

Процессы свободнорадикального окисления в сыворотке крови женщин при гипертонической болезни

Е.В.Олемпиева, З.И.Микашинович, Т.Д.Коваленко

Ростовский государственный медицинский университет,
кафедра общей и клинической биохимии №1, Ростов-на-Дону
(зав. кафедрой – проф. З.И.Микашинович)

Проведен анализ свободнорадикального окисления компонентов сыворотки крови практически здоровых женщин репродуктивного возраста, а также на фоне течения гипертонической болезни. Установлено, что одним из этиопатогенетических механизмов, составляющих молекулярную основу развития вазоконстрикторных реакций в начальной стадии формирования гипертонической болезни, являются окисленно модифицированные липопротеиды. При ГБ отмечается окислительная модификация липопротеидных частиц сыворотки крови как за счет изменения их липидного, так и белкового компонентов. Данные изменения формируются на фоне роста концентрации МДА и МСМ, что сопровождается формированием эндотелиальной дисфункции вследствие преобладания вазоконстрикторных реакций над вазодилатирующими и способствует увеличению уровня артериального давления.

Ключевые слова: липопротеиды, малоновый диальдегид, гипертоническая болезнь

Lipid peroxidation processes in the serum of blood in women with hypertonic disease

E.V.Olempieva, Z.I.Mikashinovich, T.D.Kovalenko

Rostov Medical University, Department of Common and Clinical Biochemistry №1, Rostov-on-Don
(Head of the Department – Prof. Z.I.Mikashinovich)

It was analyzed the lipid peroxidation of serum of blood components in healthy reproductive age women and also in women with hypertonic disease. It was established that one of etiopathogenic mechanisms, which is in the molecular base of vasoconstrictor reactions at an early stage of hypertonic disease formation are oxidative modified lipoproteins. It was revealed that at hypertonic disease the process of lipoprotein serum of blood particles modification due to changes of their lipid and protein components takes place. Such changes formed with increasing of Malonic dialdehyde concentration and mediate mass molecules, that accumulated with endothelial dysfunction formation according to predominance of vasoconstriction on vasodilation that led to the increasing of arterial pressure.

Key words: lipoproteins, malonic dialdehyde, hypertonic disease

Сердечно-сосудистые заболевания в настоящее время являются наиболее частой причиной смерти населения развитых стран. В России от этой патологии умирают 62,8% женщин. Ведущее место в структуре смертности и инвалидности от заболеваний сердечно-сосудистой системы принадлежит ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии [1, 2]. Известно, что сердечно-сосудистая патология сопровождается формированием гипоксии, в первую очередь циркуляторной и тканевой.

Важную роль в патогенезе кислороддефицитных состояний играют процессы свободнорадикального окисления. Классическим примером свободнорадикальных реакций в организме являются процессы липидной перекисидации

(ПОЛ). Реакции ПОЛ протекают во всех клетках организма, главным образом в липидных структурах мембран и липопротеидных комплексах [3, 4]. Установлено, что гипоксия вызывает активацию процессов ПОЛ и перераспределение отдельных классов липидов [5]. Е.Б.Меньщикова и соавторы (2006) выделяют четыре наиболее вероятные мишени окислительной цитотоксической атаки активными кислородными метаболитами (АКМ): индукцию процессов ПОЛ в биологических мембранах, повреждение мембрансвязанных белков, инактивацию ферментов и повреждение ДНК клеток.

Не вызывает сомнения факт участия различных классов липопротеидов (ЛП) в формировании осложнений при сердечно-сосудистой патологии. Наиболее изученным является вклад липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в процессы формирования атеросклероза, усугубляющие течение основного заболевания [6]. Известно, что существует связь между дислипидемией и патогенезом гипертонической болезни. Несмотря на большое количество исследований, касающихся

Для корреспонденции:

Коваленко Татьяна Дмитриевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей и клинической биохимии №1 Ростовского государственного медицинского университета

Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29
Телефон: (863) 263-2081

Статья поступила 06.11.2008 г., принята к печати 31.03.2010 г.

ся обмена липидов при сердечно-сосудистой патологии, вклад окисленных и резистентных к окислению ЛП в развитие гипертонической болезни (ГБ) до конца не установлен. В этой связи актуальным и перспективным направлением в клинической лабораторной диагностике заболеваний сердечно-сосудистой системы следует считать поиск информативных и доступных биохимических критериев формирования групп риска женщин репродуктивного возраста по развитию ГБ.

Поскольку ЛП-частицы представляют собой сложный белково-липидный комплекс, то оценку повреждения транспортных форм липидов следует проводить с учетом деструкции как белкового, так и липидного компонентов [7]. Это связано с тем, что в плазме крови АКМ вызывают окислительную модификацию ЛПНП, в результате чего они становятся цитотоксичными и эффективно захватываются макрофагами через «сквинджер»-рецепторы. Окислительная модификация ЛПНП заключается в деградации полиненасыщенных жирных кислот с образованием реакционных коротких фрагментов, часть из которых ковалентно связывается с апопротеином В, преимущественно с ϵ -аминогруппами лизиновых остатков.

В задачи данного исследования входила оценка процессов свободнорадикального окисления в сыворотке крови женщин при ГБ по уровню окисленных и резистентных к окислению ЛП, а также уровню малонового диальдегида (МДА), внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ) и молекул средней массы (МСМ).

Пациенты и методы

На основании данных анамнеза жизни и заболевания, результатов ультразвукового и электрофизиологического исследований сердечной деятельности было выделено 2 группы обследуемых. Контрольная группа представлена 33 практически здоровыми женщинами репродуктивного возраста без признаков сердечно-сосудистой патологии. В клиническую группу были включены 35 женщин репродуктивного возраста с ГБ I стадии I степени, длительность основного заболевания которых не превышала 5–6 лет. Средний возраст обследуемых групп пациенток составил $25,3 \pm 2,8$ и $42,1 \pm 3,6$ соответственно.

Материалом для исследования выбрана сыворотка и плазма венозной крови, взятая натощак из кубитальной вены. Для достижения поставленной цели в сыворотке крови определяли общее количество β -ЛП по методу, описанному И.Тодоровым [8], окисленные ЛП – по Г.И.Музя [9], резистентные к окислению ЛП – по Ю.И.Рагино и соавт. [10], концентрацию МДА – по И.Д.Стальной и соавт. [11], МСМ – по А.А.Николаеву и соавт. [12] и ВЭГ плазмы – по В.В.Меньшикову [13].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам с определением средней арифметической, ошибки средней с использованием программы STADIA, версия 6.0 [14]. О достоверности показателей контрольной и клинической групп судили по величине t -критерия Стьюдента после проверки распределения на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p < 0,05$.

Таблица 1. Содержание липопротеидов сыворотки крови женщин репродуктивного возраста в норме и при гипертонической болезни ($M \pm m$)

Анализируемые параметры	Контрольная группа, $n = 33$	Клиническая группа, $n = 35$
В-липопротеиды, г/л	$3,76 \pm 0,312$	$6,70 \pm 0,453$ $p < 0,05^*$
Окисленные липопротеиды, нмольМДА/г белка ЛП	$5,35 \pm 0,221$	$8,81 \pm 0,470$ $p < 0,05^*$
Резистентные к окислению липопротеиды, нмольМДА/г белка ЛП	$4,21 \pm 0,336$	$0,63 \pm 0,05$ $p < 0,01^*$

* p – степень достоверности относительно контрольной группы.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе проведенного исследования обнаружено, что в сыворотке крови женщин при гипертонической болезни отмечается увеличение общего количества β -ЛП на 78,2% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы. При этом отмечается статистически достоверный рост количества окисленных ЛП на 64,7% ($p < 0,05$) при одновременном более выраженном снижении количества резистентных к окислению форм ЛП на 85,0% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы (табл. 1). Такое увеличение окисленных ЛП способствует росту концентрации цитозольного кальция в эндотелиальных клетках гладких мышц сосудов, а также тормозит высвобождение NO эндотелиальными клетками и уменьшает эндотелийзависимую вазодилатацию, что клинически проявляется ростом артериального давления (АД). Очевидно, рост концентрации цитозольного кальция в эндотелиальных клетках способствует его проникновению в митохондриальный матрикс и обеспечивает их кальциевую перегрузку [15], что приводит к дисфункции митохондрий и энергодифициту самих эндотелиоцитов.

Выраженное снижение концентрации резистентных к окислению ЛП свидетельствует об истощении их резерва как субстрата для процессов свободнорадикального окисления, что может служить биохимическим маркером длительности и тяжести процессов липидной пероксидации.

Есть мнение [16], что при нарушении рецептор-опосредованного эндоцитоза ЛП-частиц жирные кислоты собираются в мембране и спонтанно формируют поры, через которые уходят ионы калия и поступают ионы натрия. Накопление натрия и воды увеличивает объем эндотелия, нарушается архитектура сосудистой стенки и происходит сужение просвета артериол, что сопровождается ростом периферического сопротивления. Не следует забывать о том, что сами окисленные ЛП стимулируют пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток и моноцитов в субэндотелий, повышают коагуляционную активность эндотелия, увеличивают апоптоз. Одним из ведущих механизмов снижения уровня нитроксильного радикала и формирования дисфункции эндотелия, вызываемых окисленными ЛП, является нарушение сопряжения L-аргинина и eNOS, заключающееся в нарушении транспорта аргинина в эндотелиальные клетки вследствие повышения ригидности клеточных мембран.

Необходимо указать, что ЛП-частицы, циркулируя в кровотоке, могут подвергаться окислительной модификации как непосредственно активными кислородными метаболита-

Таблица 2. Содержание МДА, МСМ сыворотки и ВЭГ плазмы крови женщин репродуктивного возраста в норме и при гипертонической болезни ($M \pm m$)

Анализируемые параметры	Контрольная группа, $n = 33$	Клиническая группа, $n = 35$
Молекулы средней массы, г/л	$2,1 \pm 0,126$	$3,22 \pm 0,300$ $p < 0,05^*$
Малоновый диальдегид, нмоль/г белка	$14,02 \pm 0,560$	$27,24 \pm 0,827$ $p < 0,05^*$
Внеэритроцитарный гемоглобин, нмоль/л	$29,0 \pm 1,13$	$44,6 \pm 1,56$ $p < 0,05^*$

* p – степень достоверности относительно контрольной группы.

ми, так и другими компонентами, в частности, металлами переменной валентности. В этой связи представляет значительный интерес определение роли в этом процессе ионов железа. При выраженном росте концентрации ВЭГ на 51,7% ($p < 0,05$) становится возможной стимуляция Fe-индуцированного окисления ЛПНП и ЛПОНП сыворотки крови.

Уровень процессов липидной пероксидации мы оценивали по накоплению ТБК-активных продуктов. Отмечается статистически достоверный рост концентрации МДА сыворотки крови на 94,3% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы (табл. 2). Такие изменения свидетельствуют о протекании процессов свободнорадикального окисления в сыворотке крови на достаточно высоком уровне. Значительное накопление ТБК-активных продуктов в сыворотке крови, обладающих вазоконстрикторным действием, способствует формированию эндотелиальной дисфункции и спазму сосудов, что также вызывает рост АД.

Необходимо отметить тот факт, что у пациенток клинической группы при ГБ наблюдается значительное накопление и МСМ в сыворотке крови. Их концентрация оказалась выше значений контрольной группы на 53,3% ($p < 0,05$). Следовательно, можно полагать, что при ГБ имеет место повреждение как липидной части липопротеидных частиц, так и белковой, что способствует их окислительной модификации и является пептидной основой развития ГБ. Данные изменения могут явиться причиной угнетения синтеза NO, а это, в свою очередь, снижает эндотелийзависимую вазодилатацию. Кроме того, известно, что МСМ могут влиять и на тонус гладкомышечных клеток. Вместе с тем механизмы этого не ясны в полной мере. По отношению к сосудистой стенке предполагают прямое действие на клеточные мембраны по принципу рецепторных взаимодействий или токсических ядов, либо опосредованное воздействие на сосудистое русло через активацию тромбоцитов и лейкоцитов [17]. Очевидно, МСМ можно отнести не только к маркерам эндогенной интоксикации, но и к молекулярным вазоконстрикторам, участвующим в биохимических механизмах регуляции уровня АД.

Выводы

Установлено, что при ГБ отмечается окислительная модификация ЛПНП и ЛПОНП за счет изменения их липидного и белкового компонентов. Подобная картина сочетается с ростом МДА и МСМ, что свидетельствует о развитии эндогенной интоксикации и обеспечивает молекулярную основу развития вазоконстрикторных реакций в начальной стадии развития гипертонической болезни. Полученный фактический материал свидетельствует о том, что уровень окисленных ЛП

может быть использован в качестве интегрального показателя окислительного повреждения организма при гипертонической болезни, а также служить биохимическим критерием выявления групп риска по развитию данной патологии.

Литература

1. Адаменко А.Н., Прохорович Е.А., Ткачук О.Н. и др. Артериальная гипертония у женщин репродуктивного возраста // Рус. мед. журн. – 2007. – Т.15. – №20. – С.1440–1443.
2. Бурцев В.И. Актуальные вопросы артериальной гипертонии в клинической практике // Клин. мед. – 2005. – №8. – С.25–32.
3. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: биохимические и патофизиологические аспекты. – М.: МАИК «Наука/интерпериодика». – 2001. – 343 с.
4. Nouroozzadeh J., Tajaddinisarmadi J., Ling K.L. et al. Low-density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroxylation of total plasma lipid hydroperoxide concentration // Biochim. J. – 1996. – V.313. – P.781–786.
5. Coleman R.A. The role of placenta in lipid metabolism and transport // Seminars Perinatol. – 1989. – V.13. – №13. – P.180–191.
6. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. – М.: Слово. – 2006. – 556 с.
7. Коробейникова Э.Н. Окислительная модификация белков сыворотки крови у больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью с диспротеинемией и без нее // Клин. лаборат. диагн. – 2006. – №2. – С.22–24.
8. Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. – София. – 1963. – С.726–728.
9. Музя Г.И., Куликов В.И., Пономарева И.В. и др. Окисление липопротеинов в крови женщин при патологическом течении беременности // Клин. лаборат. диагн. – 1999. – №3. – С.8–10.
10. Рагино Ю.Н., Душкин М.И. Резистентность к окислению гепаринсодержащих β -липопротеидов сыворотки крови при ишемической болезни сердца // Клин. лаборат. диагн. – 1998. – №11. – С.3–5.
11. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии. – 1974. – М.: Медицина. – С.66–68.
12. Николаев А.А., Поринев Д.В., Меснянкин А.П. и др. Средние молекулы и их фракции при астраханской риккетсиозной лихорадке // Клин. лаборат. диагн. – 1999. – №6. – С.41–43.
13. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина. – 1987. – 386 с.
14. Кулайчев А.П. Методы и средства анализа данных в среде Windows Stadia 6.0. – М.: Информатика и компьютеры. – 1996. – 257 с.
15. Постнов Ю.В. Недостаточность образования АТФ в связи с кальцевой перегрузкой митохондрий как источник повышения артериального давления при первичной гипертензии // Кардиология. – 2005. – Т.45 – №10/1. – С.4–10.
16. Титов В.Н. Биохимические маркеры эндотелия и его роль в единении функционально разных пулов межклеточной среды и пула внутрисосудистой жидкости // Клин. лаборат. диагн. – 2007. – №4. – С.6–15.
17. Марков Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции эндотелия // Кардиология. – 2005. – №12. – С.62–72.

Информация об авторах:

Олемпиева Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей и клинической биохимии №1 Ростовского государственного медицинского университета
Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29
Телефон: (863) 263-2081
E-mail: olempieva@yandex.ru

Микашинович Зоя Ивановна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической биохимии №1 Ростовского государственного медицинского университета
Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29
Телефон: (863) 263-2081