

Соотношение показателей системного воспаления, окислительного стресса и редокс-статуса глутатиона у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2-го типа

А.Г. Мойсеёнок¹, И.В. Буко², И.В. Горудко³, Е.Э. Константинова²,
Н.Л. Цапаева⁴, А.Г. Мрочек²

¹ Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь

³ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

⁴ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Мойсеёнок А.Г. — доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент Национальной академии наук (НАН) Беларуси, главный научный сотрудник отдела питания Научно-практического центра НАН Беларуси по продовольствию; Буко И.В. — научный сотрудник лаборатории хронической сердечной недостаточности Республиканского научно-практического центра «Кардиология» (РПНЦ «Кардиология»); Горудко И.В. — кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник кафедры биологии физического факультета Белорусского государственного университета; Константинова Е.Э. — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории хронической сердечной недостаточности РПНЦ «Кардиология»; Цапаева Н.Л. — доктор медицинских наук, профессор 3-й кафедры внутренних болезней Белорусского государственного медицинского университета; Мрочек А.Г. — доктор медицинских наук, профессор, академик НАН Беларуси, директор РПНЦ «Кардиология».

Контактная информация: Республиканский научно-практический центр «Кардиология», ул. Р. Люксембург, д. 110, Минск, Беларусь, 220036. Тел.: 8–10 (375) 222–01–69. E-mail: buko_iv@rambler.ru (Буко Инна Вацлавовна).

Резюме

Цель исследования — изучение и сопоставление показателей системного воспаления и редокс-потенциала глутатиона эритроцитов на фоне хронического окислительного стресса (ОС) у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), сахарным диабетом 2-го типа (СД2) и сочетанием обеих патологий. **Материалы и методы.** Обследовано 35 пациентов с ИБС и впервые выявленным СД2, 109 пациентов с ИБС, 19 пациентов с СД2, а также 89 практически здоровых лиц. Исследовали показатели системного воспаления, включая концентрацию интерлейкинов (ИЛ) 6 и 8, миелопероксидазы (МПО) и ОС в плазме крови, содержание окисленной (GSSG) и восстановленной (GSH) форм глутатиона, их соотношение, редокс-потенциал (E_h), активность глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП) в эритроцитах. **Результаты.** Значительный рост показателей системного воспаления (ИЛ-6, ИЛ-8, МПО) на фоне ослабления ферментативного звена антиоксидантной защиты зарегистрирован у пациентов при сочетании ИБС и СД2, у которых выявлено падение уровня GSH в 3,4 раза, соотношения 2GSH/GSSH в 5,8 раза в эритроцитах и величины E_h на 36,3 мВ в сторону окисленного состояния. Менее выраженные изменения показателей установлены в группе пациентов с ИБС, и отсутствовали изменения в группе с СД2. У всех обследованных наблюдали снижение активности ГП и увеличение уровня гликозилированного гемоглобина. Корреляция между E_h и активностью ГР установлена для всех пациентов с нарушением углеводного обмена. Выявлена прямая корреляция между концентрацией ИЛ и показателями ГР, E_h эритроцитов пациентов с ИБС и СД2. Указывается на необходимость контроля и коррекции клеточного редокс-потенциала у пациентов с ИБС и СД2. **Выводы.** Сочетание ИБС и СД2 приводит к падению редокс-статуса глутатиона эритроцитов на фоне увеличения показателей системной воспалительной реакции и хронического ОС.

Ключевые слова: интерлейкины, миелопероксидаза, окислительный стресс, уровень и редокс-потенциал глутатиона эритроцитов, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет 2-го типа.

The ratio of systemic inflammation, oxidative stress and glutathione redox status indicators in patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus

A.G. Moiseenok¹, I.V. Buko², I.V. Gorudko³, E.E. Konstantinova²,
N.L. Tsapaeva⁴, A.G. Mrochek²

¹Scientific-Practical Center for Foodstuffs National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

²Republican Scientific-Practical Center «Cardiology», Minsk, Belarus

³Belorussian State University, Minsk, Belarus

⁴Belorussian State Medical University, Minsk, Belarus

Corresponding author: Republican Scientific-Practical Center «Cardiology», 110 R. Luxemburg st., Minsk, Belorussia, 220036. Phone: 8–10 (375) 222–01–69. E-mail: buko_iv@rambler.ru (Inna V. Buko, a Researcher at the Laboratory of Chronic Heart Failure at Republican Scientific-Practical Center «Cardiology»).

Abstract

Objective. To study and compare indicators of systemic inflammation and red blood cells glutathione redox potential by chronic oxidative stress (OS) in patients with coronary heart disease (CHD), type 2 diabetes mellitus (T2DM) and the combination of both diseases. **Design and methods.** The study included 35 patients with CHD and newly diagnosed T2DM, 109 patients with CHD, 19 patients with T2DM, and 89 healthy individuals. Systemic inflammation indicators were measured including concentration of interleukin (IL) 6 and 8, myeloperoxidase (MPO) and OS in plasma, oxidized (GSSG) and reduced (GSH) glutathione, as well as their ratio and redox potential (E_h), the activity of glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GP) in red blood cells. **Results.** Significant growth of systemic inflammation (IL-6, IL-8, MPO) indicators on the weakening antioxidant defense enzyme has been registered in patients with a combination of CHD and T2DM, a 3,4-fold reduction of GSH level, 5,8-fold of 2GSH/GSSH in red blood cells and E_h values towards the oxidized state at 36,3 mV were noted. These changes were less pronounced in CHD group and were absent in T2DM group. All subjects showed a decreased activity of GP and increased level of glycosylated hemoglobin. The correlation of E_h and activity GR have been found in patients with carbohydrate metabolism disorder. High positive relationship between IL concentration and red blood cells GR, E_h indicators has been identified in patients with CHD and T2DM. There is a need to control and correct cellular redox potential in patients with CHD and T2DM. **Conclusion.** The combination of CHD and T2DM contributes to the decrease of red blood cells redox status glutathione secondary to the increased systemic inflammatory response and chronic OS indicators.

Key words: interleukins, myeloperoxidase, oxidative stress, red blood cells glutathione levels and redox potential, coronary heart disease, type 2 diabetes mellitus.

Статья поступила в редакцию: 23.07.13. и принята к печати: 10.08.13.

Введение

Процесс системного воспаления наряду с эндотелиальной дисфункцией является важнейшим патогенетическим механизмом развития артериальной гипертензии (АГ), ишемической болезни сердца (ИБС), ассоциированных с ними сердечно-сосудистых заболеваний. Установлена значимость всего каскада воспалительных реакций в стенке сосуда, нарастания провоспалительного и прооксидантного потенциала в увеличении сердечно-сосудистого риска, прогрессировании заболевания, отягощении состояния пациентов и возникновении фатальных исходов у лиц с нарушениями углеводного обмена [1–5].

Развитие острого коронарного синдрома у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД2)

с высокой частотой летальных исходов является следствием неконтролируемого состояния ключевых факторов, предопределяющих статус гемостаза, стабильность атеросклеротической бляшки и состояния эндотелия в целом, устойчивость противосвертывающей системы, функциональных характеристик форменных элементов крови и ее реологических свойств. Маркеры системного воспаления, такие как С-реактивный белок, провоспалительные интерлейкины, интегральные показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса, тромбогенной угрозы обладают значительной, но не исчерпывающей предикторной ценностью. Есть основания полагать, что при сочетании кардиоваскулярной патологии с СД2 дополнительным патогенетическим фактором

отягощения патологического процесса является нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза (системного редокс-статуса) [6–9].

Редокс-гомеостаз, регуляторный и повреждающий потенциал которого достаточно определенно выходит за пределы традиционной схемы окислительного стресса (ОС) [4] и включает механизмы внутриклеточной сигнализации (редокс-сигнализации), рост, дифференцировку клеток и апоптоз, кальциевый гомеостаз, редокс-чувствительные ферменты, приобретает концептуальное значение (в форме редокс-гипотезы) при ряде патологических состояний организма и, прежде всего, в ангиологии и кардиологии. Установлено, что редокс-потенциал тиол-дисульфидной пары цистеин/цистин в плазме крови является прогностическим тестом сердечно-сосудистого неблагополучия при наличии признанных факторов риска и в многофакторном регрессионном анализе приобретает решающее значение [10, 11]. Роль другой редокс-пары — восстановленного и окисленного глутатиона (2GSH/GSSG) — заслуживает не менее пристального внимания.

Показано, что интенсивное гликозилирование белков при СД2 сопровождается сдвигом редокс-потенциала (E_h) системы глутатиона эритроцитов и, вероятно, других компонентов крови, что влечет за собой нарушение кислород-транспортной функции крови, адгезивных и реологических свойств эритроцитов, возникновение проагрегационного состояния [12]. Активизация провоспалительной сигнализации продуктами эндотелиальных клеток, фибробластов, моноцитов осуществляется посредством редокс-зависимых механизмов, то есть во взаимосвязи с колебаниями E_h в клеточном или внеклеточном пространстве [9, 10].

Интегрирующим тестом редокс-гомеостаза принимаются значения редокс-потенциала, составляющие для редокс-пары 2GSH/GSSG в плазме крови 140 мВ, в эритроцитах — 190 мВ, а для пары 2Cys/CySS плазмы крови — 80 мВ [13]. Соотношение компонентов не является равновесным, а степень восстановленности зависит от ряда факторов, в особенности, от возраста, снижаясь (после 45 лет) на величину 0,7 мВ/год (2GSH/GSSG) или на 0,2 мВ/год (2Cys/CySS) [14]. Общепринято, что редокс-показатель эритроцитов, рассчитанный по уравнению Нернста, отражает системный редокс-статус организма [15].

Целью настоящего исследования было изучение и сопоставление показателей системного воспаления и редокс-потенциала глутатиона эритроцитов на фоне хронического ОС, характерного для пациентов с сочетанием ИБС и СД2. Аналогичные

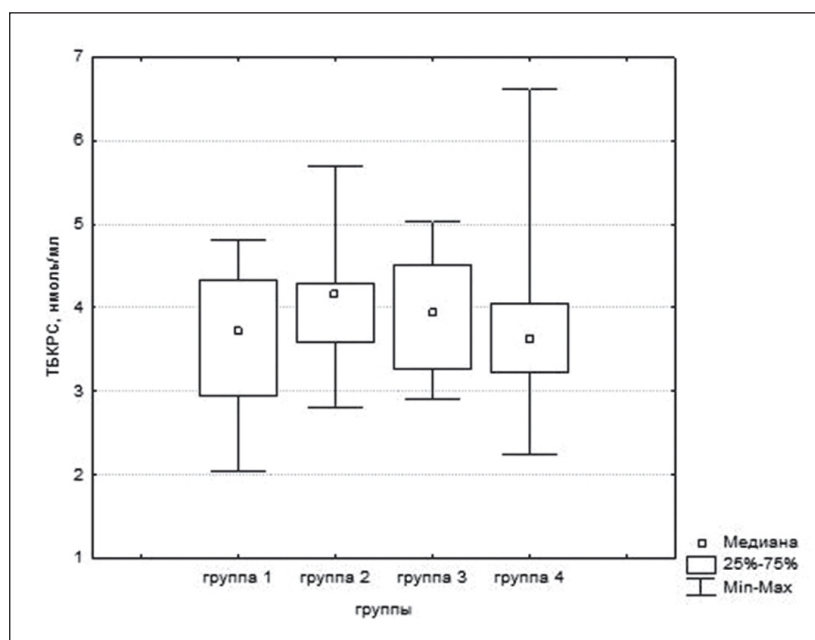
исследования проведены на близких по возрасту группах пациентов с ИБС или СД2.

Материалы и методы

Алгоритм включения в исследование состоял из 3 этапов: 1 — установление диагноза СД2 и стадии клинικο-метаболической компенсации заболевания эндокринологом [«Клинический протокол диагностики и лечения пациентов с заболеванием СД2 (инсулиннезависимый), Приложение 3 к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 01.06.2009, № 532»]; 2 — консультация офтальмолога и невропатолога, ультразвуковое исследование артерий брахиоцефального бассейна, почечных и периферических артерий для ранней диагностики макро- и микроангиопатий; 3 — установление наличия или отсутствия ИБС (стабильной стенокардии напряжения) по результатам велоэргометрической пробы, суточного мониторинга электрокардиограммы, ЭХО-кардиографии и в ряде случаев коронарографии. Таким образом, в исследование было включено 252 человека. Из них 35 пациентов (29 мужчин и 6 женщин) с ИБС и СД2 (средний возраст $58,3 \pm 1,3$ года) — группа 1; 109 человек (67 мужчин и 42 женщины) с ИБС без признаков СД2 (средний возраст $54,7 \pm 0,8$ года) — группа 2; 19 человек (8 мужчин и 11 женщин) с СД2 (средний возраст $47,3 \pm 1,6$ года) — группа 3; 89 практически здоровых лиц (48 мужчин и 41 женщина) (средний возраст $42,2 \pm 0,8$ года) — группа 4. Кровь для биохимических исследований забирали утром натощак из локтевой вены, не ранее чем через 12 часов после последнего приема пищи в первые сутки пребывания пациента в стационаре.

Гликозилированный гемоглобин (HbA_{1c}) определялся турбидиметрически с применением коммерческих наборов реактивов фирмы «BESKMAN COULTER» (США). Содержание глюкозы крови исследовали ферментативным глюкозооксидазным методом. Содержание общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицеридов (ТГ) плазмы крови определяли ферментативным методом с использованием стандартных реактивов фирмы «CORMAY» (Польша). Уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) вычисляли по формуле Фридвальда. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) измеряли концентрации интерлейкинов (ИЛ-6 и ИЛ-8) с применением коммерческих наборов реактивов фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Измерение концентрации миелопероксидазы (МПО) в плазме крови осуществляли ИФА в модификации [16]. Концентрацию соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), суммарную

Рисунок 1. Концентрация ТБКРС в плазме крови пациентов групп 1–3 и практически здоровых лиц



Примечание: ТБКРС — соединения, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой.

антиоксидантную активность (АОА) в плазме крови, активность супероксиддисмутазы (СОД) цельной крови и каталазы (КАТ) плазмы крови, содержание окисленной (GSSG) и восстановленной (GSH) форм глутатиона, редокс-потенциал (E_h), активность глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП) в эритроцитах определяли по методам, описанным нами ранее [17].

Статистическую обработку материала проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Непрерывные переменные представлены в виде медианы (Me), нижней и верхней квартилей (LQ и UQ). Для оценки статистической значимости различий количественных признаков в группах был использован *U*-критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для расчета коэффициента корреляции применяли ранговый метод Спирмена.

Результаты

В капиллярной крови пациентов групп 1 и 3 концентрация глюкозы была выше, чем в группе 4 [группа 1 — 6,16 (5,69; 6,86) ммоль/л, $p < 0,001$; группа 2 — 5,49 (4,90; 5,76) ммоль/л, $p = 1,000$; группа 3 — 6,88 (5,84; 7,56) ммоль/л, $p < 0,001$; группа 4 — 5,15 (4,97; 5,37) ммоль/л]. У пациентов группы 3 установлена повышенная концентрация ОХС в плазме крови [5,89 (4,96; 7,22) ммоль/л] по сравнению с аналогичными показателями в группах 1 [5,31 (4,31; 6,09) ммоль/л, $p = 0,050$] и 4 [5,37 (4,20; 6,74) ммоль/л, $p = 0,148$]. В группе 2 этот по-

казатель составил 5,00 (4,40; 5,78) ммоль/л. Высокое содержание ТГ в плазме крови наблюдалось у лиц группы 1 [1,98 (1,53; 2,31) ммоль/л, $p < 0,001$] и группы 3 [2,17 (1,36; 3,08) ммоль/л, $p < 0,001$], в то время как в группе 4 содержание ТГ в плазме крови составило 1,05 (0,63; 1,60) ммоль/л. Этот показатель в группе 2 [1,36 (0,89; 2,00) ммоль/л] также превысил норму, но отличался от такового в группах 1 и 3. Не выявлено также различий между содержанием ХС ЛПВП в обследованных группах.

Все обследованные пациенты характеризовались наличием умеренного лейкоцитоза, несколько более выраженного у больных группы 1, у которых содержание ИЛ-6 в плазме крови значительно возросло как относительно уровня у здоровых лиц (в 1,9 раза), так и группы лиц с СД2 (в 1,6 раза). Аналогичный рост (в 1,9 раза) наблюдался и в отношении показателя ИЛ-8. Концентрация МПО также значительно возросла у пациентов группы 1 (при наличии тенденции к увеличению у лиц с СД2), однако показатель активности фермента во всех наблюдаемых группах пациентов не отличался от контроля (данные не приводятся). Рост фибриногенемии как дополнительного показателя системной воспалительной реакции наблюдался у всех пациентов с ИБС (при СД2 исследования не проведены), и степень увеличения оказалась несколько большей при сочетанной патологии (табл. 1).

Результаты исследований показателей ОС в плазме и эритроцитах периферической крови показали существенные отличия между тремя группами

Таблица 1

ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП

Показатели	Группа 1 (ИБС + СД2)	Группа 2 (ИБС, без СД 2)	Группа 3 (СД2, без ИБС)	Группа 4 (практически здоровые лица)	p
	1	2	3	4	
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	6,90 (5,90; 7,50)	6,60 (5,90; 7,00)	6,70 (5,90; 9,00)	5,70 (5,10; 6,85)	$p_{1-2} = 0,692$ $p_{1-3} = 0,738$ $p_{1-4} = 0,033$ $p_{2-3} = 0,662$ $p_{2-4} = 0,025$ $p_{3-4} = 0,035$
ИЛ-6, пг/мл	3,49 (3,33; 4,87)	2,74 (1,62; 3,86)	2,23 (1,58; 3,15)	1,86 (1,48; 2,46)	$p_{1-2} = 0,602$ $p_{1-3} = 0,027$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,667$ $p_{2-4} = 0,564$ $p_{3-4} = 0,533$
ИЛ-8, пг/мл	9,56 (5,64; 11,90)	7,53 (3,44; 11,61)	6,29 (4,55; 10,56)	5,00 (4,42; 6,45)	$p_{1-2} = 0,794$ $p_{1-3} = 0,374$ $p_{1-4} = 0,041$ $p_{2-3} = 0,830$ $p_{2-4} = 0,790$ $p_{3-4} = 0,380$
МПО, нг/мл	51,00 (26,90; 101,31)	40,20 (14,50; 46,00)	46,90 (36,80; 86,50)	23,20 (18,80; 43,05)	$p_{1-2} = 0,281$ $p_{1-3} = 0,866$ $p_{1-4} = 0,004$ $p_{2-3} = 0,201$ $p_{2-4} = 0,872$ $p_{3-4} = 0,049$
ФГ, г/л	3,72 (2,95; 4,05)	2,87 (2,09; 3,85)	—	1,65 (1,33; 2,22)	$p_{1-2} = 0,097$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,002$

Примечание: ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД2 — сахарный диабет 2-го типа; ИЛ-6 — интерлейкин 6; ИЛ-8 — интерлейкин 8; МПО — миелопероксидаза; ФГ — фибриноген.

пациентов. Как следует из рисунка 1, содержание вторичных продуктов перекисного окисления липидов в виде показателя ТБКРС у пациентов с ИБС и СД2 (группа 1), как и при СД2 (группа 3), вовсе не отличалось от контроля (группа 4). В то же время этот показатель в группе 2 (больные ИБС) был повышен относительно показателей в группе 3 в 1,1 раза ($p = 0,046$) и в группе 4 в 1,2 раза ($p < 0,001$). В значительной мере этому соответствуют результаты исследования ферментативного звена антиоксидантной защиты, свидетельствующие о резкой активации СОД и глубоком падении активности ГП эритроцитов и, в меньшей мере чем в группе с СД2, каталазы плазмы крови у пациентов группы 2. Изменения активности СОД у больных СД2 (группы 1 и 3) были схожими (снижение), как и активности ГП эритроцитов (табл. 2). Результаты исследования

содержания гликированного гемоглобина показывают его увеличение у всех обследованных пациентов по сравнению со здоровыми лицами [5,90 (5,25; 6,30) %, $p = 0,073$ — группа 1; 6,16 (5,69; 6,86) %, $p = 0,039$ — группа 2; 5,40 (5,20; 5,70) % — группа 4]. Представленные данные позволяют утверждать, что выраженность ОС у обследованных больных по показателям ТБКРС и активности СОД оказалась максимальной у пациентов с ИБС (группа 2), тогда как у пациентов с СД2, в том числе при сочетании с ИБС, изменения указанных показателей носили противоположный характер (активность СОД), были менее выражены (активность ГП и КАТ) или вовсе отсутствовали (концентрация ТБКРС). Сравнительный анализ показывает, что события ОС у пациентов с ИБС выявлены на фоне умеренной триглицеридемии и практически отсутствующих

Таблица 2

**АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАТНОЙ ЗАЩИТЫ
В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП**

Показатели	Группа 1 (ИБС + СД2)	Группа 2 (ИБС, без СД 2)	Группа 3 (СД2, без ИБС)	Группа 4 (практически здоровые лица)	p
	1	2	3	4	
ГП, ммоль/мин	56,65 (37,57; 67,63)	45,58 (36,73; 52,32)	50,61 (34,46; 81,56)	80,28 (59,26; 100,35)	$p_{1-2} = 0,066$ $p_{1-3} = 0,974$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,398$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,007$
ГР, ммоль/мин	1,13 (0,81; 1,33)	1,10 (0,93; 1,40)	0,81 (0,78; 1,25)	0,97 (0,74; 1,11)	$p_{1-2} = 0,923$ $p_{1-3} = 0,281$ $p_{1-4} = 0,046$ $p_{2-3} = 0,125$ $p_{2-4} = 0,039$ $p_{3-4} = 0,689$
СОД, усл. ед./мл	63,83 (43,10; 75,19)	160,89 (131,05; 213,09)	67,17 (33,55; 112,90)	89,87 (73,70; 115,29)	$p_{1-2} = 0,000$ $p_{1-3} = 0,875$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,037$
КАТ, мкат/л	13,05 (9,32; 23,17)	19,71 (11,72; 29,06)	13,05 (9,06; 22,37)	23,18 (16,78; 28,24)	$p_{1-2} = 0,066$ $p_{1-3} = 0,758$ $p_{1-4} = 0,004$ $p_{2-3} = 0,026$ $p_{2-4} = 0,123$ $p_{3-4} = 0,001$

Примечание: ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД2 — сахарный диабет 2-го типа; ГП — глутатионпероксидаза; ГР — глутатионредуктаза; СОД — супероксиддисмутаза; КАТ — каталаза.

гипергликемии и гиперхолестеринемии, тогда как манифестация этих показателей при СД2 (группы 1 и 3) была очевидной. Следовательно, степень увеличения концентрации ТГ у пациентов с ИБС без нарушений углеводного обмена была менее значимой, но проявления ОС были значительными.

В таблице 3 представлены данные изучения основных показателей системы глутатиона в эритроцитах обследованных лиц, свидетельствующие, что содержание общего глутатиона (GSht) у пациентов групп 1 и 2 снижается, тогда как у пациентов группы 3 различий с контролем не наблюдается. Можно говорить о более значительном снижении содержания GSht при сочетании ИБС и СД2, поскольку оно носит более чем двухкратный характер относительно контроля и значительно ниже уровня GSht эритроцитов у пациентов с ИБС (группа 2). Содержание глутатиона в окисленной форме

было равнозначно повышенным во всех группах обследованных лиц, но существенно отличалось от нормальных величин только у больных ИБС (группы 1 и 2). Разница между показателями GSht и GSSG определяет величину восстановленного глутатиона, которая была существенно снижена при ИБС (группы 1 и 2), тогда как у лиц с СД2 значительных изменений относительно нормы не установлено.

Чрезвычайно важный в отношении внутри-эритроцитарного и внутрисосудистого редокс-гомеостаза показатель 2GSH/GSSG был низким у пациентов групп 1 и 2, но не у больных СД2. В свою очередь отличие показателя у пациентов групп 1 и 2 достигло более чем двухкратной величины с высокой степенью статистической значимости. Активность ГР возрастала в эритроцитах первых двух групп обследованных лиц (табл. 2), что, вероятно,

Таблица 3

ПОКАЗАТЕЛИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ РЕДОКС-СВОЙСТВА КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП

Показатели	Группа 1 (ИБС + СД2)	Группа 2 (ИБС, без СД 2)	Группа 3 (СД2, без ИБС)	Группа 4 (практически здоровые лица)	р
	1	2	3	4	
GSHt, ммоль/л	1,37 (1,09; 2,37)	2,20 (2,07; 2,50)	2,93 (1,60; 5,66)	3,23 (2,17; 4,54)	$p_{1-2} = 0,005$ $p_{1-3} = 0,007$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,308$ $p_{2-4} = 0,005$ $p_{3-4} = 0,760$
GSSG, ммоль/л	0,36 (0,32; 0,40)	0,36 (0,33; 0,38)	0,36 (0,31; 0,38)	0,31 (0,27; 0,36)	$p_{1-2} = 0,928$ $p_{1-3} = 0,463$ $p_{1-4} = 0,004$ $p_{2-3} = 0,406$ $p_{2-4} = 0,002$ $p_{3-4} = 0,289$
GSH, ммоль/л	0,76 (0,35; 1,84)	1,47 (1,32; 1,88)	2,86 (0,86; 5,14)	2,64 (1,53; 4,06)	$p_{1-2} = 0,018$ $p_{1-3} = 0,020$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,270$ $p_{2-4} = 0,003$ $p_{3-4} = 0,850$
2GSH/GSSG, усл.ед.	2,10 (0,93; 4,74)	4,41 (3,55; 5,37)	5,95 (2,18; 15,40)	9,82 (5,07; 14,91)	$p_{1-2} = 0,007$ $p_{1-3} = 0,024$ $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,426$ $p_{2-4} = 0,002$ $p_{3-4} = 0,402$

Примечание: ИБС — ишемическая болезнь сердца; СД2 — сахарный диабет 2-го типа; GSHt — общий глутатион; GSSG — глутатион в окисленной форме; GSH — глутатион в восстановленной форме; 2GSH/GSSG — соотношение глутатиона в восстановленной форме к глутатиону в окисленной форме.

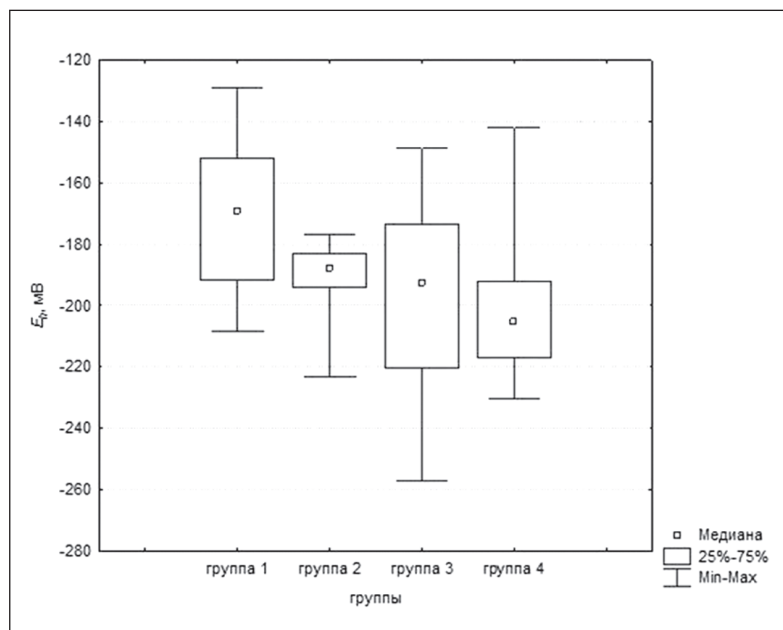
являлось следствием уменьшения концентрации GSH и снижения его редокс-статуса в эритроцитах лиц с ИБС.

Как следует из рисунка 2, глубокое падение соотношения 2GSH/GSSG глутатиона эритроцитов предопределяет изменение редокс-потенциала (E_h) глутатиона, рассчитанного согласно формуле Нернста, который увеличивается (становится более окисленным), но только у пациентов с ИБС (группы 1 и 2) это изменение носило статистически значимый характер. Как следует из таблицы 3, снижение соотношения 2GSH/GSSG в эритроцитах было более чем четырехкратным относительно контроля, а изменение величины E_h достигало только 18 %. Таким образом, соотношение 2GSH/GSSG эритроцитов существенно падает при ИБС и обуславливает увеличение (переход в более окисленное состояние) величины E_h . Это изменение особенно

выражено у пациентов с ИБС и СД2 и отсутствует у пациентов с СД2.

Из полученных данных следует, что выявленным сдвигам окислительно-восстановительного гомеостаза эритроцитов не сопутствует направленность изменений показателей ОС, гипергликемии и дислипидемии. В частности, концентрация ТГ была повышенной у пациентов с СД2 (группы 1 и 3), но это повышение было значительно менее выражено у пациентов с ИБС (группа 2). Последняя группа характеризовалась максимальным проявлением ОС. В то же время сдвиги показателей системного воспаления по своей направленности и глубине были достаточно схожими с таковыми значениями E_h , что указывает на взаимосвязь развития системной воспалительной реакции и изменений эритроцитарного восстановительного потенциала, в котором основная роль принадлежит системе глутатиона.

Рисунок 2. Редокс-потенциал глутатиона в эритроцитах пациентов групп 1–3 и практически здоровых лиц



В связи с возможным эффектом сопутствующей АГ на уровень показателей или их соотношение у пациентов с ИБС и СД2 (группа 1) и ИБС (группа 2), был осуществлен анализ влияния этого фактора на исследованные тесты ОС, системного воспаления и глутатиона эритроцитов. По всему массиву данных влияния АГ не установлено, за исключением относительно высокой активности СОД крови больных СД2 с сочетанием АГ. В то же время этот фактор не сказался дополнительно на увеличенной активности СОД у пациентов с ИБС: [174,68 (85,32; 224,81) усл. ед./мл — пациенты группы 2 с АГ; 153,71 (132,13; 192,23) усл. ед./мл — пациенты группы 2 без АГ, $p = 0,787$].

Выраженность патохимических изменений показателей системы глутатиона, прежде всего, соотношения 2GSH/GSSG, редокс-потенциала глутатиона эритроцитов у пациентов с сочетанием ИБС и СД2 во многом предопределяется состоянием и субстратным обеспечением глутатионредуктазной реакции. Для данной группы пациентов (группа 1) характерна положительная корреляция между активностью ГР и величиной E_h ($R = 0,731$, $p < 0,001$), отрицательная — между ГР и концентрацией GSHt, GSH и величиной 2GSH/GSSG ($R = -0,644$, $p < 0,001$; $R = -0,696$, $p < 0,001$ и $R = -0,588$, $p = 0,003$ соответственно). Противоположная по направленности взаимосвязь наблюдается у пациентов с ИБС (группа 2): между активностью ГР и содержанием GSHt ($R = 0,579$, $p = 0,009$), ГР и GSH ($R = 0,552$, $p = 0,018$) с очевидной тенденцией к проявлению обратной

корреляции между активностью ГР и величины E_h . В то же время при СД2 (группа 3) взаимосвязи активности ГР были схожи с таковыми в группе 1: между активностью ГР и величиной 2GSH/GSSG ($R = -0,627$, $p = 0,029$), ГР и значением E_h ($R = 0,597$, $p = 0,053$). У здоровых лиц подобная взаимосвязь не наблюдается вовсе.

Вышеуказанные критерии взаимосвязи активности ГР свидетельствуют о редокс-чувствительности фермента и существовании своеобразного механизма регуляции его активности при модуляции соотношения восстановленной и окисленной форм глутатиона эритроцитов в условиях сочетанной патологии. Прослеживается роль диабетического фактора (более чем ишемического) в «обрушении» восстановительного потенциала эритроцитов пациентов ИБС и СД2 (группа 1) за счет глутатионредуктазного компонента стабилизации GSH. Только у лиц СД2 выявляется высокая положительная корреляция между гипергликемией и показателями GSHt, GSH и 2GSH/GSSG эритроцитов ($R = 0,827$, $p = 0,042$) и отрицательная — с показателем E_h ($R = -0,829$, $p = 0,042$). Для обеих групп пациентов с СД2 (группы 1 и 3) характерна корреляция показателей системы глутатиона и ОС. В меньшей мере она проявляется у больных ИБС (группа 2) между показателями АОА и 2GSH/GSSG ($R = -0,500$, $p = 0,041$), GSSG ($R = 0,480$, $p = 0,050$), E_h ($R = 0,476$, $p = 0,054$). Более выраженная взаимосвязь установлена для соотношения АОА/ТБКРС и показателей GSSG ($R = 0,488$, $p = 0,047$), GSH ($R = -0,503$, $p = 0,040$), 2GSH/GSSG ($R = -0,664$, $p = 0,004$), E_h ($R = 0,637$, $p = 0,006$).

Как известно, хроническое воспаление, в том числе бессимптомное, является дополнительным фактором риска развития АГ и ИБС [18]. Воспалительный статус во многом предопределяет тяжесть течения и развития осложнений СД2 [8]. В какой мере может проявиться взаимосвязь маркеров системного воспаления и окислительно-восстановительного статуса системы глутатиона эритроцитов при сочетании ИБС и СД2?

Неспецифические тесты системного воспаления, такие как лейкоцитоз, фибриногенемия, заметно увеличенные у всех обследованных пациентов (табл. 1), только у больных ИБС и СД2 (группа 1) взаимосвязаны с показателями эритроцитарного глутатиона. Это иллюстрируется отрицательной корреляцией между лейкоцитозом и содержанием GSSG ($R = -0,498$, $p = 0,050$) и положительной — между фибриногенемией и концентрацией GSHt ($R = 0,714$, $p = 0,070$) или GSH ($R = 0,900$, $p = 0,037$) у пациентов группы 1. В этой связи особое значение приобретают результаты исследования (табл. 1) и выявление взаимосвязей медиаторов иммунного ответа и воспаления — ИЛ-6 (провоспалительное и иммунорегуляторное действие) и ИЛ-8 (активация нейтрофилов, хемотаксиса Т-лимфоцитов, адгезии макрофагов, ангиогенеза) с исследованными нами показателями ОС и окислительно-восстановительного статуса эритроцитов. У практически здоровых лиц наличие корреляций не установлено, за исключением взаимосвязи между уровнем ИЛ-8 и содержанием GSHt ($R = -0,488$, $p = 0,021$), GSH ($R = -0,438$, $p = 0,042$), 2GSH/GSSG ($R = -0,463$, $p = 0,030$) и отрицательной корреляции ИЛ-8 и величины E_h ($R = 0,442$, $p = 0,045$). Указанное отсутствует у пациентов с СД2 (группа 3). У пациентов с ИБС без СД2 определено наличие обратной корреляции между эритроцитарным уровнем GSSG и содержанием ИЛ-6 ($R = -0,510$, $p = 0,036$); ИЛ-8 и GSH ($R = -0,490$, $p = 0,045$), GSHt ($R = -0,525$, $p = 0,030$). Значительно более выраженная корреляция показателей обнаруживается у пациентов группы 1 (ИБС и СД2): отрицательная — между концентрацией ИЛ-8 и GSH ($R = -0,826$, $p = 0,042$), 2GSH/GSSG ($R = -0,829$, $p = 0,042$), положительная — с величиной E_h ($R = 0,829$, $p = 0,042$) и активностью ГР ($R = 0,857$, $p = 0,014$), а также между концентрацией ИЛ-6 и активностью ГР ($R = 0,793$, $p = 0,033$).

Обсуждение

Роль основных воспалительных цитокинов в атерогенезе при СД2 обсуждается в контексте развития атеросклеротического процесса как

хронического воспаления. Несомненно, что избыточная экспрессия цитокинов, ИЛ-1 β , фактора некроза опухолей альфа (ФНО- α), ИЛ-6 при СД2 ведет к быстрому прогрессированию атеросклеротических изменений [19]. В последнее время значительное внимание уделяется ферменту азурофильных гранул нейтрофилов — миелопероксидазе, секретируемой во внеклеточное пространство в очагах воспаления. Результаты исследований свидетельствуют, что МПО принадлежит роль важного медиатора нейтрофилов в развитии ОС и прогрессировании ИБС у пациентов с СД2 [20]. Использованный вариант определения концентрации МПО позволяет прогнозировать развитие дисфункции эндотелия и оценки риска развития ИБС и ее осложнений при СД2 [20]. Полученные данные демонстрируют, что выход фермента в плазму крови достигает максимальных значений у пациентов при сочетании ИБС и СД2. Это совпадает со значительным увеличением концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8 в плазме крови и позволяет сделать заключение о максимальной выраженности системного воспаления при сочетании ИБС и СД2. У этих пациентов выявляются глубокие нарушения системы глутатиона эритроцитов и значительный сдвиг в окислительную сторону его редокс-потенциала. Эта реакция не зависит от выраженности гипергликемии, дислипидемии и ОС. Сопоставление показателя E_h у пациентов трех обследованных групп свидетельствует о напряженности редокс-патогенетического фактора при СД2, достигающего драматического сдвига при сочетании ИБС и СД2. Включение редокс-механизмов у пациентов данной группы подтверждается выявленными взаимосвязями, их направленностью, в частности, высоким уровнем корреляции между системой глутатиона, величиной E_h , активностью ГР и содержанием ИЛ-6 и ИЛ-8.

Соотношение показателей системного воспаления, ОС и системы глутатиона эритроцитов недавно рассмотрено в обстоятельном исследовании на больных атеросклерозом. Определена существенная роль тиол-дисульфидных реакций плазмы и эритроцитов в развитии окислительного и нитрозильного стресса, в регуляции деформируемости и агрегации эритроцитов (важнейшего реологического параметра крови), в стабилизации эритроцитарных мембран (устойчивость к гемолизу), их барьерной функции, реализации плеiotропного эффекта аторвастатина [5]. Ранее роль тиол-дисульфидной системы в функциональном состоянии нейтрофильных лейкоцитов при ОС определена как защитная для внутриклеточных белков от окислительного повреждения [21]. Детальное рассмотрение значимо-

сти редокс-статуса в генерализации и длительности ОС выявляет роль редоксзависимого сигналинга и экспрессии редоксзависимых генов в формировании адаптивных механизмов регуляции клеточной антиоксидантной защиты [22].

Вовлечение в воспалительный процесс активных форм кислорода и азота в качестве вторичных мессенджеров активирует NF- κ B, редоксчувствительный фактор транскрипции, экспрессируемый как эндотелиальными, так и гладкомышечными клетками, что индуцирует продукцию цитокинов (например ИЛ-6, ИЛ-1 β , ФНО- α), хемокинов и молекул адгезии, формируя провоспалительный сдвиг в сердечно-сосудистой системе [23]. Редокс-регуляция посредством модуляции эффективного восстановительного потенциала в клетках и тканях [24] обеспечивает фенотипические и функциональные изменения, обусловленные старением организма и увеличивающие риск развития сердечно-сосудистой патологии. С другой стороны, разнообразные редокс-пары, в особенности цистеин/цистин [25], формируя редокс-статус организма, в том числе системы кровообращения [10], фактически предопределяют глубину развития окислительного и нитрозильного стресса, прежде всего с участием системы глутатиона [23]. Этой системе принадлежит ключевая роль в регуляции сосудистого тонуса. Биодоступность эндогенного вазодилатора NO во многом определяется степенью его высвобождения из S-нитрозогемоглобина, причем скорость этого процесса зависит от уровня сульфгидрильного потенциала [26]. Эритроцитам присуща высокоспецифичная функция сорбции ИЛ-8-связывающих белков, тем самым ограничивается взаимодействие нейтрофилов с цитокином в кровообращении [27].

Роль эритроцитарного глутатиона в этом контексте может быть рассмотрена значительно шире, нежели формирование тиольного редокс-буфера эритроцитов (10 % синтеза GSH всего организма), но и как создание более окисленной внутрисосудистой среды, благоприятной для высокого уровня S-глутатионирования белков и оптимальной редокс-сигналикации в метаболических процессах в условиях гипергликемии и системного воспаления. Судя по полученным нами данным, глубина изменений соотношения 2GSH/GSSG и величины E_h позволяют рассматривать редокс-потенциал глутатиона как интегральный тест восстановительного потенциала эритроцитов, прогностический тест осложненного течения заболевания и возможный биомаркер направленного фармакотерапевтического воздействия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов.

Благодарности

Коллектив авторов выражает благодарность сотрудникам лаборатории клеточных и протеомных технологий отдела молекулярной генетики ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН (Санкт-Петербург) Соколову А.В. и Костевич В.А., а также сотрудникам кардиотерапевтического отделения № 1 (кандидату медицинских наук, заведующему отделением Е.В. Ковш) и клинико-диагностической лаборатории (кандидату медицинских наук, заведующему лабораторией М.Г. Колядко) РНПЦ «Кардиология» (Минск) за содействие в выполнении работы.

Литература

1. Арзамасцева Н.Е., Ланкин В.З., Коновалов Г.Г. и др. Окислительный стресс при хронической сердечной недостаточности и сахарном диабете 2-го типа // Бюлл. эксперимент. биол. мед. — 2007. — Т. 143, № 2. — С. 166–169. / Arzamastseva N.E., Lankin V.Z., Kononov G.G. et al. Oxidative stress in chronic heart failure and diabetes mellitus type 2 // Bulletin of Experimental Biology and Medicine [Bulletin Eksperimentalnoy Biologii i Meditsyny]. — 2007. — Vol. 143, Vol. 2. — P. 166–169 [Russian].
2. Чазова Т.Е., Масенко В.П., Зыков К.А., Голицына Т.Ю. Роль факторов воспаления в развитии острого коронарного синдрома у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и нарушенной толерантностью к глюкозе // Терапевт. арх. — 2007. — Т. 79, № 6. — С. 60–64. / Chazova T.E., Masenko V.P., Zykov K.A., Golitsyna T.U. The role of inflammatory factors in the development of acute coronary syndrome in patients with diabetes mellitus type 2 diabetes and impaired glucose tolerance // Therapeutic Archives [Terapevticheskiy Arkhiv]. — 2007. — Vol. 79, Vol. 6. — P. 60–64 [Russian].
3. Brosnan Rh., Newby L.K. Acute coronary syndromes in patients with diabetes mellitus: Diagnosis, prognosis, and current management strategies // Curr. Cardiol. Rep. — 2003. — Vol. 5, № 4. — P. 296–302.
4. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс. Патологические состояния: [монография]. — Новосибирск : АРТА, 2008. — 284 с. / Men'shchikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z. et al. Oxidative stress. Pathological states and diseases. — Novosibirsk : ARTA, 2008 — P. 284 [Russian].
5. Медведева Е., Щукин Ю., Селезнев Е. Окислительный стресс и воспаление у больных атеросклерозом: [монография]. — Saarbrücken : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2013. — 65 с. / Medvedeva E., Shchukin Y., Seleznev E. Oxidative stress and inflammation in patients with atherosclerosis. — Saarbrücken : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2013. — P. 65 [Russian].
6. Ballatori N., Krance S.M., Notenboom S. et al. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases // Biol. Chem. — 2009. — Vol. 390, № 3. — P. 191–214.
7. Wilson A.M., Ryan M.C., Boyle A.J. The novel role of C-reactive protein in cardiovascular disease: risk marker or pathogen // Intern. J. Cardiol. — 2006. — Vol. 106, № 3. — P. 291–297.

8. Jones D.P., Park Y., Gletsu-Miller N. et al. Dietary sulfur amino acid effects on fasting plasma cysteine/cystine redox potential in humans // *Nutrition*. — 2011. — Vol. 27, № 2. — P. 199–205.
9. Harris C., Hansen J.M. Oxidative stress, thiols, and redox profiles // *Methods Mol. Biol.* — 2012. — Vol. 889. — P. 325–346.
10. Go Y.M., Jones D.P. Cysteine/cystine redox signaling in cardiovascular disease // *Free Radic. Biol. Med.* — 2011. — Vol. 50, № 4. — P. 495–509.
11. 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.
12. Jay D., Hitomi H., Griendling K.K. Oxidative stress and diabetic cardiovascular complications // *Free Radic. Biol. Med.* — 2006. — Vol. 40, № 2. — P. 183–192.
13. Jones D.P. Radical-free biology of oxidative stress // *Am. L. Physiol. Cell Physiol.* — 2008. — Vol. 295, № 4. — P. C849–C868.
14. Samiec P.S., Drews-Botsch C., Flagg E.W. et al. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes // *Free Radic. Biol. Med.* — 1998. — Vol. 24, № 5. — P. 699–704.
15. Lang C.A., Huang A., Ramirez J.A., Liu M.C. Erythrocytic glutathione and plasma cysteine status of human immunodeficient patients // *Exp. Biol. Med.* — 2001. — Vol. 226, № 9. — P. 866–869.
16. Горудко И.В., Черкалина О.С., Соколов А.В. и др. Новые подходы к определению концентрации и пероксидазной активности миелопероксидазы в плазме крови человека // *Биоорганическая химия*. — 2009. — Т. 35, № 5. — С. 629–639. / Gorudko I.V., Tcherkalina O.S., Sokolov A.V. et al. New approaches to the measurement of the concentration and peroxidase activity of myeloperoxidase in human blood plasma // *Rus. J. Bioorganic Chemistry [Bioorganicheskaya Khimiya]*. — 2009. — Vol. 35. — P. 566–557 [Russian].
17. Буко И.В., Чапаева Н.Л., Константинова Е.Э., Мрочек А.Г., Мойсеев А.Г. 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., Mroczek A.G., Moiseev A.G. 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 [Vestsi Natsiyanalnai Akademii Navuk Belarusi]. SERIES OF MEDICAL SCIENCES*. — 2013. — Vol. 1. — P. 16–20 [Belorussian].
18. Туев А.В., Карпунина Н.С. Маркеры воспаления при артериальной гипертензии и некоторых формах ишемической болезни сердца: клиническая значимость // *Артериальная гипертензия*. — 2011. — Т. 17, № 6. — С. 550–554. / Tuev A.V., Karpunina N.S. Markers of inflammation in hypertension and some forms of ischemic heart disease: clinical significance // *Arterial Hypertension [Arterialnaya Gipertenziya]*. — 2011. — Vol. 17, № 6. — P. 550–554 [Russian].
19. Куликова А.Н. Роль воспаления в атерогенезе при сахарном диабете (обзор литературы) // *Цитокины и воспаление*. — 2007. — Т. 6, № 3. — С. 14–19. / Kulikova A.N. The role of inflammation in atherogenesis in diabetes (review) // *Cytokines and Inflammation [Tsitokiny i Vospaleniye]*. — 2007. — Vol. 6, № 3. — P. 14–19 [Russian].
20. Горудко И.В., Костевич В.А., Соколов А.В. и др. Функциональная активность нейтрофилов при сахарном диабете и ишемической болезни сердца: роль миелопероксидазы в развитии окислительного стресса // *Бюлл. эксперимент. биол. мед.* — 2012. — Т. 154, № 7. — С. 28–32. / Gorudko I.V., Kostevich V.A., Sokolov A.V. et al. Functional activity of neutrophils in diabetes mellitus and coronary heart disease: role of myeloperoxidase in the development of oxidative stress // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine [Buleten Eksperimentalnoy Biologii i Meditsiny]*. — 2012. — Vol. 154, № 1. — P. 28–32 [Russian].
21. Петина Г.В. Влияние тиол-дисульфидной системы, окислительной модификации белков на функции нейтрофилов при окислительном стрессе: Автореф. дисс. ... к.м.н. — 2009. — 24 с. / Petina G.V. Influence thiol-disulfide system, oxidative modification of proteins on neutrophil function during oxidative stress: PhD thesis. — 2009. — 24 p. [Russian].
22. Калинина Е.В. Роль окислительного стресса и глутатион-зависимых процессов в развитии клеточной лекарственной устойчивости и при терапии ряда заболеваний: Автореф. дисс. ... д.б.н. — 2009. — 40 с. / Kalinina E.V. Role of oxidative stress and glutathione-dependent processes in development of cellular drug resistance and under therapy of some diseases: PhD thesis. — 2009. — 40 p. [Russian].
23. Csiszar A., Pacher P., Kaley G., Ungvari Z. Role of oxidative and nitrosative stress, longevity genes and Poly(ADP-ribose) polymerase in cardiovascular dysfunction associated with aging // *Curr Vasc. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 3, № 3. — P. 285–291.
24. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках: [монография]. — Минск : БГУ, 2008. — 159 с. / Martinovich G.G., Cherenkevich S.N. Redox processes in cells. — Minsk : Publisher BGU, 2008. — P. 159 [Russian].
25. Paulsen C.E., Carroll K.S. Cysteine-mediated redox signaling: chemistry, biology, and tools for discovery // *Chem. Rev.* — 2013. — Vol. 113, № 7. — P. 4633–4679.
26. Полухович Г.С., Сагач В.Ф., Маслова Г.Т. и др. Вклад монооксида азота в механизмы нарушений сердечного ритма, вызванных перегревом организма // *Функциональные системы организма в норме и при патологии: Сб. научн. трудов / под ред. В.С. Улащика, А.Г. Чумака*. — Минск : РИВШ, 2008 — С. 156–161. / Polyuhovich G.S., Sagach V.F. Maslov G.T. et al. The contribution of nitric oxide in the mechanisms of cardiac arrhythmias caused by overheating of the body // *Functional systems of the body in health and disease: proceedings / Ed. by V.S. Ulashchik, A.G. Chumak*. — Minsk : RIVSH, 2008 — P. 156–161.
27. Darbonne W.C., Rice G.C., Mohler M.A. et al. Red blood cells are a sink for interleukin-8, a leukocyte chemotaxin // *J. Clin. Invest.* — 1991. — Vol. 88, № 4. — P. 1362–1369.