

## АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС И РЕДОКС-ПОТЕНЦИАЛ ГЛУТАТИОНА ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

И. В. БУКО<sup>1</sup>, Л. З. ПОЛОНЕЦКИЙ<sup>1</sup>, А. Г. МРОЧЕК<sup>1</sup>, А. Г. МОЙСЕЁНОК<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь;

e-mail: biko\_iv@rambler.ru;

<sup>2</sup>Научно-практический центр НАН Беларуси

по продовольствию, Минск

Исследованы и сопоставлены показатели окислительного стресса, системного воспаления, метаболизма и редокс-статуса глутатиона (GSH) у пациентов, перенесших инфаркт миокарда с подъемом на электрокардиограмме сегмента ST (ИМнСТ), и у пациентов с нестабильной стенокардией (НС). В первой группе лиц выявлено увеличение содержания миелопероксидазы и снижение активности супероксиддисмутазы, умеренное увеличение содержания интерлейкина 6 при сохранении антиоксидантного потенциала в плазме крови. При НС проявляются нарушения про-/антиоксидантного равновесия и системная воспалительная реакция. Установлено увеличение концентрации GSH (и общего GSH) в эритроцитах при ИМнСТ и их уменьшение у лиц с НС. При этом зарегистрирован существенный сдвиг редокс-потенциала эритроцитов в сторону закисления и увеличение (в отличие от пациентов с ИМнСТ) активности глутатионпероксидазы. Рассматриваются механизмы реализации про-/антиоксидантной функций эритроцитов при остром коронарном синдроме. Подчеркивается роль редокс-потенциала GSH эритроцитов в обеспечении более окисленной внутрисосудистой среды для S-глутатионилирования и оптимизации редокс-сигнализации в клетках-мишенях.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** уровень и редокс-потенциал глутатиона эритроцитов, интерлейкины, миелопероксидаза, окислительный стресс, острый коронарный синдром.

**И**зучение редокс-сигналирования и редокс-регуляции клеточных процессов становится все более весомым и распространенным для определения роли участников внутриклеточных и внеклеточных механизмов регуляции метаболизма, прежде всего в процессах свободно-радикального окисления, что основывается на способности биологических систем генерировать большее число нерадикальных окислителей, нежели свободных радикалов [1, 2]. Интенсивность окислительно-восстановительных процессов отражает тиол-дисульфидный обмен, достигающий 0,5% SH-соединений в мин от общего пула клеточных тиолов [1]. Ключевыми эффекторами нерадикальных окислителей являются тиоредоксин, глутаредоксин, глутатион (GSH), ряд других соединений, образующих редокс-пары (например, цистеин/цистин), которые составляют суммарный редокс-потенциал ( $E_h$ ) и, в конечном итоге, эффективный восстановительный потенциал [2].

Современная методология позволяет оценить относительный редокс-статус от более восстановленного до более окисленного в следующем порядке: митохондрии > ядра > цитозоль > эндоплазматический ретикулум > внеклеточное пространство [3]. Значения  $E_h$  для окисленного глутатиона (GSSG) –300 мВ в митохондриях, от –220 до –260 мВ в цитозоле, –150 мВ в эндоплазматическом ретикулуме и –140 мВ в плазме или внеклеточном пространстве (для сравнения  $E_h$  для цистина –80 мВ), составляя в эритроцитах величину, близкую к –150 мВ [4]. В соответствии с уравнением Нернста окислительно-восстановительный потенциал для пары 2GSH/GSSG колеблется в диапазоне от –260 мВ до –150 мВ [5]. Посредством транслокации и каталитических механизмов формируются редокс-цепи, с участием которых осуществляются физиологическая регуляция и генерализация окислительного стресса (ОС) [1, 5, 6].

Непосредственным, если не важнейшим, участником клеточного редокс-статуса является система GSH, которая поддерживает физиологическое прооксидантно-антиоксидантное равновесие, образует GSH, GSSG, S-нитрозоглутатион (GSNO) и смешанные дисульфиды GSH с протеинами. Традиционные представления о биохимических функциях GSH как ключевого антиоксиданта при окислительном и нитрозильном стрессе, кофактора в глутатионзависимых реакциях детоксикации, регуляции активности энзимов, сопряженных с GSH или GSSG, осуществляющих глутатионилирование сульфгидрильных групп с образованием протеинсвязанных дисульфидов GSH [5, 7–9], стали шире. Рассматривается участие GSH в образовании цитокинов, иммунном ответе, митохондриальном метаболизме, депонировании цистеина, поддержании гомеостаза микроэлементов, осуществлении редокс-сигналинга и регуляции клеточной пролиферации, дифференциации и апоптоза [6, 7]. В более широком смысле редокс-статус систем GSH, тиоредоксина и никотинамидных коэнзимов является важным для характеристики контроля фундаментальных клеточных процессов, включающих экспрессию генов [1, 5].

GSH в восстановленной форме – важнейший фактор формирования тиольного компонента редокс-буфера большинства дифференцированных клеток и, в частности, эритроцитов. Его внутриклеточная концентрация значительна и достигает 10 мМ (в эритроцитах 2–4 мМ). Примерно 99,5% GSH крови присутствует в эритроцитах в количестве 8,77 мкмоль/г гемоглобина или в концентрации 2,73–3,50 ммоль/л [10, 11]. С учетом доли (10%) в синтезе трипептида в организме в целом существует представление о GSH эритроцитов как биомаркере статуса GSH организма [12]. Вероятно, это относится и к редокс-потенциалу GSH эритроцитов, диапазон значений которого аналогичен такому у других дифференцированных клеток и для различных типов клеток является идентичным [13].

С физиологической точки зрения основной функцией эритроцитов является доставка кислорода, окиси азота к периферии, а углекислого газа в легкие, но одновременно клетка выполняет функцию циркулирующего инактиватора (поглотителя) продуктов окислительного и нитрозильного стресса. В эритроците высокий уровень не только GSH, но и тиоредоксина, витаминов С и Е, а также энзимов антиоксидантной защиты,

таких как супероксиддимуатаза (СОД), тиоредоксинредуктаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, оксидоредуктаза плазматической мембраны (для восстановления внеклеточных окислителей), метгемоглобинредуктаза (для стабилизации гемоглобина в  $Fe^{2+}$ -активной форме) [14]. С учетом высокой деформируемости эритроцитарной мембраны и поддержания в кровообращении достаточного числа функционально активных клеток обеспечиваются, как минимум, три основные функции эритроцита: а) поглощение продуктов свободнорадикального окисления; б) участие в формировании окислительной среды; в) редокс-сигнализация в системе кровообращения, прежде всего в клетках стенок сосудов. Глубокое окисление внутриклеточного GSH способствует окислительному повреждению протеинов и липидов и подвергает риску структурную целостность и жизнеспособность эритроцитов. Нарушение в редокс-статусе GSH эритроцитов не только способствует росту их окислительного потенциала, увеличению гемолиза, но и снижает биодоступность окиси азота в зонах окислительного повреждения [12, 15].

Установлено, что редокс-потенциал плазмы крови (2GSH/GSSG, цистеин/цистин) является прогностическим тестом возникновения патологии сердечно-сосудистой системы [16], тогда как роль клеточного редокс-потенциала, в частности у эритроцитов, изучена недостаточно. Особенно это относится к острому коронарному синдрому (ОКС), при котором манифестируют проявления окислительного стресса на фоне системного воспаления. Целью настоящего исследования явилось изучение системы GSH и оценка его редокс-потенциала в эритроцитах пациентов с острым инфарктом миокарда (ИМ) и нестабильной стенокардией (НС), обследованных при поступлении на стационарное лечение.

### Материалы и методы

Обследовано 118 пациентов с ОКС (86 мужчин и 32 женщины, средний возраст  $55,2 \pm 0,9$  лет). Из них 47 пациентов с ИМ с подъемом сегмента ST на электрокардиограмме (ИМпST) – группа 1; 71 пациент с НС – группа 2. Контрольную группу (группа 3) составили 89 практически здоровых лиц (средний возраст  $42,2 \pm 0,8$  лет), которым был выполнен комплекс основных клинико-инструментальных и лабораторных исследований. Содержание общего холестерина,

холестерола липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), триглицеролов плазмы крови определяли энзиматическим методом с использованием стандартных реактивов фирмы Cogma (Польша). Уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) вычисляли по формуле Фридвальда [17]. Содержание фибриногена определяли турбидиметрически. Методом иммуноэнзимного анализа (ИЭА) измеряли концентрацию интерлейкинов (ИЛ-6 и ИЛ-8) с применением коммерческих наборов реактивов фирмы Вектор-Бест (Россия). Содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) и С-реактивного протеина (СРП) определяли турбидиметрически с применением коммерческих наборов реактивов фирмы Beckman Coulter (США). Измерение концентрации миелопероксидазы в плазме крови осуществляли ИЭА в модификации [18]. Нейтрофилы выделяли из крови путем центрифугирования в градиенте плотности гистобака-1077. Генерацию пероксида водорода нейтрофилами при действии N-формил-метионил-лейцил-фенилаланина (fMLP) определяли флуоресцентным (скополетиновым) методом [19]. Концентрацию вторичных продуктов пероксидного окисления липидов (ПОЛ) – соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) в плазме крови [20] и в составе ЛПНП и очень низкой плотности (ЛПОНП) [21], активность Cu, Zn-супероксиддисмутазы (СОД) крови [22], глутатионпероксидазы [23] и глутатионредуктазы [24] в эритроцитах, каталазы [25] и суммарную антиоксидантную активность (АОА) [26] в плазме крови оценивали спектрофотометрическими методами. Общий глутатион (GSHt) и глутатион в окисленной форме (GSSG), содержащийся в эритроцитах, измеряли энзиматически [27]. Концентрацию GSH в восстановленной форме рассчитывали по формуле:

$$[GSH] = [GSHt] - 2 \times [GSSG].$$

Значение редокс-потенциала глутатиона эритроцитов определяли по уравнению Нернста:

$$E_h = (E^0 + 59,1/2 \times \log[GSSG]/[GSH]^2) \text{ мВ},$$

где  $E^0$  – стандартный восстановительный потенциал, мВ;  $E^0 = -252$  мВ для эритроцитов при pH 7,2 [28].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 [29]. Непрерывные переменные представлены в виде медианы,

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 и обсуждение

Атеросклероз и основной спектр заболеваний сердечно-сосудистого континуума достаточно давно определяются как многофакторное воспалительное заболевание. Равным образом возникновение этой патологии патогенетически связано с окислительным синдромом, в частности, с ПОЛ на фоне гиперхолестеролемии, дислипидемии и наличия других факторов риска, а ее прогрессирование и фатальные осложнения – с нарушением прооксидантно–антиоксидантного баланса [30]. Современные концепции ишемической болезни сердца, ОКС едва ли не предполагают существенную и принципиальную разницу механизмов развития гетерогенного спектра коронарной патологии на фоне системного воспаления и ОС [31, 32]. Эти различия включают клеточные и внеклеточные воздействия в кровообращении, участие сосудистой стенки в дисфункции эндотелия и состояние атеросклеротической бляшки, гемостаза, особенности системы транспорта кислорода и реологических свойств крови. Этот далеко не полный перечень факторов ОКС позволяет провести сопоставление известных, хорошо изученных биохимических показателей плазмы крови и эритроцитов, а также относительно малоизученных показателей важнейшей антиоксидантной системы – глутатиона и, впервые, его редокс-статуса в эритроцитах пациентов с ОКС. В настоящем исследовании пациенты были разделены на 2 основные группы: с ИМпСТ в первые шесть часов от начала заболевания (группа 1) и с нестабильной стенокардией (НС) (группа 2).

Как представлено в табл. 1, уровень вторичных продуктов ПОЛ в плазме крови возрастает при ОКС, что многократно продемонстрировано другими исследователями. Однако существует разница в степени этого увеличения, которая максимальна (отличия достоверны) у пациентов с НС. Содержание ТБКРС в исходном препарате ЛПНП и ЛПОНП (ТБКРС<sub>0</sub>) при НС существенно увеличено. В условиях частичного дефицита

Таблица 1. Показатели, характеризующие про-/антиоксидантный статус крови у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (группа 1) и нестабильной стенокардией (группа 2)

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3 (контрольная)	P
ТБКРС, нмоль/мл	3,97 [3,52; 4,56]	4,79 [4,26; 5,51]	3,63 [3,22; 4,05]	$P_{1-2} = 0,000$ $P_{1-3} = 0,003$ $P_{2-3} = 0,000$
Антиоксидантная активность/ТБКРС, усл. ед.	19,65 [15,23; 23,30]	13,75 [10,42; 18,33]	19,32 [15,07; 26,13]	$P_{1-2} = 0,000$ $P_{1-3} = 0,751$ $P_{2-3} = 0,000$

антиоксидантов (ТБКРС<sub>1</sub>) эта разница сохраняется, но исчезает при полном их отсутствии (ТБКРС<sub>4</sub>).

Более выраженное ослабление антиоксидантного потенциала у пациентов с НС прослеживается при исследовании АОА, у которых она достоверно ниже, нежели у пациентов с ИМпСТ. Расчетный показатель АОА/ТБКРС указывает на достоверный и значительный дефицит антиоксидантов, проявляющийся при НС, но не при ИМ. В определенной мере этому соответствуют изменения энзиматического звена антиоксидантной защиты: при практически нормальной активности каталазы в плазме крови, активность СОД крови снижается только при ИМпСТ, а активность глутатионпероксидазы эритроцитов меняется разнонаправленно, т. е. при ИМпСТ наблюдается снижение, а при НС – активация (рис. 1).

В ответ на fMLP в группе пациентов с НС установлено увеличение генерации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> нейтрофилами ( $P = 0,026$ ). fMLP-индуцированная продукция H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> нейтрофилами при ИМпСТ не отличается от ответа нейтрофилов у практически здоровых лиц ( $P = 0,274$ ) (данные не представлены). Концентрация миелопероксидазы в плазме крови увеличивается в обеих подгруппах пациентов с ОКС (в 3,4–4,8 раза относительно контроля) (табл. 2), тогда как активность миелопероксидазы между группами не различается (данные не представлены). У всех пациентов с ОКС в крови наблюдается лейкоцитоз и повышенное содержание фибриногена. Другие показатели системного воспаления, в частности, концентрации СРП и интерлейкинов заметно возрастают у пациентов с НС, тогда как при ИМпСТ увеличивается только ИЛ-6.

Установлены значительные различия показателей системы GSH у пациентов с ИМпСТ и НС (табл. 3). Концентрация GSHt возрастает в 1,4 раза при ИМпСТ и снижается в 1,4 раза при НС по отношению к контролю. Отличия показателя в двух подгруппах достоверны. Значительно изменено содержание GSH (> 1,5 раза относительно нормы): рост при ИМпСТ и падение при НС. Уровень дисульфидной формы GSH эритроцитов возрастает в обеих подгруппах с ОКС, но степень увеличения выше при ИМпСТ. Поэтому при расчете соотношения 2GSH/GSSG эритроцитов у пациентов с ИМпСТ достоверных отличий от контроля не выявлено. В то же время значение 2GSH/GSSG для эритроцитов при НС снижено более чем в 2 раза. Это предопределяет

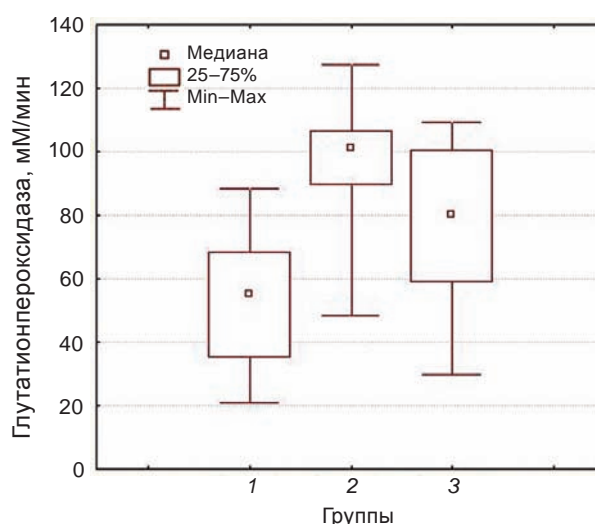


Рис. 1. Активность глутатионпероксидазы эритроцитов пациентов с острым коронарным синдромом (1 – с подъемом сегмента ST; 2 – с нестабильной стенокардией) и у практически здоровых лиц (группа 3)

Таблиця 2. Показатели системного воспаления в крови у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (группа 1) и нестабильной стенокардией (группа 2)

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3 (контрольная)	P
Лейкоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )	11,65 [10,00; 13,70]	7,00 [5,50; 8,10]	5,70 [5,10; 6,85]	$P_{1-2} = 0,000$ $P_{1-3} = 0,000$ $P_{2-3} = 0,005$
Фибриноген, г/л	3,50 [2,90; 4,50]	3,00 [2,70; 3,80]	1,65 [1,33; 2,22]	$P_{1-2} = 0,058$ $P_{1-3} = 0,001$ $P_{2-3} = 0,005$
C-реактивный протеин, мг/л	3,18 [1,62; 9,30]	5,00 [1,50; 8,50]	3,00 [2,00; 4,00]	$P_{1-2} = 0,649$ $P_{1-3} = 0,473$ $P_{2-3} = 0,040$
Интерлейкин 6, пг/мл	3,98 [1,58; 8,07]	4,79 [2,60; 17,17]	1,86 [1,48; 2,46]	$P_{1-2} = 0,428$ $P_{1-3} = 0,009$ $P_{2-3} = 0,025$
Интерлейкин 8, пг/мл	2,46 [0,00; 5,82]	9,27 [8,67; 17,63]	6,13 [4,84; 9,64]	$P_{1-2} = 0,011$ $P_{1-3} = 0,000$ $P_{2-3} = 0,153$
Миелопероксидаза, нг/мл	111,00 [63,95; 175,00]	78,80 [53,93; 120,00]	23,20 [18,80; 43,05]	$P_{1-2} = 0,806$ $P_{1-3} = 0,002$ $P_{2-3} = 0,008$

Таблиця 3. Показатели, характеризующие систему глутатиона и его редокс-свойства в эритроцитах пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (группа 1) и нестабильной стенокардией (группа 2)

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3 (контрольная)	P
GSHt, мМ/л	4,56 [2,89; 6,22]	2,21 [1,65; 2,92]	3,23 [2,17; 4,54]	$P_{1-2} = 0,000$ $P_{1-3} = 0,018$ $P_{2-3} = 0,009$
GSSG, мМ/л	0,38 [0,30; 0,44]	0,36 [0,29; 0,40]	0,31 [0,27; 0,36]	$P_{1-2} = 0,365$ $P_{1-3} = 0,000$ $P_{2-3} = 0,085$
GSH, мМ/л	3,79 [2,25; 5,76]	1,56 [1,17; 2,12]	2,64 [1,53; 4,06]	$P_{1-2} = 0,011$ $P_{1-3} = 0,046$ $P_{2-3} = 0,037$
2GSH/GSSG, усл. ед.	9,78 [5,91; 15,94]	4,71 [2,06; 6,17]	9,82 [5,07; 14,91]	$P_{1-2} = 0,016$ $P_{1-3} = 0,718$ $P_{2-3} = 0,036$
Глутатионредуктаза, мМ/мин	0,76 [0,66; 0,92]	1,01 [0,87; 1,21]	0,97 [0,74; 1,11]	$P_{1-2} = 0,003$ $P_{1-3} = 0,007$ $P_{2-3} = 0,400$

увеличение редокс-потенциала в данной группе больных на величину 15,34 мВ с высокой степенью достоверности относительно результатов, полученных в контроле и в подгруппе лиц с ИМпСТ (рис. 2).

Потенциал трансформации GSSG в GSH при ИМпСТ, оцениваемый по активности глутатионредуктазы эритроцитов, заметно снижен (на 25%) и соответствует уровню GSSG в клетках, что не характерно для эритроцитов пациентов с ИС, у которых активность энзима не отличается от показателя нормы.

Таким образом, в результате сопоставления показателей ОС, системного воспаления и редокс-потенциала глутатиона эритроцитов пациентов с ИМпСТ и ИС установлены или подтверждены особенности изменений вышеназванных показателей, что указывает на различные патофизиологические механизмы возникновения ОКС [31, 32]. Острое коронарное событие развивается или проявляется в первом случае (при ИМпСТ) с выраженной активацией миелопероксидазного компонента нейтрофилов и, вероятно, последующего нарушения внутрисосудистой сигнализации и сосудорасширяющих функций NO [32], снижением элиминации супероксидного анион-радикала и умеренным ростом медиаторов (только ИЛ-8) системного воспаления (табл. 1). При этом показатели антиоксидантного потенциала в целом на момент обследования не претерпели серьезных отклонений от значений контрольной группы. Напротив, при ИС нарушения прооксидантно-антиоксидантного равновесия доминируют как и проявления системной воспалительной реакции. Но наиболее существенным биохимическим событием у пациентов двух обследованных групп оказались противоположные по направленности изменения в системе GSH: увеличение уровня трипептида эритроцитов при ИМпСТ и его падение при ИС. Только во втором случае зарегистрирован существенный сдвиг редокс-потенциала эритроцитов в сторону закисления.

Изучение метаболизма общего GSH и его восстановленной формы в эритроцитах является предметом постоянного внимания исследователей последнего десятилетия, в особенности при оценке потенциала антиоксидантной защиты при ОКС, при сочетании ИБС и сахарного диабета. Период и характер развития ОКС, методы исследования, патология углеводного обмена,

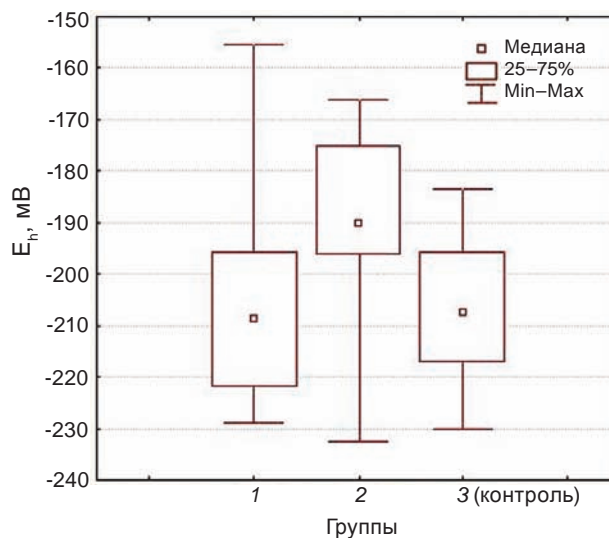


Рис. 2. Редокс-потенциал глутатиона эритроцитов у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (группа 1) и нестабильной стенокардией (группа 2)

приводящая к нарушению глутатионредуктазной реакции, послужили причиной разноречивости результатов, свидетельствующих как о повышении [33], так и значительном снижении содержания GSH [34–37] в эритроцитах крови пациентов с ИМ. Реакция эритроцитарного GSH рассматривается как механизм адаптации антиоксидантной защиты организма к острому коронарному событию либо как исчерпание ресурса этой защиты в условиях выраженного ОС. При этом анализ GSH в сыворотке (плазме) крови, наряду с другими восстановленными аминотиолами, однозначно указывает на снижение их уровня у пациентов с впервые развившимся ИМ или ИС и, в этой связи, на неблагоприятный прогноз течения заболевания при динамике GSH в отрицательную сторону [38]. Недавнее обследование больных с ОКС, подвергнутых стентированию выявило высокую выживаемость и рост качества жизни на протяжении 15-месячного наблюдения у лиц с высокой глутатионемией [39], в особенности при ассоциации основного заболевания и сахарного диабета [39]. Возможной причиной низкого уровня GSH в кровотоке при ОКС может быть резкое увеличение активности глутатионпероксидазы – доказанного феномена, свидетельствующего об адаптации антиоксидантной защиты при ОКС [40] и обладающего значительной прогностической ценностью в отношении последующих фатальных и

нефатальных событий у пациентов с НС и ИМ без подъема сегмента ST [40, 41].

Результаты наших исследований подтверждают роль глутатионпероксидазного звена антиоксидантного потенциала при НС и его ослабление у пациентов с ИМпСТ (рис. 1). Положительная корреляция активности глутатионпероксидазы эритроцитов с концентрацией ТБКРС плазмы крови получена в контрольной группе ( $R = 0,350$ ,  $P = 0,052$ ), при НС ( $R = 0,508$ ,  $P = 0,016$ ) и ИМпСТ ( $R = 0,331$ ,  $P = 0,020$ ). При НС при существенном подъеме активности энзима в плазме крови возникает обратная корреляционная связь с содержанием СРБ ( $R = -0,437$ ,  $P = 0,054$ ), указывающая на возможное участие глутатионпероксидазного звена в процессе передачи сигнала продуктами ОС и инициирования образования медиаторов системного и локального воспаления. Общеизвестно, что воспалительная реакция является вторичным следствием длительного и выраженного ОС [42].

Функции глутатионпероксидазы в антиоксидантной защите зависят от меры ее экспрессии, как и от других селенопротеинов (например, тиоредоксинредуктазы), с участием Sec-тРНК<sup>sec</sup>, кодируемой кодоном UGA. мРНК глутатионпероксидазы 1 является основной тканевой формой, но, несмотря на падение ее уровня при дефиците Se, транскрипция энзима принципиально не изменяется, тогда как трансляция может падать многократно [41]. Этим, вероятно, объясняется выявленный ранее нормальный уровень глутатионпероксидазы у пациентов с ИМпСТ при значительном снижении селенемии и сохранении высокой корреляции между активностью глутатионпероксидазы и концентрацией Se в сыворотке крови [43]. Низкая концентрация Se в постинфарктный период подтверждена нашими исследованиями [44]. Важно подчеркнуть, что экспрессия клеточной глутатионпероксидазы, в т. ч. эндотелиоцитами, рассматривается как отражение напряжения системного редокс-статуса [40], прооксидантно-антиоксидантного равновесия [41], но одновременно, как и непосредственный механизм нарушения эндотелийзависимой вазодилатации, что может быть модулировано увеличением биодоступности тиолов [45].

Новые представления о биохимических и физиологических свойствах эритроцитов [14] могут быть применены для оценки системы GSH и его редокс-статуса в условиях ОС и си-

стемного воспаления при ОКС, когда возрастают удельный вес и роль окислительно-модифицированных эритроцитов [14, 46]. Речь идет как о прямом воздействии редокс-потенциала клетки на формирование про-/антиоксидантного и окислительно-восстановительного баланса как в клетках сосудов, атеросклеротической бляшке и форменных элементах крови, так и направленные на редокс-модулированные антигены эритроцитарной мембраны. Последние, как известно, влияют на генерализацию межклеточных взаимодействий, адгезивные и агрегационные свойства эритроцитов, которые резко возрастают при активации системного воспаления. Механизм активации NF-κB, редоксзависимого фактора транскрипции, продуктами пероксидного окисления ( $H_2O_2$ ) хорошо изучен и объясняет увеличение образования провоспалительных цитокинов, пролиферацию клеток и генерализацию воспалительной реакции. Редокс-модуляция распространяется не только на иммунные клетки, но и на Т-клетки, что приводит, например, при сахарном диабете 1-го типа к деструкции β-клеток поджелудочной железы и утрате их способности к биосинтезу инсулина [42]. Редокс-циклирование в эритроцитах способствует риску их окислительного повреждения по причине высокой концентрации ионов железа (II) ( $\approx 20$  мМ) и вероятности реакции Фентона с образованием гидроксильного радикала. Недостаток GSH в эритроцитах при избытке железа (II) сопровождается ростом концентрации метгемоглобина и повышенным окислением мембранных протеинов [46]. Ключевым механизмом является утрата ассиметричного распределения фосфолипидов [46] или экстернализация фосфатидилсерина из эритроцитарной мембраны с последующей стимуляцией фосфатидной кислотой тромбогенной активности [47].

Не менее существенным, если не важнейшим механизмом реализации редокс-потенциала GSH эритроцитов является глутатионилирование – основной процесс посттрансляционной модификации протеинов [5, 48]. Определена концентрация глутатионилгемоглобина в эритроцитах, достигающая в норме  $2,58 \pm 0,1\%$  от общего уровня гемопротеина. Признано, что S-глутатионилирование предотвращает необратимую инактивацию биополимеров при ОС, а также осуществляет физиологическую регуляцию энзиматической активности в

широком спектре биохимических реакций. S-глутатионирование причастно к модуляции фактора транскрипции Nrf2, экспрессии антиоксидантных генов (ARE), модуляции ядерного фактора NFκB и активности каспазы 3, связыванию протеинов цитоскелета, взаимодействию с семейством риадиноновых рецепторов, ответственных за выход Ca<sup>2+</sup> из эндоплазматического ретикулаума, воздействию на энзиматическое гликозилирование и ряд других, в т. ч. важнейших метаболических циклов в митохондриях [48]. В условиях ОКС роль S-глутатионирования может быть критически важным механизмом редоксопосредованной и NO-опосредованной передачи сигнала [46], т. к. обеспечивает быстро обратимый процесс образования и транспорта S-нитрозогемоглобина в зоны окислительного повреждения [46]. Важно подчеркнуть, что даже относительно небольшие изменения редокс-баланса приводят к существенным изменениям метаболизма в субклеточных структурах и внеклеточной среде [14], что в условиях ОКС приобретает ключевое значение в измененной стенке сосудов, атероме, форменных элементах крови. Очевидно, что баланс про-/антиоксидантной активности эритроцитов при ИМпСТ и НС существенно различается, и это может предопределять ослабление редокс-контроля метаболизма [14, 46, 49], приводящее, например, к отсутствию индуцибельности глутатионпероксидазы у пациентов с ИМпСТ (рис. 1). Вероятно, это относится и к регуляции активности миелопероксидазы, окисляющей NO и препятствующей NO-зависимой сигнализации и модуляции редоксчувствительных сигнальных каскадов при воспалении [50]. Снижение GSH в нейтрофильных лейкоцитах при ОС уменьшает тиол-дисульфидную буферную емкость для защиты SH-групп протеинов от необратимой окислительной модификации, образования карбонильных производных, что приводит к утрате функциональной активности миелопероксидазы и NADPH-оксидазы, глутатионпероксидазы и возрастанию продукции гидроксильных радикалов, провоспалительных цитокинов ИЛ-8, ФНО-α и гипогалоидных

кислот [51]. Иерархия событий на физиологическом и биохимическом уровнях с участием редоксчувствительных мишеней в системе кровообращения при ОКС, при всем их различии и сложности, предполагает существенную роль GSH-системы эритроцитов, которую можно рассматривать как определяющую в создании максимално окисленной внутрисосудистой среды. Тем самым обеспечиваются высокий уровень S-глутатионирования и оптимальное редокс-сигнализация в клеточных элементах при выраженном ОС и системном воспалении. Благоприятный результат фармако-метаболической коррекции редокс-потенциала GSH при ИБС уже получен и открывает перспективу повышения эффективности терапии пациентов с ОКС [52].

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о существенных различиях нарушений про-/антиоксидантного равновесия и системного воспаления у пациентов с ИМпСТ и НС, которые более выражены при НС. В эритроцитах пациентов с ИМпСТ увеличивается концентрация GSH (и GSht), а у пациентов с НС эти показатели уменьшаются. Для НС характерно смещение редокс-потенциала GSH эритроцитов в сторону закисления и увеличения активности глутатионпероксидазы эритроцитов (в отличие от пациентов с ИМпСТ).

*Коллектив авторов выражает благодарность сотрудникам лаборатории клеточных и протеомных технологий Отдела молекулярной генетики ФГБУ «НИИ Экспериментальной медицины» СЗО РАМН (Санкт-Петербург) А. В. Соколову и В. А. Костевич за проведение измерения концентрации миелопероксидазы в плазме крови, сотруднику кафедры биофизики БГУ И. В. Горудко за проведение эксперимента по определению генерации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> нейтрофилами при действии fMLP, а также сотрудникам клинико-диагностической лаборатории (зав. лабораторией, канд. мед. наук М. Г. Колядко) РНПЦ «Кардиология» (Минск) за содействие в выполнении работы.*



**АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС І РЕДОКС-ПОТЕНЦІАЛ ГЛУТАТІОНУ ЕРИТРОЦИТІВ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ**

*I. В. Буко<sup>1</sup>, Л. З. Полонецький<sup>1</sup>, О. Г. Мрочек<sup>1</sup>,  
А. Г. Мойсейонок<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Республіканський науково-практичний центр «Кардіологія», Мінськ, Білорусь;  
e-mail: buko\_iv@rambler.ru;

<sup>2</sup>Науково-практичний центр НАН Білорусі з продовольства, Мінськ

Досліджено і порівняно показники окислювального стресу, системного запалення, метаболізму і редокс-статусу глутатіону (GSH) у пацієнтів, що перенесли інфаркт міокарда з підвищенням сегмента ST на електрокардіограмі (ІмпST), і пацієнтів із нестабільною стенокардією (НС). У першій групі осіб виявлено підвищення вмісту мієлопероксидази і зниження активності супероксиддисмутази, помірне збільшення вмісту інтерлейкіну 6 в умовах збереження антиоксидантного потенціалу в плазмі крові. За НС виявляються порушення про-/антиоксидантної рівноваги і системна запальна реакція. Встановлено збільшення концентрації GSH (загального GSH) в еритроцитах за ІмпST та зменшення їх в осіб з НС. При цьому зареєстровано істотний зсув редокс-потенціалу еритроцитів у бік закислення і збільшення (на противагу від пацієнтів з ІмпST) активності глутатіонпероксидази. Розглянуто механізми реалізації про- і антиоксидантних функцій еритроцитів за гострого коронарного синдрому. Підкреслено роль редокс-потенціалу GSH еритроцитів у забезпеченні закислення внутрішньосудинного середовища для S-глутатіонілювання та оптимізації редокс-сигналювання в клітинах-мішенях.

**Ключові слова:** рівень і редокс-потенціал глутатіону еритроцитів, інтерлейкіни, мієлопероксидаза, окислювальний стрес, гострий коронарний синдром.

**ANTIOXIDANT STATUS AND GLUTATHIONE REDOX POTENTIAL OF ERYTHROCYTES IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME**

*I. V. Buko<sup>1</sup>, L. Z. Polonetsky<sup>1</sup>, A. G. Mrochek<sup>1</sup>,  
A. G. Moiseenok<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Republican Scientific-Practical Center *Cardiology*, Minsk;  
e-mail: buko\_iv@rambler.ru;

<sup>2</sup>Scientific-Practical Center for Foodstuffs, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk

Indicators of oxidative stress (OS), systemic inflammation, metabolism and redox status of glutathione (GSH) were investigated and compared in patients with ST-segment elevation myocardial infarction on electrocardiograms (STEMI), and patients with unstable angina (UA). The elevated and decreased myeloperoxidase level, superoxide dismutase activity, and moderate increased plasma levels of interleukin-6, while maintaining the antioxidant potential, were found in Group 1. Disorders in pro-/antioxidant balance and systemic inflammatory response were manifested in UA. Increased GSH concentration (and total GSH) in erythrocytes has been established for STEMI patients and the decreased GSH for UA patients. Thus, a significant shift of erythrocytes redox to oxidization and increase (unlike STEMI patients) of glutathione peroxidase activity were recorded. Mechanisms of the pro- and antioxidant functions of red blood cells in acute coronary syndrome are considered. The role of red blood cell glutathione to provide more oxidized intravascular environment for S-glutathionylation and optimization of redox signaling in target cells is pronounced.

**Key words:** red blood cells glutathione levels and redox potential, interleukins, myeloperoxidase, oxidative stress, acute coronary syndrome.

1. Jones D. P. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2008. – **295**. – P. C849–C868.
2. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках. – Мн.: БГУ, 2008. – 159 с.
3. Hansen J. M., Go Y.-M., Jones D. P. // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2006. – **46**. – P. 215–234.
4. Go Y.-M., Jones D. P. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – **1780**(11). – P. 1273–1290. doi:10.1016/j.bbagen.2008.01.011.
5. Lushchak V. I. // *J. Amino Acids.* – 2011. – **2012**. – Article ID 736837, 26 pages doi: 10.1155/2012/736837 <http://www.hindawi.com/journals/jaa/2012/736837/>
6. Jones D. P. // *Methods Enzymol.* – 2002. – **348**. – P. 93–112.
7. Harris C., Hansen J. M. // *Methods Mol. Biol.* – 2012. – **889**. – P. 325–346.
8. Кулинский В. И., Колисниченко Л. С. // *Биомед. химия.* – 2009. – **55**, вып. 3. – С. 255–227.
9. Кулинский В. И., Колисниченко Л. С. // *Биомед. химия.* – 2009. – **55**, вып. 4. – С. 365–379.
10. Ashfaq S., Abramson J. L., Jones D. P. et al. // *Hypertension.* – 2008. – **52**. – P. 80–85.
11. Moussa S. A. // *Romanian J. Biophys.* – 2008. – **18**, N 3. – P. 225–236.
12. Morris C. R., Suh J. H., Hagar W. et al. // *Blood.* – 2008. – **111**. – P. 402–410.
13. Jones D. P., Liang Y. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2009. – **47**(10). – P. 1329–1338.
14. Minetti M., Malorni W. // *Antioxid. Redox Signal.* – 2006. – **8**, N 7–8. – P. 1165–1169.
15. Matteucci E., Giampietro O. // *Molecules.* – 2010. – **15**. – P. 8890–8903.
16. Go Y.-M., Jones D. P. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – **50**. – P. 495–509.
17. Friedwald W. T., Levy R. I., Fredrickson D. S. // *Clin. Chem.* – 1971. – **18**. – P. 499–502.
18. Горудко И. В., Черкалина О. С., Соколов А. В. и др. // *Биоорган. химия.* – 2009. – **35**, № 5. – С. 629–639.
19. Timoshenko A. V., Cherenkevich S. N., Gabius H. J. // *Biomed. Pharmacother.* – 1995. – **49**. – P. 153–158.
20. Коробейникова Э. Н. // *Лабор. дело.* – 1989. – № 7. – С. 8–9.
21. Рагино Ю. И., Душкин М. И. // *Клин. лабор. диагностика.* – 1998. – № 3. – С. 6–8.
22. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. // *Лабор. дело.* – 1991. – № 10. – С. 9–13.
23. Гаврилова А. Р., Хмара Н. Ф. // *Лабор. дело.* – 1986. – № 12. – С. 721–723.
24. Beutler C. // *J. Clin. Invest.* – 1969. – **48**. – P. 1957.
25. Королюк М. А. // *Лабор. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–18.
26. Промыслов М. Ш., Демчук М. Л. // *Вопросы мед. химии.* – 1990. – № 4. – С. 90–92.
27. Akerboom T. P., Sies H. // *Methods Enzymol.* – 1981. – **77**. – P. 373–82.
28. Schafer F. Q., Buettner G. R. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2001. – **30**. – P. 1191–1212.
29. Халафян А. А. *STATISTICA 6. Статистический анализ данных.* 3-е изд. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
30. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З. и др. *Окислительный стресс. Патологические состояния.* – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
31. Monaco C., Mathur A., Martin J. F. // *Atherosclerosis.* – 2005. – **179**, Iss. 1. – P. 1–15.
32. Carcia-Pinilla J. M., Galvez J., Cabrera-Bueno F. et al. // *Tex. Heart Inst. J.* – 2008. – **35**(3). – P. 262–267.
33. Iqbal M. P., Ishaq M., Mehboobali N. // *JPMA.* – 2004. – **54**. – P. 254–258.
34. Shinde S., Kumar P., Patil N. // *Internet J. Altern. Med.* – 2005. – **2**, N 1. – DOI: 10.5580/19f5.
35. Usal A., Acarturk E., Yuregir G. T. et al. // *Jpn. Heart J.* – 1996. – **37**. – P. 177–182.
36. Kharb S. // *Indian J. Med. Sci.* – 2003. – **57**, N 8. – P. 335–337.
37. Palanisamy P., Yagneswara R. Y., Jawahar F. et al. // *Eur. J. Sci. Res.* – 2009. – **27**, Iss. 2. – P. 275.
38. De Chiara B., Mafrici A., Campolo J. et al. // *Coron. Artery Dis.* – 2007. – **18**(2). – P. 77–82.
39. Pietruszyński R., Markuszewski L., Masiarek K. et al. // *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej.* – 2013. – **123**(5). – P. 1–15.
40. Sapira V., Craiu E., Adumitresi C. // *Fiziologia Physiology.* – 2009. – **19**, Iss. 3. – 16 p.
41. Blankenberg S., Rupprecht H. J., Bickel C. et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – **349** (17). – P. 1605–1613.
42. Delmastro M. M., Piganelli J. D. // *Clin. Dev. Immunol.* – 2011. – **2001**. – Article ID 593863, 15 pages doi:10.1155/2011/593863.
43. Gunaldi M., Helvacı A., Zorlu M. et al. // *Oxid. Antioxid Med. Sci.* – 2012. – **1**(3). – P. 175–178.
44. Пырочкин А. В., Мойсеёнок А. Г. // *Мед. новости.* – 2009. – № 14. – С. 77–81.

45. *Forgione M. A., Cap A., Liao R. et al.* // *Circulation.* – 2002. – **27**, N 106(9). – P. 1154–1158.
46. *Tsantes A. E., Bonovas St., Traviou A., Sitaras N. M.* // *Antioxid. Redox Signal.* – 2006. – **8**, N 7–8. – P. 1205–1216.
47. *Noh J. Y., Lim K. M., Bae O. N. et al.* // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2010. – **299**(2). – P. H347–355.
48. *Pastore A., Piemonte F.* // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2012. – **46**. – P. 279–292.
49. *Xiong Y., Uys J. D., Tew K. D., Townsend D. M.* // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – **15**(1). – P. 233–270.
50. *Eiserich J. P., Baldus S., Brennan M. L. et al.* // *Science.* – 2002. – **296**(5577). – P. 2391–2394.
51. *Петина Г. В.* Влияние тиолдисульфидной системы, окислительной модификации белков на функции нейтрофилов при окислительном стрессе. Авт. дисс. ... канд. мед. наук. – 2009. – 24 с.
52. *Elewa H., Zalat Z. A., Oriquat G. et al.* // *J. Diabetology.* – 2011. – **3**, N 4. – <http://www.journalofdiabetology.org/>.

Получено 12.09.2013