регулирования функции белковых структур посредством прямой и обратимой реакции S-глутатионилирования, которое признано в качестве механизма редокс-опосредованной и NO -опосредованной передачи метаболического сигнала, а также обеспечения адаптивного клеточного ответа в условиях окислительного повреждения [5]. Потеря эритроцитарного глутатиона может быть обусловлена целым рядом факторов, в том числе пониженной доступностью субстратов его биосинтеза, повышенным использованием в процессах тиол-дисульфидных взаимодействий или потреблением в реакциях ОС, экспортом окисленных форм глутатиона из эритроцита или сочетанием указанных факторов. Дисрегуляция метаболизма глутатиона особенно характерна для процесса атерогенеза, в котором сочетаются воздействие окислительного и нитрозильного стресса, системного воспаления и возможная необратимая модификация сульфгидрильной группы в результате реакций гликозилирования и S-ацилирования [5, 6]. С учетом высокой редокс-активности пары $2\text{GSH}/\text{GSSG}$ и безусловном ее участии в клеточном и внеклеточном редокс-сигналировании в сердечно-сосудистой системе [7], а также в связи с особенностями патогенеза нозологических форм ИБС нетрудно предвидеть значительные различия оценки системы глутатиона и, прежде всего, его редокс-статуса в зависимости от характера течения заболевания и временного интервала после острого

коронарного события. Разноречивость полученных результатов известна и неоднократно обсуждалась ранее [8–10].

В настоящей работе поставлена цель изучения системы глутатиона эритроцитов, его восстановительного потенциала в сопоставлении с показателями ОС и системного воспаления у пациентов с ОКС.

Материалы и методы

В исследование было включено 118 пациентов с ОКС (средний возраст $55,2 \pm 0,9$ года), разделенных на две группы: лица с инфарктом миокарда (ИМ) с подъемом сегмента ST на электрокардиограмме (группа 1) и лица с различными вариантами течения НС (группа 2). У 29 пациентов с НС выявлен постинфарктный кардиосклероз. 89 практически здоровых лиц (средний возраст $42,2 \pm 0,8$ года, в том числе 48 мужчин и 41 женщина) составили группу 3. Основные характеристики исследованных групп пациентов с ОКС представлены в таблице 1. Пациенты групп 1 и 2 значимо не различались по половому составу, наличию сахарного диабета 2-го типа (СД2) и артериальной гипертензии в анамнезе. Однако отмечались значимые различия в группах по возрасту.

Гликированный гемоглобин (HbA_{1c}) и С-реактивный белок (СРБ) определяли с применением коммерческих наборов реактивов фирмы «Beckman Coulter» (США). Содержание глюкозы крови исследовали глюкозооксидазным методом, фибриногена (ФГ) измеряли с помощью турбидиметрического метода. Показатели окислительного стресса, воспаления, метаболизма и редокс-статуса глутатиона эритроцитов определяли по методам, описанным нами ранее [11, 12].

Таблица 1

КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА В ГРУППАХ НАБЛЮДЕНИЯ

Показатели	Группа 1 (ИМпST)	Группа 2 (НС)	Значимость различий в группах (p)	Наблюдаемое значение критерия
Возраст, годы	51,5 [48,9; 53,4]	60,0 [56,4; 61,2]	< 0,001	$U = 754,5^*$ ($z = 4,33$)
Количество муж. / жен., n	40/7 (85 % / 15 %)	59/12 (83 % / 17 %)	0,771	$\chi^2 = 0,08^{**}$
СД2, n	6 (13 %)	18 (25 %)	0,425	$\chi^2 = 3,86$
АГ, n	35 (74 %)	57 (80 %)	0,288	$\chi^2 = 1,13$

Примечание: ИМпST — инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST; НС — нестабильная стенокардия; СД2 — сахарный диабет 2-го типа; АГ — артериальная гипертензия; * — значимость различий между группами 1 и 2 по U-критерию Манна-Уитни; ** — значимость различий между группами 1 и 2 по критерию Пирсона χ^2 .

Таблица 2

**ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО СОСТАВА ПЛАЗМЫ КРОВИ И ГЛИКЕМИИ
У ПАЦИЕНТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП**

Показатели	Группа 1 (ИМпСТ)	Группа 2 (НС)	Группа 3 (практически здоровые лица)	p
	1	2	3	
ОХС, ммоль/л	5,30 [4,80; 6,40]	5,60 [4,75; 6,20]	5,37 [4,20; 6,74]	$p_{1-2} = 0,751$ $p_{1-3} = 0,912$ $p_{2-3} = 0,716$
ТГ, ммоль/л	1,41 [1,00; 2,08]	1,79 [1,23; 2,60]	1,05 [0,63; 1,60]	$p_{1-2} = 0,022$ $p_{1-3} = 0,012$ $p_{2-3} < 0,000$
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,18 [0,97; 1,52]	1,16 [1,00; 1,44]	1,40 [1,00; 1,70]	$p_{1-2} = 0,780$ $p_{1-3} = 0,169$ $p_{2-3} = 0,032$
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,58 [2,98; 4,42]	3,42 [2,62; 4,09]	3,55 [2,48; 4,83]	$p_{1-2} = 0,242$ $p_{1-3} = 0,788$ $p_{2-3} = 0,485$
Глюкоза крови, ммоль/л	6,89 [6,14; 8,20]	5,86 [5,48; 6,71]	4,78 [4,43; 5,07]	$p_{1-2} = 0,007$ $p_{1-3} < 0,000$ $p_{2-3} < 0,000$
HbA _{1c} , %	5,95 [5,20; 7,20]	6,80 [5,80; 8,10]	5,40 [5,20; 5,70]	$p_{1-2} = 0,302$ $p_{1-3} = 0,423$ $p_{2-3} = 0,019$

Примечание: ИМпСТ — инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST; НС — нестабильная стенокардия; ОХС — общий холестерин; ТГ — триглицериды; ХС ЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности; ХС ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности; HbA_{1c} — гликированный гемоглобин.

Непрерывные переменные представлены в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (LQ и UQ). Для оценки статистической значимости различий количественных признаков в группах был использован U-критерий Манна-Уитни, уровень значимости p не более чем 0,05. Для расчета коэффициента корреляции применялся ранговый метод Спирмена.

Результаты

С целью объективной оценки системы глутатиона и его редокс-статуса в эритроцитах были сопоставлены и проанализированы показатели дислипидемии, гликирования гемоглобина и возможного нарушения углеводного обмена в трех группах обследованных лиц. Как следует из таблицы 2, уровень общего холестерина не отличался в двух группах пациентов с ОКС по сравнению с практически здоровыми лицами, тогда как по содержанию триглицеридов выявлено их увеличение, причем различие 1-й и 2-й групп было статистически значимым. В содержании холестерина

липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) и холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) отличий от контроля и между группами обследованных пациентов не обнаружено. Как пациенты с острым инфарктом миокарда (ОИМ), так и лица с НС характеризовались гипергликемией, причем ее уровень был существенно выше у пациентов с ИМпСТ. В то же время показатель гликированного гемоглобина, значимо увеличенный у пациентов с НС относительно контрольной группы, не отличался при сравнении двух групп пациентов с ОКС. Не установлено наличие корреляционных взаимосвязей вышеуказанных показателей.

В таблице 3 приведены данные, характеризующие прооксидантно-антиоксидантный баланс и указывающие на большую выраженность нарушений у пациентов с НС, в плазме крови которых содержание соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) было существенно выше, чем в группе контроля и у пациентов с ОИМ. Отношение показателя суммарной антиоксидантной активности (АОА) к содержанию ТБКРС (АОА/ТБКРС) при

Таблица 3

ПОКАЗАТЕЛИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА И ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ
У ПАЦИЕНТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП

Показатели	Группа 1 (ИМпСТ)	Группа 2 (НС)	Группа 3 (практически здоровые лица)	p
	1	2	3	
ТБКРС, нмоль/мл	3,97 [3,52; 4,56]	4,79 [4,26; 5,51]	3,63 [3,22; 4,05]	$p_{1-2} < 0,000$ $p_{1-3} = 0,003$ $p_{2-3} < 0,000$
ТБКРС ₀ , нмоль/мг	0,049 [0,028; 0,255]	0,081 [0,046; 0,172]	0,037 [0,019; 0,127]	$p_{1-2} = 0,150$ $p_{1-3} = 0,051$ $p_{2-3} < 0,000$
ТБКРС ₁ , нмоль/мг	0,120 [0,071; 0,300]	0,152 [0,107; 0,262]	0,130 [0,090; 0,204]	$p_{1-2} = 0,164$ $p_{1-3} = 0,872$ $p_{2-3} = 0,039$
АОА/ТБКРС, усл. ед.	19,65 [15,23; 23,30]	13,75 [10,42; 18,33]	19,32 [15,07; 26,13]	$p_{1-2} < 0,000$ $p_{1-3} = 0,751$ $p_{2-3} < 0,000$
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	11,65 [10,00; 13,70]	7,00 [5,50; 8,10]	5,70 [5,10; 6,85]	$p_{1-2} < 0,000$ $p_{1-3} < 0,000$ $p_{2-3} = 0,005$
ФГ, г/л	3,50 [2,90; 4,50]	3,00 [2,70; 3,80]	1,65 [1,33; 2,22]	$p_{1-2} = 0,058$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-3} = 0,005$
СРБ, мг/л	3,18 [1,62; 9,30]	5,00 [1,50; 8,50]	3,00 [2,00; 4,00]	$p_{1-2} = 0,649$ $p_{1-3} = 0,473$ $p_{2-3} = 0,040$
ИЛ-6, пг/мл	3,98 [1,58; 8,07]	4,79 [2,60; 17,17]	1,86 [1,48; 2,46]	$p_{1-2} = 0,428$ $p_{1-3} = 0,009$ $p_{2-3} = 0,025$
ИЛ-8, пг/мл	2,46 [0,00; 5,82]	9,27 [8,67; 17,63]	6,13 [4,84; 9,64]	$p_{1-2} = 0,011$ $p_{1-3} < 0,000$ $p_{2-3} = 0,153$

Примечание: ИМпСТ — инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST; НС — нестабильная стенокардия; ТБКРС, ТБКРС₀, ТБКРС₁ — содержание соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в плазме крови, в исходном образце липопротеинов низкой плотности и липопротеинов очень низкой плотности и в образце после 1-го часа окисления соответственно; АОА — суммарная антиоксидантная активность; ФГ — фибриноген; СРБ — С-реактивный белок; ИЛ-6 и ИЛ-8 — интерлейкины 6 и 8 соответственно.

НС было значимо ниже, чем у пациентов с ОИМ, и не отличалось от контроля. Резистентность к окислению атерогенных липопротеинов снижалась в обеих группах пациентов, но в несколько большей степени это было выражено у пациентов с НС. При отсутствии различий в активности каталазы (КАТ) плазмы крови выявлена тенденция к снижению активности супероксиддисмутазы (СОД) цельной крови без существенных различий между двумя клиническими группами (данные не приведены).

Как следует из таблицы 3, все обследованные пациенты характеризовались выраженной воспа-

лительной реакцией, причем по лейкоцитозу и содержанию ФГ в плазме крови увеличение их было большим при ОИМ; в то же время по СРБ значимое увеличение выявлено при НС. Аналогичные данные получены при исследовании концентрации ИЛ-6, интерлейкина, обладающего провоспалительным и иммуномодулирующим действием, с тем отличием, что практически аналогичное увеличение было установлено также у пациентов с ОИМ. Однако концентрация ИЛ-8, интерлейкина, характеризующегося полифункциональностью, в том числе способностью к активации нейтрофилов, проявила

противоположные и значимые изменения в двух клинических группах: снижение при ОИМ в 2,5 раза и увеличение в 1,5 раза при НС.

Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о наличии обратной зависимости достаточно высокой степени между уровнем глюкозы и содержанием ТБКРС в плазме крови и в исходном препарате липопротеинов низкой и очень низкой плотности (ТБКРС₀) ($r_s = -0,322$, $r_s = 0,035$ и $r_s = -0,313$, $r_s = 0,031$ соответственно), что может быть связано с различием процесса гликирования (судя по уровню гликированного гемоглобина, таблица 1) у обследованных пациентов. Это подтверждает высокая степень взаимосвязей между уровнем HbA_{1c} и ТБКРС в препарате атерогенных липопротеинов после 1 часа окисления (ТБКРС₁) ($r_s = 0,900$; $r_s = 0,037$) в группе больных ОИМ. Для этой группы пациентов, несмотря на снижение концентрации ИЛ-8, была характерна слабая положительная связь с ИЛ-6 ($r_s = 0,449$, $r_s = 0,002$), ТБКРС ($r_s = 0,322$, $r_s = 0,036$) и отрицательная с КАТ ($r_s = -0,293$, $r_s = 0,071$), АОА/ТБКРС ($r_s = -0,443$, $r_s = 0,006$), ТБКРС₀ ($r_s = -0,385$, $r_s = 0,020$) и ТБКРС₁ ($r_s = -0,490$, $r_s = 0,001$). В меньшей степени это относится к показателю ИЛ-6, для которого установлена взаимосвязь с АОА/ТБКРС ($r_s = -0,385$, $r_s = 0,019$) и ТБКРС ($r_s = 0,322$, $r_s = 0,036$). Взаимосвязь лейкоцитоза проявилась как с положительным вектором с глюкозой крови ($r_s = 0,317$, $r_s = 0,041$), и отрицательным — с ТБКРС₀ ($r_s = -0,368$, $r_s = 0,042$). Что касается ФГ, обнаруживается небольшая степень корреляции с ТБКРС₀ ($r_s = 0,475$, $r_s = 0,009$).

В то же время у пациентов с НС не обнаружены взаимосвязи вышерассмотренных показателей. Исключение составляет выявленная корреляция

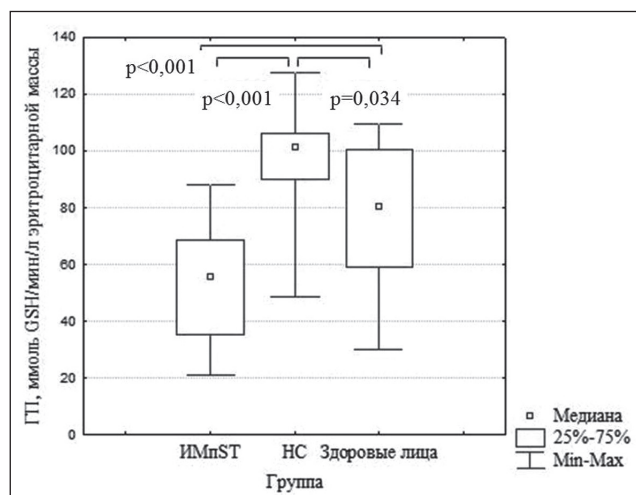
относительно высокой степени между концентрацией СРБ и активностью КАТ ($r_s = 0,829$, $r_s = 0,042$), а также СРБ и ФГ ($r_s = 0,540$, $r_s = 0,001$).

Полученные на данном этапе результаты позволяют сделать заключение о существенных отличиях показателей системного воспаления, прооксидантно-антиоксидантного равновесия у больных ОКС с более выраженными нарушениями системного воспаления и проявлениями ОС при НС и относительно меньшей выраженности их при ИМпСТ. У последней группы пациентов выявлены взаимосвязи между показателями воспаления и ТБКРС и полное отсутствие таковых у пациентов с НС, что может свидетельствовать о сдерживающих факторах (возможно, эритроцитарных) генерализации ОС при НС.

С учетом достаточно схожих дислипидемических проявлений у пациентов обеих групп и выраженности процессов гликирования открывается возможность объективной оценки ключевых показателей редокс-статуса, в том числе ферментативного звена антиоксидантной защиты (глутатионпероксидазы) и редокс-буфера эритроцитов при двух различных по клиническому течению ОКС.

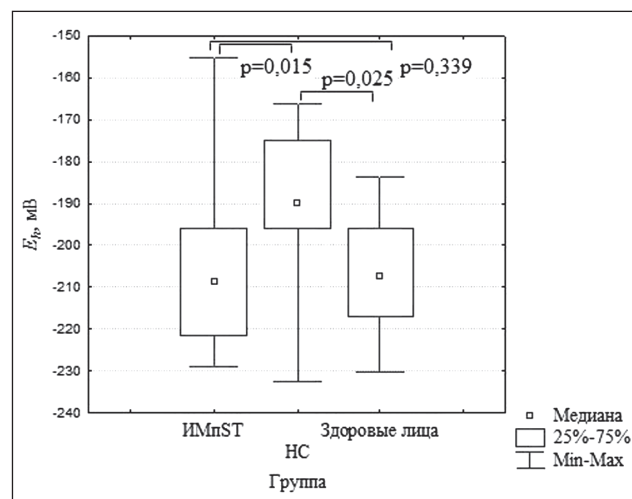
С учетом результатов последних исследований о роли системного редокс-статуса и ГП в прогнозе исходов ОКС [3, 13] особое значение принадлежит исследованию активности глутатионпероксидазы и ключевого фермента редокс-цикла глутатиона в эритроцитах — глутатионредуктазе (ГР). Как следует из рисунка 1а, активность ГП изменялась в противоположных направлениях у пациентов с ИМпСТ и НС, причем в первом случае была существенно сниженной, а во втором — значительно увеличенной. Как следует из рисунка 1б, изменения

Рисунок 1а. Активность глутатионпероксидазы эритроцитов пациентов групп 1 и 2 и практически здоровых лиц



Примечание: ГП — глутатионпероксидаза.

Рисунок 1б. Активность глутатионредуктазы эритроцитов пациентов групп 1 и 2 и практически здоровых лиц



Примечание: редокс-потенциал — глутатионредуктаза.

Таблица 4

ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА ЭРИТРОЦИТОВ, ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ КРОВИ УПАЦИЕНТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП

Показатели	Группа 1 (ИМпСТ)	Группа 2 (НС)	Группа 3 (практически здоровые лица)	p
	1	2	3	
GSht, ммоль/л	3,18 [2,21; 5,80]	2,06 [1,26; 2,47]	3,23 [2,17; 4,54]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,732$ $p_{2-3} < 0,001$
GSH, ммоль/л	2,76 [1,68; 5,69]	1,37 [0,61; 1,85]	2,64 [1,53; 4,06]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,488$ $p_{2-3} < 0,001$
GSSG, ммоль/л	0,38 [0,30; 0,44]	0,36 [0,29; 0,40]	0,31 [0,27; 0,36]	$p_{1-2} = 0,365$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,085$
2GSH/GSSG, усл. ед.	7,08 [4,41; 15,26]	3,55 [2,03; 5,21]	9,82 [5,07; 14,91]	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,578$ $p_{2-3} < 0,001$

Примечание: ИМпСТ — инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST; НС — нестабильная стенокардия; GSht — общий глутатион; GSH — глутатион в восстановленной форме; GSSG — глутатион в окисленной форме; 2GSH/GSSG — соотношение восстановленной и окисленной форм глутатиона.

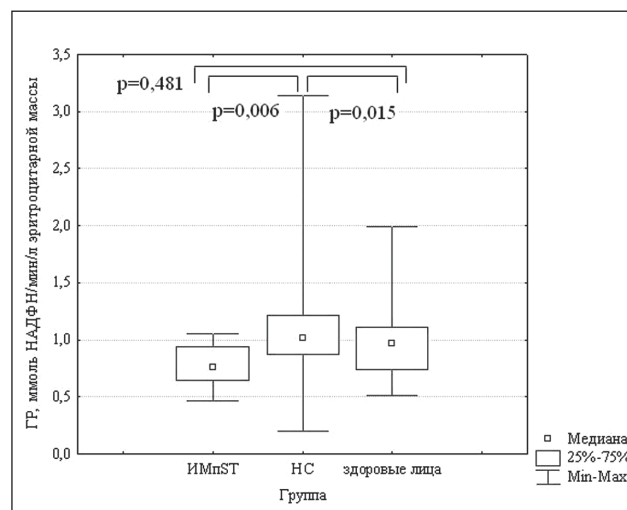
активности ГР не были симметричными относительно ГП, причем сниженная активность фермента наблюдалась у пациентов с ИМпСТ.

Показатели системы глутатиона также изменялись различным образом в обеих группах: нарастание концентрации общего глутатиона (GSht) и GSH в эритроцитах при ИМпСТ и падение в 1,4–1,5 раза относительно контроля при НС. В связи с ростом GSSG эритроцитов соотношение 2GSH/GSSG снижалось только при НС (табл. 4).

Это позволило определить расчетным путем на основании уравнения Нернста редокс-потенциал (E_h) глутатиона эритроцитов как значимо увеличенный (то есть смещение в окисленную сторону) только у пациентов с НС ($r_s = 0,015$ по сравнению с пациентами с ИМпСТ и $r_s = 0,025$ относительно нормы) (рис. 2).

Расчет взаимосвязей показателей практически здоровых лиц установил наличие прямой корреляции между E_h ($r_s = 0,442$, $r_s = 0,045$) и обратной корреляции 2GSH/GSSG ($r_s = -0,463$, $r_s = 0,030$) с показателем ИЛ-8, что наблюдается у пациентов с ИМпСТ, но не у пациентов с НС. В то же время для пациентов с ОИМ характерна обратная взаимосвязь между E_h и АОА ($r_s = -0,621$, $r_s < 0,000$) и прямая — между уровнем GSH и АОА ($r_s = 0,586$, $r_s = 0,001$). Следует подчеркнуть, что у пациентов с НС отмечаются взаимосвязи достаточно высокой степени между содержанием ТБКРС в плазме

Рисунок 2. Редокс-потенциал глутатиона эритроцитов пациентов групп 1 и 2 и практически здоровых лиц



Примечание: E_h — редокс-потенциал.

крови и активностью ГП ($r_s = 0,651$, $r_s < 0,001$), что свидетельствует о реагировании глутатионпероксидазного компонента в этой группе пациентов на характерные для этой группы лиц проявления ОС. Кроме того, у пациентов с НС проявляется обратная взаимосвязь между показателями ОС и активностью ГР, указывающая на возможность падения восстановительного потенциала эритроцитов при повышении ТБКРС в плазме крови ($r_s = -0,492$, $r_s = 0,017$). Эти данные соответствуют низкому уровню GSH

в эритроцитах пациентов с НС и предполагают возможность ослабления редокс-сигналирования эритроцитов [1] в условиях ОС и, вероятно, более благоприятного прогноза (судя по активности ГП) у пациентов с НС [3, 13].

Обсуждение

Оценка результатов антиоксидантного статуса и редокс-потенциала эритроцитов у пациентов с ОКС обнаруживает наличие существенных различий в проявлениях ОС и системной воспалительной реакции при ИМпСТ и НС. Данные последних лет, полученные в отечественных лабораториях, свидетельствуют о нарастании ОС у пациентов с ОИМ на фоне различных по направленности изменений активности СОД крови, содержания миелопероксидазы в нейтрофилах, нарастания воспалительного процесса (увеличение концентраций ИЛ-6 и ИЛ-8). Эти данные подтверждают развитие ОС и системной воспалительной реакции при ОИМ, однако не исключают, а, в ряде исследований, подтверждают аналогичные изменения при НС. Параллельные исследования на обеих группах пациентов с ОКС с оценкой показателей СРБ, ФГ и ИЛ-6 указывают на большую выраженность системного воспаления при НС [14]. С другой стороны, существуют противоположные данные, свидетельствующие о большей выраженности воспалительного процесса при ИМпСТ [15]. Кроме того, у пациентов с ИМпСТ выявлены высокий уровень АОА [16] и падение активности ГП в эритроцитах [17], что в условиях существующей концепции системного увеличения глутатионпероксидазной активности крови при возникновении острого коронарного события [18] заслуживает особого внимания. Не отрицая роль маркеров воспаления в прогнозе течения ИМпСТ [18], есть основания полагать, что выраженность этих показателей при НС также довольно значительная [14, 19]. Это соответствует данным накопления продуктов перекисного окисления липидов в составе атерогенных липопротеинов [15], которые оказались более выраженными у пациентов с НС, нежели при ОИМ. Кроме того, у пациентов с НС выявлено значительное увеличение концентрации фактора некроза опухоли α и ИЛ-1 β , что подтверждает системное проявление неспецифической воспалительной реакции [20]. С учетом важной роли миелопероксидазы в развитии ОС и системной воспалительной реакции представляют интерес полученные И.В. Горудко при нашем участии данные об активации агонист-индуцированной НАДФН-оксидазной активности нейтрофилов у пациентов с НС (отсутствии такого эффекта у пациентов с ИМпСТ) [21].

В условиях достаточно сложных и неконтролируемых изменений системной воспалительной реакции в предынфарктном периоде и особенностей динамики ОС по выраженности и продолжительности у пациентов с ОКС оценка антиоксидантного и редокс-потенциала эритроцитов (с длительностью пребывания в кровообращении > 100 дней) приобретает особое значение. Судя по данным исследований последних лет с учетом высокого антиоксидантного потенциала, деформируемости эритроцитарной мембраны и поддержания в кровообращении достаточного числа функционально активных клеток, формирующих эритрон [2], обеспечиваются как минимум 3 основные функции эритроцита: а) поглощение продуктов свободнорадикального окисления; б) участие в формировании окислительной микросреды [22, 23]; в) редокс-сигналирование в системе кровообращения, прежде всего в клетках стенок сосудов [1]. Первая из указанных функций эритроцитов исследована достаточно обстоятельно. Выявлен анионный канал мембраны эритроцита, который обеспечивает транспорт через эритроцитарную мембрану супероксидного радикала и пероксинитрит-аниона [2, 24]. Глубокое окисление внутриклеточного GSH способствует окислительному повреждению белков и липидов и подвергает риску структурную целостность и жизнеспособность эритроцитов. Нарушение в редокс-статусе глутатиона эритроцитов не только приводит к росту их окислительного потенциала, повышенному гемолизу, но и снижает биодоступность окиси азота в зонах окислительного повреждения [5, 25].

Особое внимание должно быть уделено свойству эритроцитов поглощать пероксинитрит, продукт конденсации супероксидного аниона (O_2^-) и NO , что сопровождается образованием метгемоглобина [2, 4]. Пероксинитрит является сильным окислителем и реагирует с несколькими клеточными мишенями, в том числе тиолами (сульф-гидрильными компонентами) и гемопротеинами (гемоглобин, миоглобин, пероксидазы, цитохром С) [5]. Одна из наиболее важных и прямых реакций пероксинитрита — взаимодействие с CO_2 (продукты CO_3 и NO_2), в результате чего образуется радикальная пара, агрессивная в местах воспалительной реакции. Важными следствиями образования критических концентраций пероксинитрита и его высокой диффузионной способности по отношению к эритроцитам является образование метгемоглобина (до 20–30 % присутствующего в среде пероксинитрита), что является сигналом эритроциту для адаптивной активации гликолиза. Кроме того, при определенных условиях эффект пероксинитрита может быть реализован на основном редокс-буфере эритроцита,

включающем систему глутатиона и пероксиоксида 2 [2]. Другая важная реакция пероксинитрита — взаимодействие с селеноцистеинсодержащими белками (глутатионпероксидаза, ГПО), причем ГПО1 способна обезвреживать пероксинитрит [5]. Следует подчеркнуть, что в плазме крови больных ОИМ имеет место экстремальное увеличение супероксид-генерирующей активности, возрастание уровня пероксинитрита и продуктов метаболизма окиси азота — нитрозогемоглобина, нитрозоглутатиона и нитротирозина [26].

Результаты наших исследований показывают, что если у пациентов с ОИМ восстановительный потенциал глутатиона напряжен, что соответствует тяжести заболевания, то у пациентов с более благоприятным исходом ОКС (вариант НС) этот потенциал ослаблен и способствует сдвигу редокс-потенциала в более окисленную сторону. Кроме того, возникают более благоприятные условия для S-глутатионилирования функционально-критических белковых структур и осуществления процессов обратимой протекции от их окислительного повреждения. Этот механизм проявляется у пациентов с ИмпСТ, однако он, несомненно, не реализуется за счет глутатионредуктазного механизма (рис. 16). Вероятным механизмом увеличения глутатиона в эритроцитах у пациентов с ОИМ может быть процесс деглутатионилирования гемоглобина в условиях гипоксии [27]. Можно полагать, что редокс-система эритрона может быть мишенью фармакотерапевтического и метаболического воздействия при ОКС, равно как и ИБС, и ее сочетании с СД2 [12], для чего, помимо вышеизложенных предпосылок, существуют объективные возможности [28, 29].

Конфликт интересов. Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов.

Литература

1. Minetti M., Agati L., Malorni W. The microenvironment can shift erythrocytes from a friendly to a harmful behavior: pathogenetic implications for vascular diseases // *Cardiovasc. Res.* — 2007. — Vol. 75, № 1. — P. 21–28.
2. Minetti M., Pietraforte D., Straface E., Metere A., Matarrese P., Malorni W. Red blood cells as a model to differentiate between direct and indirect oxidation pathways of peroxynitrite // *Methods Enzymol.* — 2008. — Vol. 440. — P. 253–272.
3. Go Y.-M., Jones D.P. Cysteine/cystine redox signaling in cardiovascular disease // *Free Radic. Biol. Med.* — 2011. — Vol. 50, № 4. — P. 495–509.
4. Tsantes A.E., Bonovas S.T., Travlou A., Sitaras N.M. Redox imbalance, macrocytosis, and RBC homeostasis // *Antioxid. Redox Signal.* — 2006. — Vol. 8, № 7–8. — P. 1205–1216.
5. Klatt P., Lamas S. Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress // *Eur. J. Biochem.* — 2000. — Vol. 267, № 16. — P. 4928–4944.

6. Pastore A., Piemonte F. S-Glutathionylation signaling in cell biology: progress and prospects // *Eur. J. Pharmaceut. Sci.* — 2012. — Vol. 46, № 5. — P. 279–292.
7. De Chiara B., Mafucci A., Campolo J. et al. Low plasma glutathione levels after reperfused acute myocardial infarction are associated with late cardiac events // *Cor. Art Dis.* — 2007. — Vol. 18, № 2. — P. 77–82.
8. Iqbal M.P., Ishag V., Mehboobai N. Increased levels of erythrocyte glutathione in acute myocardial infarction: an antioxidant defence // *JPM. A.* — 2004. — Vol. 54, № 11. — P. 254–259.
9. Kharb S. Low blood glutathione levels in acute myocardial infarction // *Ind. J. Med. Sci.* — 2003. — Vol. 57, № 8. — P. 335–337.
10. Mills B.J., Weiss W.M., Lange C.A., Liu M.C., Ziegler C. Blood glutathione and cysteine changes in cardiovascular disease // *J. Lab. Clin. Med.* — 2000. — Vol. 135, № 5. — P. 396–401.
11. Буко И.В., Горудко И.В., Шамова Е.В. и др. Редокс-свойства крови пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом 2-го типа и ишемической болезнью сердца // *Здравоохранение.* — 2012. — № 3. — С. 4–7. / Buko I.V., Gorudko I.V., Shamova E.V. et al. The redox properties of the blood of patients with newly diagnosed type 2 diabetes and coronary heart disease // *Health Care System [Zdravookhraneniye].* — 2012. — № 3. — P. 4–7 [Russian].
12. Буко И.В., Цапаева Н.Л., Константинова Е.Э. и др. Редокс-потенциал глутатиона эритроцитов пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа // *Весті НАН Беларусі. Серія медыцынскіх навук.* — 2013. — № 1. — С. 16–21. / Buko I.V., Tsapaeva N.L., Konstantinova E.E. et al. Redox potential and the glutathione system components in erythrocytes of patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus // *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus Series of medical sciences. (Vestsi Natsiyanalнай Akademii Navuk Belarusi Seriya medycynskih navuk.).* — 2013. — № 1. — P. 16–20 [Russian].
13. García-Pinilla J.M., Gálvez J., Cabrera-Bueno F. et al. Baseline glutathione peroxidase activity affects prognosis after acute coronary syndromes // *Tex. Heart Inst. J.* — 2008. — Vol. 35, № 3. — P. 262–267.
14. Шрейдер Е.В., Шахнович Р.М., Казначеева Г.И. и др. Сравнительная динамика маркеров воспаления и NT-proBNP при различных вариантах лечения больных острым коронарным синдромом // *Кардиология.* — 2008. — Т. 48, № 8. — С. 20–27. / Schrader E.V., Shakhnovich R.M., Kaznacheeva G.I. Comparative dynamics of markers of inflammation and NT proBNP in different variants of treatment of patients with ACS // *Cardiology [Kardiologiya].* — 2008. — Vol. 48, № 8. — P. 20–27 [Russian].
15. Рагино Ю.И., Куимов А.Д., Полонская Я.В. и др. Динамика изменений воспалительно-окислительных биомаркеров в крови при остром коронарном синдроме // *Кардиология.* — 2012. — № 2. — С. 18–22. / Ragino Y.I., Kuimov A.D., Polonskaya Y.V. Dynamics of changes of blood inflammatory-oxidative biomarkers in acute coronary syndrome // *Cardiology [Kardiologiya].* — 2012. — № 2. — P. 18–22 [Russian].
16. Задонченко В.С., Лексина К.С., Тимофеева Н.Ю. и др. Влияние ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента на окислительный стресс, функцию эндотелия у больных инфарктом миокарда // *Кардиология.* — 2009. — Т. 49, № 7–8. — С. 32–37. / Zadionchenko V.S., Leksina K.S., Timofeeva N.U. et al. Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors on oxidative stress, endothelial function in patients with myocardial infarction // *Cardiology [Kardiologiya].* — 2009. — Vol. 49, № 7–8. — P. 32–37 [Russian].
17. Голиков А.П., Давыдов Б.В., Руднев Д.В. и др. Влияние мексикора на окислительный стресс при остром инфаркте миокарда // *Кардиология.* — 2005. — № 7. — С. 21–26. /

Golikov A.P., Davydov B.V., Rudnev D.V. et al. Effect of mexicor on oxidative stress in acute myocardial infarction // *Cardiology [Kardiologiya]*. — 2005. — № 7. — P. 21–26 [Russian].

18. Барбараш Л.С., Барбараш О.Л., Бернс С.А. и др. Прогностическая ценность различных маркеров воспаления при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST // *Кардиология*. — 2011. — № 3. — С. 24–30. / Barbarash L.S. Barbarash O.L., Burns S.A. et al. Predictive value of various markers of inflammation in acute myocardial infarction with ST segment elevation // *Cardiology [Kardiologiya]*. — 2011. — № 3. — P. 24–30 [Russian].

19. Ваулин Н.А., Покровская Е.В., Деев А.Д., Грацианский Н.А. Применение гемфиброзила при остром коронарном синдроме без подъемов сегмента ST на ЭКГ. Изменения маркеров воспаления // *Кардиология*. — 2006. — № 6. — С. 37–42. / Vaulin N.A., Pokrovskaya E.V., Deev A.D., Gratsianskiy N.A. Early use of gemfibrozil in patients with non ST Elevation acute coronary syndrome. Changes of markers of inflammation and von Willebrand factor // *Cardiology [Kardiologiya]*. — 2006. — № 6. — P. 37–42 [Russian].

20. Волков В.И., Серик С.А. Провоспалительные цитокины и растворимая молекула межклеточной адгезии-1 при ишемической болезни сердца // *Кардиология*. — 2002. — № 9. — С. 12–16. / Volkov V.I., Serik S.A. Proinflammatory cytokines and soluble intercellular adhesion molecule-1 in ischemic heart disease // *Cardiology [Kardiologiya]*. — 2002. — № 9. — P. 12–16 [Russian].

21. Буко И.В., Полонецкий Л.З., Мрочек А.Г., Мойсеев А.Г. Антиоксидантный статус и редокс-потенциал глутатиона эритроцитов в условиях острого коронарного синдрома // *Укр. Бюхим. Журн.* — 2014. — Т. 86, № 3. — С. 107–117. / Buko I.V., Polonetsky L.Z., Mrochek A.G., Moiseenok A.G. Antioxidant status and glutathione redox potential of erythrocytes in patients with acute coronary syndromes secondary to systemic inflammation and oxidative stress // *Ukrainian Biochemistry Journal [Ukrainskiy Biokhimicheskiy Zhurnal]*. — 2014. — Vol. 86, № 3. — P. 107–117 [Russian].

22. Minetti M., Malorni W. Redox control of red blood cell biology: the red blood cell as a target and source of prooxidant species // *Antioxid. Redox Signal.* — 2006. — Vol. 8, № 7–8. — P. 1165–1169.

23. Kennett E.C., Kuchel Ph.W. Plasma membrane oxidoreductases: effects on erythrocyte metabolism and redox homeostasis // *Antioxid. Redox Signal.* — 2006. — Vol. 8, № 7–8. — P. 1241–1247.

24. Richards R.S., Roberts T.K., McGregor N.R., Dunstan R.H., Butt H.L. The role of erythrocytes in the inactivation of free radicals // *Med. Hypoth.* — 1998. — Vol. 50, № 5. — P. 363–367.

25. Rifkind J.M., Nagababu E., Ramasamy S. Nitric oxide redox reactions and red cell biology // *Antioxid. Redox Signal.* — 2006. — Vol. 8, № 8. — P. 1193–1203.

26. Петренко М.И., Терентьев В.П., Милютин Н.П. и др. Антирадикальный эффект периндоприла в крови при остром инфаркте миокарда // *Фундаментальные исследования*. — 2004. — № 1. — 129 с. / Petrenko M.I., Terentiev V.P., Milutin N.P. et al. Anti-radical effect of perindopril in blood in acute myocardial infarction / *Fundamental research [Fundamentalniye Issledovaniya]*. — 2004. — № 1. — 129 p. [Russian].

27. Metere A., Iorio E., Scorza G. et al. Carbon monoxide signaling in human red blood cells. Evidence for pentose phosphate pathway activation and protein deglutathionylation // *Antioxid. Redox Signal.* — 2014. — Vol. 20, № 3. — P. 403–416.

28. Sen C.K. Redox signaling and the emerging therapeutic potential of thiol antioxidants // *Biochem. Pharmacol.* — 1998. — Vol. 55, № 11. — P. 1747–1758.

29. Jons D.P. The health dividend of glutathione // *Nat. Med. J.* — 2011. — № 2. — [Electronic resource]. — URL: <http://www.naturalmedicinejournal.com>