

УДК 616.36-002:616.12-008.331-092

## ІНТЕНСИВНІСТЬ ОКСИДАТИВНОГО ТА НІТРОЗИТИВНОГО СТРЕСУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ НЕКАМЕНЕВИЙ ХОЛЕЦИСТИТ ЗАЛЕЖНО ВІД ФОРМИ СУПРОВІДНОЇ НЕЙРО-ЦИРКУЛЯТОРНОЇ ДИСТОНІЇ

Хухліна О.С., Антонів А.А.

Буковинський державний медичний університет, кафедра внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, м.Чернівці

**Вступ.** Несприятливе екологічне навантаження, часті психоемоційні стреси, нераціональне харчування призвели до істотного зростання у останні роки захворюваності на функціональні захворювання серцево-судинної системи, зокрема вегето-судинну дистонію (нейро-циркуляторну дистонію (НЦД)), астенію, соматогенну вегетативну дисфункцію [1, 2]. Незважаючи на значне поширення НЦД та наявність робіт, присвячених даній проблемі, роль патогенетичних механізмів її виникнення та прогресування у хворих на хронічний некаменевиий холецистит (ХНХ), до теперішнього часу остаточно не визначена [5, 6]. Потребують подальшого вивчення інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), окиснювальної модифікації білків (ОМБ) та нітрозитивного стресу у хворих на ХНХ із супровідною НЦД для пояснення причин та встановлення нових патогенетичних механізмів їх розвитку та прогресування.

**Метою нашого дослідження** було з'ясування патогенетичної ролі інтенсивності процесів ПОЛ, ОМБ, нітрозитивного стресу та стану окремих факторів системи протиокисдантного захисту (ПОЗ) у розвитку та прогресуванні НЦД у хворих на ХНХ залежно від типу НЦД.

**Матеріал та методи.** Проведено обстеження 78 хворих на ХНХ у фазі загострення із супровідною НЦД. Середній вік хворих склав  $31 \pm 5,8$  року. Залежно від форми НЦД хворі на ХНХ були поділені на три групи: перша (15 осіб) – хворі на ХНХ та НЦД за гіпертонічним типом (ГіперТТ); друга – хворі на ХНХ із НЦД за гіпотонічним типом (ГіпоТТ) (30 осіб) та третя – хворі на ХНХ із НЦД за кардіальним типом (КТ) (26 осіб). Контрольну групу склали 30 здорових осіб (ЗО) відповідного віку.

Інтенсивність ОМБ у сироватці крові визначали за методом Дубініної О.С. та співавт. у модифікації І.Ф. Мещишена [4]. Принцип методу ґрунтується на реакції взаємодії окиснених амінокислотних залишків білків з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням альдегід- та кетондинітрофенілгідразонів основного та нейтрального характеру (АКДФГ ОХ та НХ). Вміст у крові молекулярних продуктів ПОЛ – ізольованих подвійних зв'язків (ІПЗ) у сполуках, дієнових кон'югатів (ДК), кето-дієнів та спряжених трієнів (КСТ) визначали за І.А. Волчегорським і співавт., вміст малонового

альдегіду (МА) у плазмі крові та еритроцитах – за Ю.А. Владимировим, А.І. Арчаковим [3]. Вміст у крові відновленого глутатіону визначали титраційним методом за О.В. Травіною у модифікації І.Ф. Мещишена, І.В. Петрової [4]. Активність ферментів системи ПОЗ: глутатіонпероксидази визначали за І.Ф. Мещишеним, каталази – за М.А. Корольок та співавт. [4]. Активність ферментів розраховували на 1г Нб [4]. Інтенсивність нітрозитивного стресу вивчали за вмістом у крові стабільних метаболітів монооксиду нітрогену (NO) (нітритів, нітратів) за методом L.C. Green із співавт., активністю індукцибельної NO-синтази (iNOS) (DRG) методом імуноферментного аналізу. Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою параметричних методів варіаційної статистики.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Як свідчать дані, наведені в табл. 1, у всіх групах обстежених хворих на ХНХ визначалася активація процесів ПОЛ, більш значна – у групі хворих на НЦД за ГіперТТ, оскільки вміст у плазмі крові та еритроцитах найбільш токсичного з кінцевих продуктів ПОЛ: МА перевищував контрольні показники відповідно у 2,0 разу та на 30,0% ( $p < 0,05$ ). У групі хворих на НЦД за КТ також зареєстроване вірогідне ( $p < 0,05$ ) зростання вмісту у плазмі та еритроцитах МА (табл. 1): у 1,7 разу та на 24,0% ( $p < 0,05$ ) відповідно у порівнянні з ПЗО. Аналогічна спрямованість змін МА зареєстрована у групі хворих на ГіпоТТ, при цьому показник перевищував контроль відповідно у 1,5 разу та на 18,6% ( $p < 0,05$ ) (табл.1). Неконтрольоване значне зростання вмісту в крові та еритроцитах кінцевих продуктів ПОЛ свідчить про декомпенсацію процесів вільнорадикального ушкодження клітинних мембран, і у першу чергу, ендотелію, та наростання інтенсивності метаболічної інтоксикації, що має певне патогенетичне значення у розвитку та прогресуванні НЦД у пацієнтів із загостренням ХНХ. Водночас, нами встановлено вірогідне зростання вмісту в крові проміжних продуктів ПОЛ – ІПЗ у всіх групах спостереження, яке перевищувало контрольні показники у 1-й групі – у 2,2 разу ( $p < 0,05$ ), у 2-й групі – в 1,8 разу ( $p < 0,05$ ), 3-й групі – в 1,9 разу ( $p < 0,05$ ) із наявністю вірогідної міжгрупової різниці ( $p < 0,05$ ). З аналогічною інтенсивністю зростає вміст у крові інших проміжних продуктів

ПОЛ: ДК, КСТ (табл. 1): у 1-й групі – відповідно у 2,0 та 1,9 рази ( $p < 0,05$ ), хворих 2-ї групи – у 1,5 та 1,8 рази ( $p < 0,05$ ), у хворих 3-ї групи – у 2,3 та 1,9 рази ( $p < 0,05$ ). Очевидно, що максимальні значення показників, що вказують на інтенсивність оксидативного стресу, встановлені у пацієнтів із ХНХ із ГіперТТ та КТ НЦД, а мінімальні – у хворих на ХНХ із ГіпоТТ НЦД, однак у хворих всіх груп спостереження встановлено істотне вірогідне зростання інтенсивності ПОЛ у порівнянні зі здоровими особами.

Слід зазначити, що вільнорадикальні впливи, за умов загострення ХНХ, торкалися не лише структурних ліпідів мембран, але й білкових субстратів. Зокрема, у всіх групах спостереження встановлено вірогідне зростання вмісту в крові кінцевих продуктів (ОМБ) (табл. 1): у пацієнтів 1-ї групи – відповідно у 2,2 рази та на 58,6% ( $p < 0,05$ ), хворих 2-ї групи – у 1,8 рази та на 46,0% ( $p < 0,05$ ), хворих 3-ї групи – у 2,4 рази та на 81,5% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з групою контролю. Таким чином, максимальна інтенсивність процесів ОМБ була зареєстрована у хворих на КТ НЦД, що є важливою передумовою пошкодження ендотелію, зокрема коронарних артерій та подальшого розвитку у цих пацієнтів ішемічної хвороби серця (ІХС).

При оцінці стану системи ПОЗ виявлені наступні зміни (табл. 1). Перш за все, слід відзначити суттєво знижений вміст у крові ГВ у всіх клінічних групах спостереження, яке у хворих 1-ї групи становило 23,7% ( $p < 0,05$ ), 2-ї групи – 43,0% ( $p < 0,05$ ), 3-ї групи – 28,0% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні із ЗО. Тобто, встановлена вірогідна недостатність системи глутатіону відновленого – універсальної редокс-системи еритроцита, яка протистоїть вільнорадикальним впливам, що призвело до істотної інтенсифікації ПОЛ та ОМБ у цих хворих. Парадоксальним є той факт, що максимальний ступінь пригнічення системи ГВ виявлено у хворих на ХНХ із ГіпоТТ НЦД, у яких спостерігався найменший ступінь інтенсивності ПОЛ та ОМБ. Однак цей факт, ймовірно, пояснюють результати наступних етапів нашого дослідження. У функціонуванні глутатіонзалежного фермента глутатіонпероксидази також були виявлені значні зміни залежно від клінічного варіанту перебігу супровідного захворювання (табл. 1). Так, у 2-й групі спостерігається максимальне підвищення активності ГП – на 14,9% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з ПЗО. У хворих 1-ї групи спостереження активність фермента є вірогідно меншою за показник активності ГП у ПЗО – на 20,0% ( $p < 0,05$ ), а у хворих 3-ї групи зміни були невірогідні ( $p > 0,05$ ) (табл. 1). Активацію ферментів системи глутатіону можна розглядати як компенсаторний механізм у відповідь на інтенсифікацію процесів ПОЛ. Однак цього недостатньо для підтримання вмісту ГВ на нормальному рівні. Поясненням цього може бути відсутність необхідної для відновлення глутатіону кількості відновлених еквівалентів, а також підвищеною потребою в

ньому за умови наростаючого ендотоксикозу за умов запалення при ХНХ. Про напруження системи ПОЗ за умов загострення ХНХ також свідчить зростання активності каталази еритроцитів у пацієнтів з ГіперТТ та КТ НЦД: відповідно на 17,2% та 56,8% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з ПЗО, водночас, у хворих з ГіпоТТ НЦД активність каталази, була пригніченою на 32,6% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контролем. Компенсаторна активація ГП та гальмування активності каталази у пацієнтів з ХНХ та ГіпоТТ пояснюють максимальний ступінь виснаження ГВ у цієї категорії хворих.

Результати проведеного дослідження інтенсивності нітрозитивного стресу показали, що у 100% обстежених хворих на ХНХ із супровідною НЦД було встановлено вірогідні зміни, однак спрямованість змін відрізнялась залежно від форми НЦД (табл. 2). Зокрема, у пацієнтів 1-ї та 3-ї груп було встановлено вірогідне зниження вмісту в крові метаболітів NO – відповідно на 27,1% та 48,3% ( $p < 0,05$ ), що вказує на розвиток у цих пацієнтів ендотеліальної дисфункції (ЕД) у порівнянні з показником у ЗО із наявністю вірогідної міжгрупової різниці ( $p < 0,05$ ). Мінімальні значення показника (зниження практично на 50%) були зареєстровані у пацієнтів з КТ НЦД, що вказує на істотний фактор ризику відносно подальшого прогресування цієї форми НЦД у ІХС. Водночас, як вказують дані, викладені в табл. 2, у пацієнтів із поєднаним перебігом ХНХ та НЦД спостерігалось істотне зростання вмісту NO у крові (на 30,3%,  $p < 0,05$ ) у порівнянні з групою ЗО, що вірогідно відрізнялось від значень показників у групах порівняння ( $p < 0,05$ ). Проведений кореляційний аналіз встановив наявність високого ступеня зворотного кореляційного зв'язку ( $r = -0,781$ ,  $p < 0,05$ ) між рівнем артеріального тиску та вмістом NO у крові. Було також встановлено, що інтенсивність нітрозитивного стресу у даній групі пацієнтів зростала із збільшення інтенсивності запального процесу у жовчному міхурі ( $r = 0,745$ ,  $p < 0,05$  між вмістом NO у крові та сіалових кислот у жовчі) та ступенем дискінезії жовчовивідних шляхів за біліарним типом.

Патологічна гіперпродукція NO лейкоцитами внаслідок запального процесу стінки жовчного міхура (ЖМ) та жовчовивідних шляхів (ЖВШ) сприяла активації нітрозитивного стресу та розвитку генералізованої венозної дилатації, що призвело до зниження периферичного опору судин та прогресування НЦД за ГіпоТТ. Водночас, гіперпродукцію NO можна розцінювати, як компенсаторну реакцію організму на розвиток гіпертонічної, гіперкінетичної дискінезії ЖМ та ЖВШ з метою її усунення, тобто відновлення нормальної скоротливої здатності ЖМ та тонуусу сфінктерного апарату ЖВШ.

Зміни вмісту метаболітів NO у сироватці крові у пацієнтів з ХНХ із супровідною НЦД за ГіпоТТ виникли внаслідок індукції запальним процесом іNOS. Згідно з отриманими даними (табл. 1), акти-

вність iNOS у хворих на ХНХ усіх груп була істотно підвищена: у хворих 1-ї групи перевищувала показник у ПЗО у 1,5 разу ( $p<0,05$ ), 2-ї групи – у 2,7 разу ( $p<0,05$ ), 3-ї групи – у 1,8 разу ( $p<0,05$ ) із наявністю вірогідної міжгрупової різниці ( $p<0,05$ ). Як видно з даних, наведених у таблиці 1, максимальне підвищення активності iNOS спостерігається у хворих на ГіпоТТ НЦД. Таким чином, саме через патологічну індукцію активності iNOS у більшості хворих на ХНХ, ймовірно, виникає та прогресує НЦД за ГіпоТТ. Водночас, у хворих інших груп спостереження було встановлено істотну вірогідну активацію даного фермента – активного модулятора запальної реакції, яка була значно меншої інтенсивності і не призвела у пацієнтів 1-ї та 3-ї груп до гіперпродукції NO. Можливим, також, є той факт, що у пацієнтів зазначених груп існує вірогідне гальмування активності ендотеліальної NOS, тобто істинні прояви ЕД, що є також істотним фактором ризику формування як НЦД, ІХС, так і гіпертонічної хвороби. Водночас, результати дослідження активності ферментів глутатіонової редокс-системи детоксикації та ПОЗ, викладені вище, свідчать про істотну активацію ГП та каталази, які, ймовірно, дещо знизили інтенсивність нітрозитивного стресу в пацієнтів 1-ї та 3-ї груп,

однак не вплинули на його інтенсивність у хворих 2-ї групи, оскільки були загальмовані. Проведені дослідження вказують на істотну розбалансованість показників функціонального стану ендотелію із формуванням ЕД у пацієнтів, хворих на ХНХ із ГіперТТ та КТ НЦД, а також підвищення інтенсивності нітрозитивного стресу у пацієнтів з поєднаним перебігом ХНХ та ГіпоТТ НЦД, які складають переважну більшість серед пацієнтів із ХНХ.

Таким чином, істотна активація оксидативного стресу на тлі істотного дисбалансу факторів ПОЗ у пацієнтів з ХНХ зумовлена загостренням запального процесу у ЖМ. Генерація великої кількості активних форм кисню лейкоцитами запального інфільтрату стінки ЖМ спричиняє підсилення вільнорадикальної агресії, яка у даному випадку спрямована як відносно структурних ліпідів, так і відносно мембранних білків, що призводить до порушення цілісності клітинних мембран ендотелію судин, нейронів головного мозку, розвитку метаболічної інтоксикації, ЕД та сприяє прогресуванню проявів вегето-судинної дистонії, що є несприятливими факторами ризику відносно подальшої трансформації функціонального захворювання в органічну патологію серцево-судинної системи.

Таблиця 1

Показники інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів, окиснювальної модифікації білків, нітрозитивного стресу та факторів протиоксидантного захисту у хворих на хронічний некаменевий холецистит залежно від типу супровідної нейро-циркуляторної дистонії ( $M\pm m$ )

Показники	ПЗО, n=30	ХНХ із НЦД за Гіпер ТТ, n=15	ХНХ із НЦД за Гіпо ТТ, n=30	ХНХ із НЦД за КТ, n=26
МА у плазмі, мкмоль/л	2,53±0,072	4,99±0,033 *	3,72±0,025 */**	4,35±0,037 */**/**
МА у Ер., мкмоль/л	8,09±0,138	10,52±0,841 *	9,61±0,321 *	10,03±0,244 *
ПЗ, Е220/мл. крові	2,64±0,031	5,93±0,071 *	4,48±0,092 */**	5,27±0,078 */**/**
ДК, Е232/мл. крові	1,46±0,015	2,95±0,019 *	2,17±0,063 */**	3,43±0,041 */**/**
КСТ, Е220/мл. крові	0,81±0,015	1,52±0,021 *	1,43±0,017 */**	1,57±0,042 */**/**
АКДФНГОХ, о.од.г/л білка	1,37±0,023	3,07±0,044 *	2,41±0,050 */**	3,28±0,041 */**/**
АКДФНГНХ, ммоль/г білка	12,14±0,137	19,26±0,826 *	17,73±0,471 *	22,04±0,587 */**/**
ГВ, мкмоль/л	0,93±0,013	0,71±0,008 *	0,53±0,004 */**	0,67±0,008 */**/**
ГП, нмоль ГВ/хв.×1г. Нб	156,79±1,821	125,14±5,315 *	180,42±5,742 */**	147,56±5,287 */**/**
Каталаза, ммоль/1хв.×1гНб.	15,52±0,094	18,17±0,073 *	10,45±0,812 */**	24,34±1,022 */**/**
NO, мкмоль/л	14,57±0,475	10,62±0,632 *	18,99±0,908 */**	7,53±0,543 */**/**
iNOS, нмоль/хвхл	0,50±0,014	0,74±0,020 *	1,35±0,027 */**	0,91±0,012 */**/**

Примітка: \* – різниця вірогідна у порівнянні з показником у ПЗО ( $p<0,05$ );

\*\* – різниця вірогідна у порівнянні з показником у хворих на НЦД за ГіперТТ ( $p<0,05$ );

\*\*\* – різниця вірогідна у порівнянні з показником у хворих на НЦД за ГіпоТТ ( $p<0,05$ ).

**Висновки.** У пацієнтів з хронічним некаменевим холециститом із супровідною нейроциркуляторною дистонією за гіпертонічним та кардіальним типом переважають інтенсивність оксидативного стресу та істотний дисбаланс активності факторів протиоксидантного захисту (гальмування глутатіонової системи, компенсаторна активація каталази), що сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції та прогресування нейро-циркуляторної дистонії. У більшості пацієнтів із хронічним некаменевим холециститом із супровідною нейроциркуляторною дистонією за гіпотонічним типом, на

тлі помірного підсилення інтенсивності оксидативного стресу та максимального виснаження пулу відновленого глутатіону, переважає інтенсивність нітрозитивного стресу внаслідок активації прозапальної індукцйбельної NO-синтази, гіперпродукції монооксиду нітрогену, який сприяє розвитку периферичної венозної вазодилатації.

**Перспективою подальших досліджень** у цьому напрямку є встановлення особливостей розвитку дискінезій жовчовивідних шляхів залежно від типу НЦД, інтенсивності оксидативного та нітрозитивного стресу.

#### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Амосова Е.Н. Клиническая кардиология: в 2т. / Е.Н.Амосова.- К.: Здоров'я.- 2002.- Т. 2.- 992 с.
2. Вейн А.М. Вегетативные расстройства / А.М.Вейн А.М.- М.: Мед. информ. агенство, 2000.- 752 с.
3. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков.- М.: Наука, 1972.- 252с.
4. Мецишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків (сироватки) крові / І.Ф.Мецишен // Бук. мед. вісник.- 1998.- Т.2, №1.- С.156-158.
5. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей: практич. рук. / Ш.Шерлок, Дж.Дули [пер. с англ.]; под ред. З.Г. Апросиной, Н.А. Мухина.- М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002.- 864с.
6. González-Pérez A. Gallbladder disease in the general population: association with cardiovascular morbidity and therapy / A.González-Pérez, L.A.García Rodríguez // Pharmacoevidiol. Drug. Saf.- 2007.- Vol.16, №5.- P. 524-531.

#### **SUMMARY**

ACTIVITY OF OXYDATIVE AND NITROZYVE STRESS OF PATIENTS WITH CHRONIC NON-CALCULOUS CHOLECYSTITIS CONNECTED WITH ACCOMPANIED FORM OF NEUROCIRCLED DYSTONIA

**Khukhlina O.S., Antoniv A.A.**

Role of pathological mechanizimes appearance neurocircled dystonia and developmend of them of patients with chronic non-calculous cholecystitis nowday are investigated not enough. Activity of processes of peroxyd oxidation of lipids oxidation modification of protein and nitrozyve stress of patients with chronic non-calculous cholecystitis connected with accompanied form of neurocircled dystonia are needed to be investigate, to for explanation of development of new pathological processes.

**Key words:** neurocircled dystonia, chronic – non – calculous cholecystitis