

# Коррекция оксидативного стресса при метаболическом синдроме с помощью лазеротерапии

✉ А.В. Донцов

*Кафедра пропедевтики внутренних болезней  
Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко*

Целью исследования явилось изучение эффективности лазеротерапии в коррекции оксидативного стресса при метаболическом синдроме. В период с 2011 по 2013 г. обследовано 123 больных с ишемической болезнью сердца и метаболическим синдромом. Полученные результаты свидетельствуют о том, что 10-дневный курс лазеротерапии в комплексном лечении ишемической болезни сердца и метаболического синдрома более эффективно корректирует состояние окислительного стресса по сравнению со стандартной медикаментозной терапией.

*Ключевые слова:* метаболический синдром, ишемическая болезнь сердца, оксидативный стресс, лазеротерапия.

## Введение

При ожирении и **метаболическом синдроме** (МС) многие исследователи отмечают оксидативное повреждение клеточных компонентов (белков и липидов). В противовес процессам липидной перекисидации в организме функционирует система антиоксидантной защиты, представленная ферментами — каталазой, **супероксиддисмутазой** (СОД), глутатионпероксидазой, а также природными антиоксидантами — флавоноидами, витаминами С и Е. Продукция свободных радикалов при ожирении сопровождается повышением экспрессии НАДФ-оксидазы и снижением экспрессии ферментов-антиоксидантов. В культуре адипоцитов повышенный уровень свободных жирных кислот провоцирует оксидативный стресс, который, в свою очередь, потенцирует продукцию провоспалительных адипоцитокинов.

С целью уменьшения последствий оксидативного стресса и повышения активности антиоксидантной системы изучаются

возможности **низкоинтенсивного лазерного излучения** (НИЛИ). В ряде работ продемонстрировано антиоксидантное действие НИЛИ при различных видах патологии. В то же время анализ литературы показывает, что особенности влияния лазерного излучения на оксидативный стресс при МС изучены пока недостаточно.

**Цель исследования:** изучить эффективность **лазеротерапии** (ЛТ) в коррекции оксидативного стресса при МС.

## Материал и методы

Исследование проведено на базе городских клинических больниц № 7 и № 20 Воронежа в 2011–2013 годах. В исследование было включено 123 пациента с **ишемической болезнью сердца** (ИБС), имеющих диагностические признаки МС согласно рекомендациям **Всероссийского научного общества кардиологов** (ВНОК) и Российского медицинского общества по артериальной гипертензии (2009). Средний возраст пациентов составил  $56,7 \pm 5,1$  года. В контроль-

*Контактная информация:* Донцов Александр Владимирович, Ledn89@mail.ru

ную группу вошло 80 практически здоровых лиц (40 мужчин, 40 женщин).

Пациенты с ИБС и МС были разделены на две группы. В 1-ю группу вошло 63 пациента, получавших стандартную медикаментозную терапию по поводу ИБС согласно рекомендациям ВНОК по диагностике и лечению стабильной стенокардии. Во 2-ю группу вошло 60 пациентов, у которых медикаментозное лечение было дополнено ЛТ. С этой целью использовался лазерный полупроводниковый терапевтический аппарат Матрикс-ВЛОК (Россия). Применялась модифицированная методика ВЛОК-405 А.В. Гейница и С.В. Москвина (2009) с использованием надвального доступа. Использовали излучающую головку КЛ-ВЛОК-405 с мощностью на конце световода 2,5 мВт и длиной волны 0,63 мкм. Курс терапии предусматривал 10 процедур по 30 мин ежедневно.

**Общую окислительную способность** (ООС) крови определяли с помощью энзиматического теста на анализаторе ИФА-ридер “Униплан” (“Пикон”, Россия) с использованием реактивов фирмы Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG (Германия). Определение пероксидов основано на их реакции с пероксидазой, в результате чего происходит цветная реакция с хромогенным субстратом тетраметилбензидином. При добавлении стоп-реагента голубая окраска превращается в желтую, ее интенсивность можно измерить на фотометре при длине волны 450 нм. Для анализа использовали свежую сыворотку с добавлением этилендиамина тетрааксусной кислоты. Исходный стандартный раствор и два контрольных материала разводили 0,25 мл бидистиллированной воды, после чего разливали по аликвотам. Для построения калибровочной кривой использовали 5 разведений стандартов (0; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0 ммоль/л). В лунки планшета добавляли по 10 мкл стандартов, контролей или проб. После этого в каждую лунку добавлялось по 200 мкл реагентного микста. Пипетирование осуществлялось в течение 1 мин. Затем

следовала инкубация в течение 20 мин, после чего добавляли по 50 мл стоп-раствора и измеряли абсорбцию при 450 нм.

**Общую антиоксидантную активность** (ОАА) определяли на анализаторе ИФА-ридер “Униплан” с использованием реактивов фирмы CanAg Diagnostics AB (Швеция). Исходный лиофилизированный стандартный раствор разводили бидистиллированной водой до конечной концентрации мочевой кислоты 2 ммоль/л. Затем готовили серийные разведения стандартов X, A, J, 1/8, 1/16, 1/32 (конечные концентрации стандартов 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125; 0,063 ммоль/л). После разведения стандартные растворы разливали по аликвотам. Перед началом исследования все образцы и стандарты доводили до комнатной температуры и разводили специальным буфером 1/40 (10 мл сыворотки на 390 мл буфера). В том случае, если концентрация антиоксидантов в исследуемой пробе была выше концентрации верхнего стандарта (соответствует концентрации мочевой кислоты 2 ммоль/л), его повторно исследовали в разведении. В стандартные пластиковые стрипы микропланшет вносили по 200 мкл разведенных проб и стандартных растворов, после чего на ИФА-ридере “Униплан” определяли их абсорбцию при длине волны 490 нм против буфера для разведений (раствор сравнения). Затем в каждую лунку стрипа добавляли по 50 мкл раствора меди  $\text{Cu}^{2+}$ . После 3-минутной инкубации реакцию останавливали с добавлением 50 мкл стоп-раствора, затем повторно измеряли абсорбцию при длине волны 490 нм.

Супероксиддисмутазу (Cu/Zn-форма) определяли на анализаторе ИФА-ридер “Униплан” с использованием реактивов фирмы Bender Medsystems (Австрия). Методика теста: на донышках планшет сорбированы антитела к человеческой Cu/Zn-СОД. В лунки с 1-й по 8-ю добавляли 10 мкл **фосфатно-солевого буфера** (PBS), а в лунки для проб – по 90 мкл PBS. Предварительно разведенные раствором PBS 1 : 20 образцы сыворотки добавляли в лун-

**Таблица 1.** Показатели оксидативного стресса и антиоксидантной системы у пациентов с ИБС и МС и у здоровых лиц

Группа	ООС, мкмоль/л	ОАА, мкмоль/л	СОД, нг/мл
Основная	3,24 (3,12; 3,41)	26,6 (23,3; 33,7)	0,35 (0,28; 0,45)
Контрольная	1,82 (1,77; 1,89)	41,6 (37,5; 46,6)	0,86 (0,82; 0,93)

Примечание. Достоверность различий между всеми показателями основной и контрольной групп  $p < 0,001$ .

ки планшет (по 10 мкл в каждую лунку, начиная с 9-й). В каждую лунку добавляли по 50 мкл конъюгата. Планшет инкубировался в течение 1 ч при комнатной температуре на шейкере. Затем снимали адгезивную пленку и раствор аспирировали. Планшет промывали трижды, после чего добавляли по 100 мкл раствора субстрата тетраметилбензидина в каждую лунку. Производилась инкубация в течение 10 мин при интенсивном встряхивании. Абсорбцию измеряли после добавления стоп-раствора при длине волны 450 нм против холостой пробы. Референс 610 нм. Расчет проводили по калибровочной кривой, которая строилась по результатам измерения шести стандартных образцов с концентрациями СОД 5,0; 2,5; 1,25; 0,63; 0,31 и 0,16 нг/мл соответственно.

Клинико-лабораторные исследования проводили при поступлении в стационар, на 10-й день лечения и на 90-й день наблюдения. После выписки больные продолжа-

ли получать лекарственную терапию, начатую в стационаре.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica, версия 7.0. Количественные данные представлены как медиана (Ме) и верхняя и нижняя квартили (25; 75%). Сравнение количественных переменных проводили с помощью критерия рангов Вилкоксона для зависимых переменных и U-критерия Манна–Уитни для независимых групп. Нулевую гипотезу отвергали при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

При изучении параметров, характеризующих состояние оксидативного стресса, было выявлено, что у пациентов с ИБС и МС значение ООС на 44% выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,001$ ) (табл. 1). Что касается антиоксидантной защиты, то у больных регистрировались значительно более низкие уровни ОАА (на 56,4%) и СОД (на 50,7%), чем у здоровых ( $p < 0,001$ ).

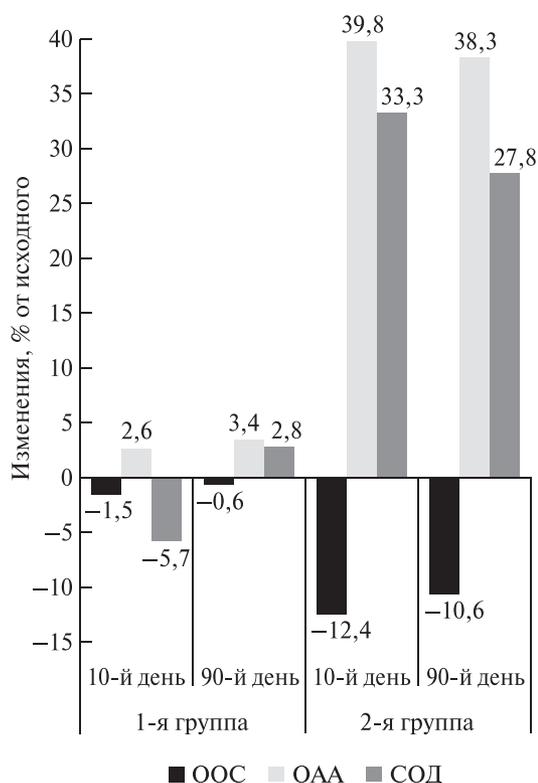
Затем были проанализированы результаты исследования лабораторных показателей в сравниваемых группах через 10 дней стационарного лечения. Полученные данные представлены в табл. 2.

Медикаментозная терапия, включавшая  $\beta$ -адреноблокаторы, нитраты, антиагреганты, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, статины, к концу стационарного периода лечения не вызывала достоверного изменения ООС, ОАА

**Таблица 2.** Динамика компонентов антиоксидантной системы и ООС в сравниваемых группах

Показатель	1-я группа			2-я группа		
	до лечения	10-й день	90-й день	до лечения	10-й день	90-й день
ООС, мкмоль/л	3,24 (3,12; 3,41)	3,19 (3,07; 3,32)	3,22 (3,16; 3,39)	3,22 (3,14; 3,44)	2,82* ** (2,77; 3,0)	2,84* ** (2,74; 2,98)
ОАА, мкмоль/л	26,6 (23,3; 33,7)	27,3 (24,6; 33,9)	27,5 (24,8; 33,1)	26,1 (23,6; 32,6)	36,5* ** (30,7; 41,3)	36,1* ** (28,7; 41,8)
СОД, нг/мл	0,35 (0,28; 0,45)	0,33 (0,24; 0,44)	0,36 (0,30; 0,45)	0,36 (0,27; 0,46)	0,48* ** (0,42; 0,57)	0,46* ** (0,41; 0,55)

\*  $p < 0,001$  при сравнении с показателем до лечения (внутри группы); \*\*  $p < 0,001$  при сравнении с показателями 1-й группы в соответствующий период.



Изменения некоторых показателей антиоксидантной системы и OOC в сравниваемых группах (в % от исходного уровня).

и активности СОД. В группе пациентов, получавших ЛТ, отмечено снижение OOC (на 12,4%,  $p < 0,001$ ), а также прирост OAA (на 39,8%,  $p < 0,001$ ) и усиление активности СОД (на 33,3%,  $p < 0,001$ ) (рисунок).

Учитывая, что исходные биохимические параметры в группах сравнения были сопоставимы, следует признать, что 10-дневный курс НИЛИ способствовал более эффективному снижению оксидативного стресса у пациентов с ИБС и МС, чем стандартная медикаментозная терапия.

Второй этап исследования предусматривал оценку продолжительности антиоксидантного эффекта ЛТ по завершении курса стационарного лечения. Результаты анализа данных на 90-й день наблюдения представлены в табл. 2.

У больных, получавших назначенную в стационаре стандартную медикаментозную

терапию, не отмечалось снижения оксидативного потенциала крови либо повышения активности фермента антиоксидантной системы СОД (см. рисунок). В группе пациентов с дополнительным курсом ЛТ через 3 мес продолжали регистрироваться положительные сдвиги в состоянии про- и антиоксидантных систем. Таким образом, у пациентов с ИБС и МС, получивших курс НИЛИ в стационаре, через 3 мес сохранялось корригирующее влияние ЛТ на состояние оксидативного стресса.

Гиперактивация свободно-радикальных процессов при МС влечет за собой целый каскад патологических процессов, лежащих в основе ряда заболеваний, таких как атеросклероз и ИБС. Одним из ключевых моментов в развитии ишемического повреждения клеток при ИБС является усиление процессов **перекисного окисления липидов (ПОЛ)** с ответной реакцией в виде активации ферментов системы антиоксидантной защиты. Однако со временем усиленная продукция свободных радикалов и эндоперекисей приводит к истощению антиоксидантной системы, что требует использования антиоксидантной терапии.

Ранее было установлено, что НИЛИ оказывает антиоксидантный эффект при облучении крови *in vitro*, что проявляется повышением активности СОД — ключевого фермента антиоксидантной системы, а также торможением ПОЛ. Изменение активности ферментов способствует нормализации процессов ПОЛ и повышению мощности антиоксидантной системы.

Известно, что в ишемизированных тканях с развитием ацидоза происходит снижение активности СОД. Низкоинтенсивное лазерное излучение способствует восстановлению структуры активного центра этого фермента и его энзиматической активности, нарушенной при гипоксическом ацидозе. Фотореактивация СОД, таким образом, оказывает антирадикальное действие при ишемии у пациентов с ИБС.

## Выводы

1. У пациентов с ИБС и МС регистрируется более высокий уровень ООС и более низкая активность СОД и ООА по сравнению со здоровыми лицами.
2. Комплексное лечение, включающее 10-дневный курс НИЛИ, более эффективно-

но корректирует состояние окислительного стресса у пациентов с ИБС и МС, чем стандартная медикаментозная терапия.

*С рекомендуемой литературой вы можете ознакомиться на нашем сайте [www.atmosphere-ph.ru](http://www.atmosphere-ph.ru)*

## Correction of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome with Laser Therapy

A.V. Dontsov

The aim of the study was to assess the efficacy of laser therapy in correction of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. In 2011–2013 we examined 123 patients with coronary heart disease and metabolic syndrome. The study showed that 10-day laser therapy was more effective in patients with coronary heart disease and metabolic syndrome compared to conventional medical treatment.

*Key words:* metabolic syndrome, coronary heart disease, oxidative stress, laser therapy.

## НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА “АТМОСФЕРА”

И.Е. Чазова,  
Н.М. Данилов, А.Ю. Литвин

РЕФРАКТЕРНАЯ  
АРТЕРИАЛЬНАЯ  
ГИПЕРТОНИЯ

### Рефрактерная артериальная гипертония Авторы: И.Е. Чазова, Н.М. Данилов, А.Ю. Литвин

Монография является первой в России, полностью посвященной рефрактерной артериальной гипертонии. В ней подробно рассмотрены эпидемиология рефрактерной артериальной гипертонии, механизмы ее развития, поражение органов-мишеней. Отдельные главы посвящены проблеме ожирения и метаболического синдрома, а также синдрому обструктивного апноэ во сне. В главах по лечению рефрактерной артериальной гипертонии представлены перечень мероприятий по изменению

образа жизни, нормализации массы тела, подходы к медикаментозной и немедикаментозной терапии, включая денервацию почечных артерий и электростимуляцию барорецепторов каротидного синуса. 256 с., ил.

*Для кардиологов, сомнологов, диетологов, эндокринологов, кардиохирургов, кардионеврологов, кардиопульмонологов, терапевтов, всех практикующих врачей, имеющих отношение к обследованию и лечению больных артериальной гипертонией, руководителей здравоохранения.*

Приобрести ВСЕ книги, журналы и диски издательства “Атмосфера” можно на сайте [atm-press.ru](http://atm-press.ru) или по тел. (495) 730 63 51