

## ДИНАМИКА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА ПРИЕМ НИТРАТОВ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Сафронова Э.А., Кузин А.И.

*ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, e-mail: safronovaeleonora68@gmail.com*

В статье представлены результаты изучения динамики показателей оксидативного стресса на прием нитроглицерина у больных со стабильной стенокардией напряжения 3 и 4 функциональных классов и нестабильной стенокардией. Были изучены следующие показатели хемилюминесценции в сыворотке и цельной крови: светосумма, спонтанная и максимальная светимость, вспышка, тангенс угла наклона кривой хемилюминесценции. При стабильной стенокардией напряжения 3 и 4 функциональных классов и нестабильной стенокардии отмечено увеличение содержания активных форм кислорода в сыворотке крови и цельной крови по сравнению с контрольной группой. У пациентов с нестабильной стенокардией отмечались большая способность липидов крови к перекисному окислению при сравнении с пациентами со стабильной стенокардией напряжения 3 и 4 ФК. Гетерогенность реакции на нитроглицерин связана с исходным состоянием окислительного стресса: чем ниже уровень исходного содержания активных форм кислорода, тем выше реакция окислительного стресса в сторону увеличения в ответ на нитроглицерин. При стабильной стенокардии напряжения произошло увеличение интенсивности генерации активных кислородных метаболитов, способности липидов крови к перекисному окислению, содержания гидроперекисей. При исходно повышенных показателях окислительного стресса под влиянием нитроглицерина произошло снижение перекисного окисления липидов, интенсивности генерации активных кислородных метаболитов, гидроксил-радикалов. При нестабильной стенокардии при исходно нормальных показателях активных форм кислорода или статистически от них не отличающихся, динамика окислительного стресса под воздействием нитроглицерина связана преимущественно с повышением интенсивности генерации активных кислородных метаболитов, гидроперекисей липидов, потенциальной способности липидов к перекисному окислению, что оказывает повреждающее действие на эндотелий. При исходно повышенных уровнях активных форм кислорода у лиц с нестабильной стенокардией наблюдалось снижение интенсивности образования гидроксил-радикалов, генерации активных кислородных метаболитов. Полученные данные могут быть использованы для прогнозирования безопасного приема нитроглицерина у больных со стабильной и нестабильной стенокардией.

Ключевые слова: оксидативный стресс, активные формы кислорода, стабильная стенокардия напряжения, нестабильная стенокардия, нитроглицерин, хемилюминесценция.

## DYNAMICS OF OXIDATIVE STRESS AT NITRATE RECEPTION IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

Safronova E.A., Kuzin A.I.

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South-Ural State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, e-mail: safronovaeleonora68@gmail.com*

The article presents the results of studying the dynamics of indices of oxidative stress on the intake of nitroglycerin in patients with stable angina pectoris of stress 3 and 4 functional classes and unstable angina. The following indices of chemiluminescence in serum and whole blood were studied: light sum, spontaneous and maximum luminosity, flash, slope of the slope of the chemiluminescence curve. With stable angina of stress 3 and 4 functional classes and unstable angina, there was an increase in the content of active forms of oxygen in blood serum and whole blood in comparison with the control group. In patients with unstable angina, the ability of blood lipids to peroxide oxidation was greater when compared with patients with stable angina pectoris of 3 and 4 FC. The heterogeneity of the reaction to nitroglycerin is associated with the initial state of oxidative stress: the lower the level of the initial content of reactive oxygen species, the higher the oxidative stress response increases in response to nitroglycerin. With stable exertional angina, there was an increase in the intensity of generation of active oxygen metabolites, the ability of blood lipids to peroxide oxidation, and the content of hydroperoxides. At initially increased indices of oxidative stress under the influence of nitroglycerin, there was a decrease in lipid peroxidation, generation of active oxygen metabolites, hydroxyl radicals. With unstable angina at initially normal indices of active oxygen species or statistically not differing from them, the dynamics of oxidative stress under the influence of nitroglycerin is mainly associated with an increase in the intensity of generation of active oxygen metabolites, lipid hydroperoxides, the potential ability of lipids to peroxide oxidation, which has a

**damaging effect on the endothelium. At initially elevated levels of active forms of oxygen in persons with unstable angina, a decrease in the intensity of formation of hydroxyl radicals, generation of active oxygen metabolites was observed. The data obtained can be used to predict the safe intake of nitroglycerin in patients with stable and unstable angina.**

Keywords: oxidative stress, active forms of oxygen, stable exertional angina, unstable angina, nitroglycerin, chemiluminescence.

В патогенезе атеросклероза большое значение придается накоплению в плазме и сосудистой стенке окисленных модифицированных липопротеинов, которые образуются под влиянием активных форм кислорода (АФК) [1]. Локальное избыточное образование эндотелиальными клетками в крупных и средних артериях супероксидного аниона играет значимую роль в патогенезе атеросклероза и ИБС [2; 3]. При избыточной продукции супероксидного аниона происходит его накопление в стенках сосудов, что приводит к развитию окислительного стресса, играющего существенную роль в атерогенезе. Супероксидный анион, так же как и NO – пероксинитрит (ONOO<sup>-</sup>) инициирует свободнорадикальное окисление, повреждения липидов сосудистой стенки [4].

По литературным данным, недостаточно изучено влияние органических нитратов на оксидативный стресс (ОС) в клинических ситуациях. В основном это были экспериментальные патофизиологические изыскания на культурах клеток. Munzel T. et al. (2014) [5] показали, что прием нитроглицерина (НГ) может вызывать повышение образования АФК, что в дальнейшем может привести к ОС и формированию толерантности к нитроглицерину. В литературе недостаточно клинических данных о влиянии антиангинальных препаратов, в частности нитроглицерина, на ОС у больных с различными типами стенокардии, что и определяет новизну и актуальность исследования.

Цель исследования - изучение динамики ОС под влиянием НГ у пациентов с различными формами ишемической болезни сердца (ИБС).

**Материалы и методы исследования.** Обследован 21 пациент со стабильной стенокардией (СтСт) – 3 и 4 ФК (средний возраст 55,4±5,6 года) и 20 – с нестабильной стенокардией (НС) (средний возраст 54,2±6,8 года).

Критерии включения для основных групп наблюдения: возраст 40-65 лет, мужской пол, установленный диагноз СтСт в соответствии с национальными рекомендациями Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) 2008 года [6]; установленный диагноз НС в соответствии с рекомендацией ВНОК по диагностике и лечению ОКСБПСТ 2006 года [7], ESC [8]; информированное согласие пациента на участие в исследовании (протокол этического комитета № 9 от 11.09.2006 г.). Критерии исключения: хроническая сердечная недостаточность; острые и хронические инфекции; вторичная артериальная гипертензия; женский пол.

У пациентов исследовалось содержание активных форм кислорода в цельной крови (ЦК) и сыворотке крови (сыв) методом хемилюминесценции (ХЛ) до приема НГ и через 5 минут после принятия 1 т НГ под язык, т.е. на максимуме действия этого препарата. Контрольную группу (К) составили 42 практически здоровых мужчины, средний возраст –  $52 \pm 3,34$  года.

Регистрацию ХЛ ЦК и сыв, усиленную люминолом, осуществляли аппаратом «Хемилуминомер-003» с компьютерным обеспечением и выводом хемилуминограмм на принтер по методу Фархутдинова Р.Р. и соавт. [9]. Компьютерная статистическая обработка данных РКГ проводилась по специализированной программе StatPlus 2009. Использовались парный двухвыборочный t-тест для средних зависимых выборок и двухвыборочный t-тест с разными дисперсиями независимых выборок, используя критерий Стьюдента (t-критерий), критерий Уэлча (Велча), критерий Пагуровой, G-критерий различия средних.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Показатели ХЛ ЦК и сыв до и после приема НГ у пациентов СтСт 3 и 4 ФК и НС, а также в группе контроля представлены в таблице 1 и на рисунке 1 соответственно.

Таблица 1

Показатели хемилюминесценции цельной крови до и после приема нитроглицерина

Показатели ХЛ, усл. ед.	Контроль (n=42)	СтСт 3 и 4 ФК (n=21)		НС (n=20)	
		до НГ	после НГ	до НГ	после НГ
Светосумма	9,35±1,44	15,02±2,73* <sup>1</sup>	17,06±3,23	15,11±2,48* <sup>1</sup>	18,29±2,27
Спонтанная светимость	0,35±0,13	0,63±0,19	0,71±0,17	0,64±0,20	0,69±0,21
csdВспышка	0,79±0,28	1,23±0,33* <sup>1</sup>	1,32±0,79	1,16±0,24* <sup>1</sup>	1,29±0,29
Максимальная светимость	1,45±0,66	2,54±0,48* <sup>1</sup>	3,31±0,41	3,19±0,39* <sup>12</sup>	2,16±1,31
Тангенс угла наклона кривой ХЛ, усл. ед./мин	0,27±0,07	0,45±0,12* <sup>1</sup>	0,46±0,4	0,46±0,11* <sup>1</sup>	0,48±0,14

Примечание: \* -  $p < 0,05$ ; 1 – сравнение с контролем; 2 – между СтСт 3 и 4 ФК и НС.

У обследуемых пациентов СтСт 3 и 4 ФК были достоверно ( $p < 0,05$ ) повышены большинство показателей ХЛ ЦК и сыв по сравнению с контрольной группой (табл. 1 и рис. 1). У пациентов с НС по сравнению со СтСт 3 и 4 ФК достоверно повышена максимальная светимость (МСВ).

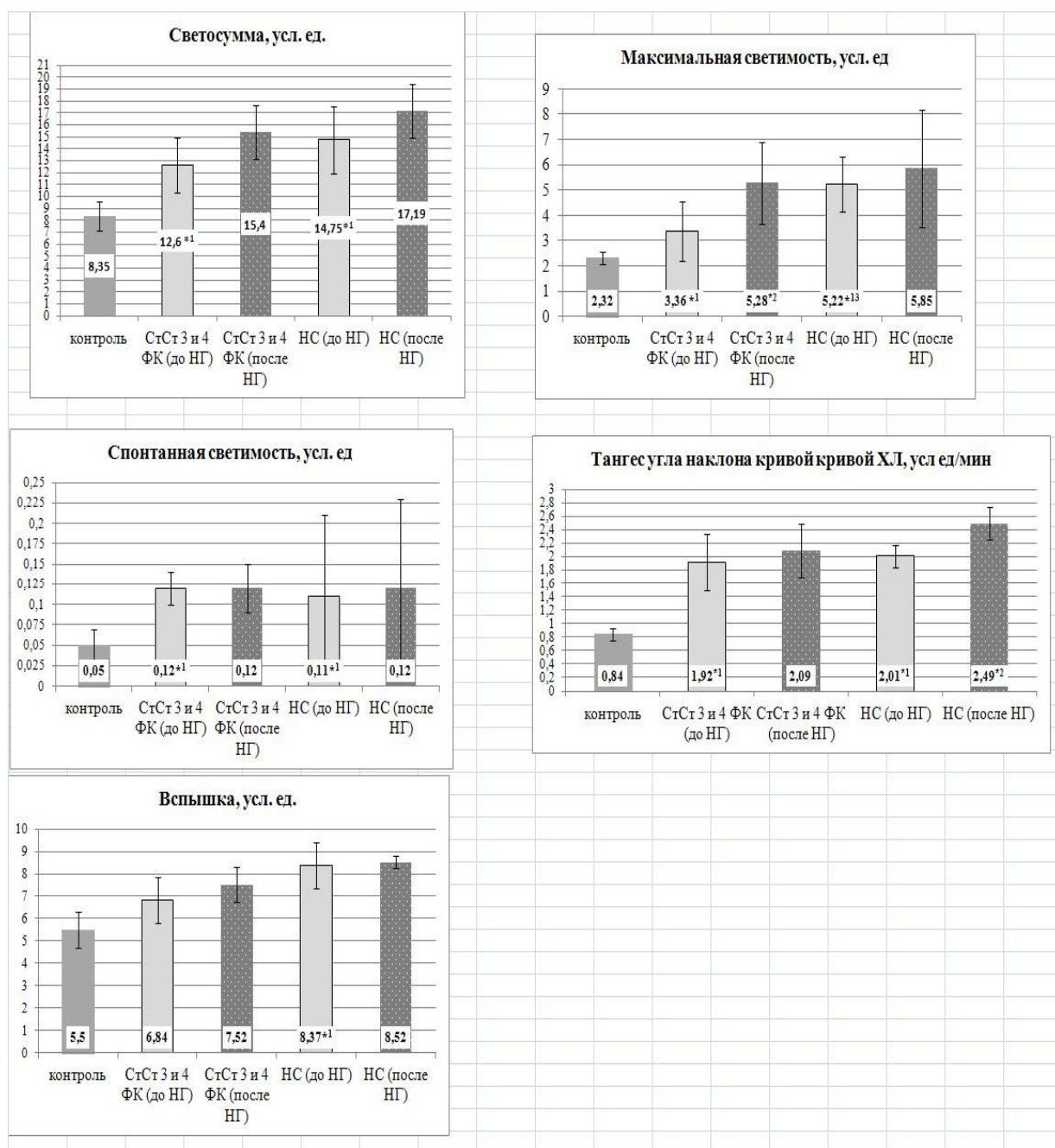


Рис. 1. Показатели хемилуминесценции сыворотки крови до и после приема нитроглицерина  
Примечание: \* -  $p < 0,05$ ; 1 - сравнение с контролем; 2 – после НГ; 3 – между СтСт 3 и 4 ФК и НС.

У пациентов со СтСт 3 и 4 ФК, а также НС отмечена неоднородность реакции на НГ в виде увеличения ОС, снижения ОС или отсутствия этого феномена, принимая во внимание исходные значения показателей ХЛ и их отклонение в ту или другую сторону на 10% (условно) после приема НГ (табл. 2-5).

Показатели ХЛ сыворотки крови пациентов со СтСт 3 и 4 ФК в зависимости от реакции на НГ (n / M ± m)

Показатели ХЛ, усл. ед.	Контроль (n=42), группа 1	Динамика показателей ХЛ СтСт		
		С увеличением более (+)10% от исходного n / M ± m, группа 2	Без изменений, в пределах ±10% от исходного n / M ± m, группа 3	Со снижением более (-) 10% от исходного n / M ± m, группа 4
Светосумма	8,35±1,20	9/10,63±1,42	7/11,49±1,85	5/16,90±2,41* <sup>1,2</sup>
Спонтанная светимость	0,05±0,02	11/0,09±0,02	1/0,1	9/0,16±0,04* <sup>1</sup>
Вспышка	5,5±0,80	11/6,05±0,92	3/7,40±0,72	7/7,84±0,79* <sup>1</sup>
Максимальная светимость	2,32±0,24	9/2,85±0,24	7/3,34±0,81	5/4,98±1,29* <sup>1</sup>
Тангенс угла наклона кривой ХЛ, усл. ед./мин	0,84±0,09	9/1,50±0,36	4/2,15±0,51* <sup>1</sup>	8/2,56±0,62** <sup>1</sup>

Примечание: \* - p<0,05; \*\* - p<0,01; 1 – сравнение с контролем (группой 1); 2 – между группами 2 и 4.

Таблица 3

Показатели ХЛ сыворотки крови пациентов с НС в зависимости от реакции на НГ (n / M ± m)

Показатели ХЛ, усл. ед.	Контроль (n=42), группа 1	Динамика показателей ХЛ НС		
		С увеличением более (+)10% от исходного n / M ± m, группа 2	Без изменений, в пределах ±10% от исходного n / M ± m, группа 3	Со снижением более (-) 10% от исходного n / M ± m, группа 4
Светосумма	8,35±1,20	9/12,98±1,32* <sup>1</sup>	6/13,80±2,18* <sup>1</sup>	5/16,91±2,71* <sup>1</sup>
Спонтанная светимость	0,05±0,02	9/0,08±0,03	-	11/0,11±0,02* <sup>1</sup>
Вспышка	5,5±0,80	10/7,01±0,78	3/8,32±0,32* <sup>1</sup>	7/9,80±0,97** <sup>1,2</sup>
Максимальная светимость	2,32±0,24	8/2,69±1,21	7/4,15±1,21	5/5,58±1,59* <sup>1</sup>
Тангенс угла наклона кривой ХЛ, усл. ед./мин	0,84±0,09	8/1,56±0,92	2/2,06±0,92	10/2,54±0,82* <sup>1</sup>

Примечание: \* - p<0,05; 1 – сравнение с контролем (группой 1); 2 – между группами 2 и 4.

Таблица 4

Показатели ХЛ цельной крови пациентов со СтСт 3 и 4 ФК в зависимости от реакции на НГ (n / M ± m)

Показатели ХЛ, усл. ед.	Контроль (n=42), группа 1	Динамика показателей ХЛ СтСт		
		С увеличением более (+)10% от исходного	Без изменений, в пределах ±10% от исходного n /	Со снижением более (-) 10% от исходного

		n / M ± m, группа 2	M ± m, группа 3	n / M ± m, группа 4
Светосумма	9,35±1,44	9/10,53±1,22	2/13,24±1,32	10/16,90±1,92* <sup>1</sup>
Спонтанная светимость	0,35±0,13	8/0,38±0,13	-	13/0,95±0,19* <sup>1</sup>
Вспышка	0,79±0,28	8/1,0±0,24	1/1,23±0,32	12/1,21±0,12
Максимальная светимость	1,45±0,66	8/1,62±0,66	3/1,73±0,22	10/2,98±0,32* <sup>1</sup>
Тангенс угла наклона кривой ХЛ, усл. ед./мин	0,27±0,07	13/0,21±0,04	-	8/0,87±0,22* <sup>1</sup>

Примечание: \* - p<0,05; 1 – сравнение с контролем (группой 1).

Таблица 5

Показатели ХЛ цельной крови пациентов с НС в зависимости от реакции на НГ  
(n / M ± m)

Показатели ХЛ, усл. ед.	Контроль (n=42), группа 1	Динамика показателей ХЛ НС		
		С увеличением более (+)10% от исходного n / M ± m, группа 2	Без изменений, в пределах ±10% от исходного n / M ± m, группа 3	Со снижением более (-) 10% от исходного n / M ± m, группа 4
Светосумма	9,35±1,44	9/10,35±1,25	2/15,23±1,64	10/17,90±2,16* <sup>1</sup>
Спонтанная светимость	0,35±0,13	7/0,44±0,05	0/	13/0,84±0,19* <sup>1</sup>
Вспышка	0,79±0,28	6/0,78±0,08	3/1,08±0,20	11/1,23±0,14
Максимальная светимость	1,45±0,66	8/1,62±0,47	3/1,84±0,26	10/3,20±1,18
Тангенс угла наклона кривой ХЛ, усл. ед./мин	0,27±0,07	13/0,21±0,07	0/	8/0,88±0,24* <sup>1</sup>

Примечание: \* - p<0,05; 1 – сравнение с контролем (группой 1).

Как следует из таблицы 2, у пациентов с СтСт 3 и 4 ФК при исходно статистически не отличающихся от группы контроля показателей ХЛ сыв наблюдалось повышение СВС, спонтанной светимости (СС), ВСП, МСВ. У пациентов с исходно повышенными показателями произошли преимущественно сдвиги в сторону их снижения. При исходно повышенном тангенсе угла наклона кривой ХЛ (УН) после приема НГ наблюдались сдвиги в сторону уменьшения данного показателя на 10% и более или регистрировалось отсутствие изменения данного показателя. В таблице 3 видно, что из числа тех пациентов с НС, у которых регистрировались исходно статистически не отличающиеся от нормальных показатели ХЛ сыв после приема НГ произошло в большинстве случаев увеличение СС, МСВ, УН или отсутствие изменений, а у больных с исходно повышенными

регистрируемыми величинами наблюдалась неоднородность воздействия НГ, преимущественно в сторону снижения угла наклона, спонтанной светимости, МСВ. По остальным показателям происходило отсутствие изменений или их уменьшение.

Что касается ЦК, то необходимо отметить, что у пациентов со СтСт 3 и 4 ФК (табл. 4) при исходно статистически не отличающихся от нормальных показателях ХЛ произошло увеличение СС, УН; отсутствие изменений или повышение СВС, ВСП, МСВ. У пациентов с исходно повышенными параметрами ХЛ ЦК произошли преимущественно сдвиги в сторону их снижения, кроме ВСП. В то же время у пациентов с НС (табл. 5) регистрировалось при отсутствии статистически значимых изменений от значений контрольной группы увеличение или отсутствие реакции ВСП и МСВ, повышение СС, СВС, УН. При статистически значимом увеличении СВС в сравнении с контролем отмечалось отсутствие реакции или уменьшение ОС под влиянием НГ. По остальным показателям ХЛ регистрировалось снижение ОС при воздействии нитроглицерина.

Наши данные указывают на наличие оксидативного стресса у пациентов со СтСт и НС, что совпадает с результатами (Воробьева Е.Н. и др., 2010) [10]. Согласно исследованиям А.Е. Кратнова и др. [11] АФК, образуемые нейтрофилами при реперфузии миокарда, играют важную роль в развитии эндотелиальной дисфункции (ЭД) при ИБС.

В нашем исследовании под действием НГ наблюдалась гетерогенность ответа содержания АФК как в сыворотке, так и цельной крови. У пациентов со СтСт 3 и 4 ФК и НС с исходно повышенным содержанием АФК отмечалось преимущественное снижение в ЦК АФК после приема НГ, а также максимальной светимости в сыв у лиц с СтСт 3 и 4 ФК, СПС и УН у больных с НС. В то время как у пациентов с исходно нормальными АФК как в сыворотке, так и в ЦК, по ряду показателей отмечалось увеличение этих величин. Поэтому по исходному уровню АФК можно прогнозировать ответ на НГ: при исходно увеличенном уровне можно ожидать снижение этих показателей, в то время как при величинах, близких к нормальным, возможно их повышение.

Возможными последствиями ОС, описанными в литературе, могут быть ЭД и эффект ишемического прекондиционирования после разового использования НГ вследствие биотрансформации в митохондриальном матриксе с помощью альдегиддегидрогеназы (АЛДГ). В результате этого высвобождается NO, что ведет к вазодилатации, разрушается митохондриальная дыхательная цепочка и происходит вспышка свободных радикалов кислорода (СРК). Это продемонстрировано в работах Т. Gori et al. (2010) [12], Wenzel P. et al., (2009) [13] на культурах эндотелиальных клеток umbilicalной вены человека при инкубации с НГ. В то же время накопление этих свободных радикалов длительное время при пролонгированном приеме НГ приводит к негативным эффектам (Munzel T. et al., 2011) [5].

Таким образом, индуцированная НГ продукция СРК объясняет протективный острый (разовый) и неблагоприятный хронический эффекты НГ [12; 13].

### **Выводы**

1. При стабильной стенокардии напряжения 3 и 4 ФК и нестабильной стенокардии отмечено увеличение содержания активных форм кислорода в сыворотке крови и цельной крови по сравнению с контрольной группой.
2. У пациентов с нестабильной стенокардией отмечались большая способность липидов крови к перекисному окислению при сравнении с пациентами со стабильной стенокардией напряжения 3 и 4 ФК.
3. Гетерогенность реакции на НГ связана с исходным состоянием окислительного стресса. Чем ниже уровень исходного содержания АФК, тем выше реакция ОС в сторону увеличения в ответ на нитроглицерин. Так, при СтСт динамика ОС связана преимущественно с увеличением интенсивности генерации активных кислородных метаболитов, способности липидов крови к перекисному окислению, содержания гидроперекисей. В то же время при исходно повышенных показателях ОС под влиянием НГ произошло снижение перекисного окисления липидов, интенсивности генерации активных кислородных метаболитов, гидроксил-радикалов.
4. При НС при исходно нормальных показателях АФК или статистически от них не отличающихся динамика ОС под воздействием НГ связана преимущественно с повышением интенсивности генерации активных кислородных метаболитов, гидроперекисей липидов, потенциальной способности липидов к перекисному окислению, что оказывает повреждающее действие на эндотелий. При исходно повышенных уровнях АФК у лиц с НС наблюдалось снижение интенсивности образования гидроксил-радикалов, генерации активных кислородных метаболитов.
5. Полученные данные могут быть использованы для прогнозирования безопасного приема НГ у больных с СтСт и НС.

### **Список литературы**

1. Ложкин А.П., Биктагиров Т.Б., Зеленихин П.В., Абдульянов В.А., Хайруллин Р.Н. Определение окислительного стресса методом ЭПР-спектроскопии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Ученые записки Казанского университета. 2014. Т. 156, кн. 2. С. 62-73.
2. Мельникова Ю.С., Макарова Т.П. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено хронических болезней // Казанский медицинский журнал. 2015. Т. 96. № 4. С. 659-665.



3. Madamanchi N.R., Runge M.S. NADPH oxidases and atherosclerosis: unraveling the details. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2010. vol. 298. no. 1. P. H1–H2. DOI: 10.1152/ajpheart.01020.2009.
4. Beckman J.S., Carson M., Smith C.D., Koppenol W.H. SLS, SOD and peroxyxynitrite. *Nature* 1993. V.364. P. 584-587.
5. Munzel T., Steven S., Daiber A. Organic nitrates: update on mechanisms underlying vasodilation, tolerance and endothelial dysfunction. *Vascul Pharmacol.* 2014. V.63 (3), P. 105-113.
6. Диагностика и лечение стабильной стенокардии. Российские рекомендации // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2008. Т. 7. № 6. Приложение 4.
7. Национальные рекомендации по лечению острого коронарного синдрома без стойкого подъема сегмента ST на ЭКГ // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2006. Т. 8. № 5. Приложение 1.
8. Рекомендации по лечению острого коронарного синдрома без стойкого подъема сегмента ST / рабочая группа Европейского общества кардиологов (ESC) // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2012. № 2. С. 64. Прил.
9. Фархутдинов Р.Р. Тевторадзе С.И., Баймурзина Ю.Л. и др. Методы оценки антиокислительной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения. М., 2005. 127 с.
10. Воробьева Е.Н., Симонова Г.И., Воробьев Р.И., Лещенко И.Ж. Свободно-радикальное окисление и атеросклероз // Атеросклероз. 2010. Т. 6. № 2. С. 20-27.
11. Кратнов А.Е., Углов Е.С., Кратнов А.А. Метаболическая активность нейтрофилов, уровень провоспалительных цитокинов и эндотелиальная дисфункция у больных со смертельным исходом ишемической болезни сердца // Современные технологии в медицине. 2010. № 2. С. 63-67.
12. Thadani U. Challenges with nitrate therapy and nitrate tolerance: prevalence, prevention, and clinical relevance journal. *Amer. J. Cardiovasc Drugs.* 2014. V.14 (4). P. 287-301.
13. Wenzel P., Schulz E., Gori T. et al. Monitoring white blood cell mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity: implications for nitrate therapy in humans. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2009. vol. 330. № 1. P. 63-71.