

© Kovalyova O.M., Gerasimchuk N.M., Safargalina-Kornilova N.A., Smirnova V.I., Potabenko S.V.

УДК 616.12—008.331.1 : 577.16

РІВЕНЬ 8-ІЗОПРОСТАНОУ ТА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ

Ковальова О.М., Герасимчук Н.М., Сафаргаліна-Корнілова Н.А., Смирнова В.І., Потабенко С.В.
Харківський національний медичний університет, м. Харків

Определено состояние прооксидантной и антиоксидантной систем на основе изучения уровня 8-изопростаана, как основного маркера ОС, и активности супероксиддисмутазы и каталазы у больных с гипертонической болезнью. Было обследовано 100 пациентов с ГБ в возрасте от 32 до 70 лет (средний возраст 54,54±0,91 года) и 16 практически здоровых лиц (средний возраст 43,68±14,23 года). Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности СОД и каталазы в сыворотке крови, определяемых биохимическим методом. Уровень 8-изопростаана (8-iso-Pg F_{2α}) в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного метода. У обследуемых больных было выявлено достоверно снижение активности СОД в 1,17 раза (или на 15%) в сравнении с показателями группы контроля. При анализе активности СОД у больных с разной степенью АГ, была установлена тенденция к снижению активности СОД у пациентов 1-й степени на 13% (p>0,05) и достоверное снижение у пациентов 2-й и 3-й степени на 16,7% и 14,8% соответственно, в сравнении с показателями группы контроля. Было отмечено достоверное увеличение уровня 8-изопростаана в сыворотке крови пациентов с ГБ в сравнении с показателями группы контроля: (17,15±3,12) и (1,41±0,81) нг/мл, соответственно. При сравнении уровня 8-изопростаана в сыворотке крови больных с ГБ в зависимости от уровня АД, отмечалось статистически достоверное увеличение уровня последнего показателя в 3,17 раза у лиц с АГ 1-й степени, в 7,1 раза у лиц с АГ 2-й степени и в 18,4 раза у лиц с АГ 3-й степени в сравнении с показателями контрольной группы. Полученные результаты о повышении уровня 8-изопростаана в сыворотке крови, могут трактоваться как формирование при ГБ состояния ОС, что имеет важное значение для объяснения агрегации сердечно-сосудистых заболеваний в этой категории больных. У больных ГБ имело место снижение активности антиоксидантной системы на основании уменьшения активности СОД и каталазы.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, оксидативный стресс, 8-изопростаан, супероксиддисмутаза, каталаза.

Гіпертонічна хвороба (ГБ) – одне з найпоширеніших хронічних захворювань людини. За статистичними даними Міністерства охорони здоров'я, в Україні у 2007 році зареєстровано понад 11 млн. людей з ГХ, що складає 29,9% дорослого населення.

Гіпертонічна хвороба залишається актуальною проблемою кардіології в зв'язку з значною поширеністю та розвитком ураження органів-мішеней. Проспективні дослідження встановили взаємозв'язок між захворюваністю і смертністю, обумовлену артеріальною гіпертензією та акумуляцією в популяції певних факторів, які підвищують ризик фатальних наслідків [6,8].

Для хворих гіпертонічною хворобою характерні виражена активація продукції вільних радикалів і формування стану оксидативного стресу [9]. На сучасному етапі терміном „оксидативний стрес” (ОС), розуміють стан, при якому кількість вільних радикалів, що утворюються в організмі, істотно перевищує активність ендогенних антиоксидантних систем, що забезпечують їх елімінацію [1,3,7]. До вільних радикалів належать сполуки, що містять неспарені електрони і володіють значно більшою реакційною здатністю щодо їхніх нерадикальних аналогів [2].

Визначення оксидативного стресу базується на комплексному вивченні прооксидантного стану (продукти перекисного окислення ліпідів (ПОЛ)) та ступеня антиоксидантного захисту організму за рівнем супероксиддисмутази (СОД), каталази та інших показників [4]. Сучасним методом оцінки розвитку оксидативного стресу є визначення в плазмі крові продукту вільнорадикального окислення арахідонової кислоти 8-ізопростагландину F_{2α} (8-ізопростаану), як чутливого та специфічного маркера підвищення ПОЛ в організмі.

На теперішній час існують малочислені дослідження 8-ізопростаану при кардіальній та поєднаній патології. Виявлено, що у осіб з ожирінням, порівняно з особами з нормальною масою тіла, підвищений рівень 8-ізопростаану асоціюється із зростанням рівня циркулюючого СД 40L [5].

Матеріали та методи дослідження

Для визначення активності СОД та каталази було обстежено 100 пацієнтів на ГХ та 16 практично здорових осіб. Вік хворих в обстеженій вибірці склав від 32 до 70 років (середній вік 54,54±0,91 років) та суттєво не відрізняється від такого в контрольній групі (43,68±14,23). Жінок було 81%, чоловіків 19%. Здорових осіб чоловіків було 8 (50%), жінок – 8 (50%). Хворі проходили обстеження на базі терапевтичного відділення міської клінічної лікарні № 11 міста Харкова. Верифікацію діагнозу, визначення ступеня та стадії артеріальної гіпертензії (АГ) проводили на підставі клініко-анамнестичного та лабораторно-інструментального досліджень з використанням критеріїв, рекомендованих Українським товариством кардіологів (2007 рік) та Європейським товариством гіпертензії / Європейським товариством кардіології (ESH/ESC).

В дослідження не включали пацієнтів з вторинною АГ, супутньою онкопатологією, гострими та хронічними запальними захворюваннями, цукровим діабетом.

До включення в дослідження усі хворі протягом останнього року нерегулярно приймали антигіпертензивні препарати.

Тривалість захворювання коливалася від 1 місяця до 30 років та в середньому становила 9,0±0,71 років.

За рівнем АГ обстежені хворі були розподілені таким чином: 18% - з АГ 1 ступеня. 27% - з АГ 2 ступеня, 55 % - з АГ 3 ступеня. В залежності від ураження органів-мішеней, АГ I стадії встановлено у 4 хворих (4%); II стадії – у 80 хворих (80%) та III стадія АГ спостерігалася у 16 пацієнтів (16%).

В умовах стаціонару було обстежено 34 пацієнта на рівень 8-ізопростану. 3 АГ 1-3 ступенів у віці від 30 до 65 років (середній вік (55,3±1,33) років), котрим раніше не проводили регулярну антигіпертензивну терапію. В контрольну групу увійшло 10 здорових осіб, за статтю та віком порівняні з хворими основної групи.

Активність СОД, каталази визначали біохімічним методом. Рівень 8-ізопростану (8-iso-Pg F_{2α}) у сироватці крові виміряли за допомогою імуноферментного методу.

Результати досліджень та їх обговорення.

Перевірка нормальності розподілу СОД та каталази у пацієнтів на АГ виявлялася при візуальному аналізі гістограм, а також при використанні тестів Колмогорова –Смірнова, Шапіро-Уилка та Лілієфорса (рис. 1 та рис. 2).

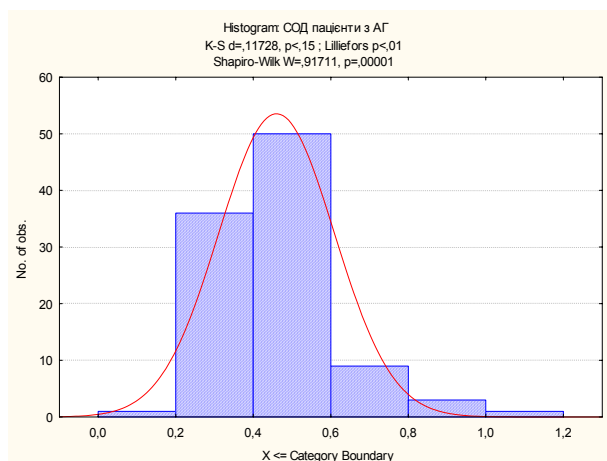


Рис. 1. Гістограма: СОД у пацієнтів на ГХ.

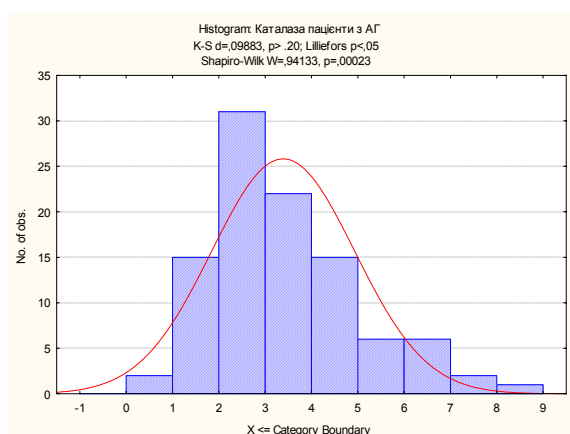


Рис. 2 Гістограма: каталаза у пацієнтів на ГХ.

У обстежених хворих було виявлено достовірне зниження активності СОД у понад 1,17 рази (або на 15%) порівняно з показниками групи контролю, де $p < 0,05$ (рис. 3).

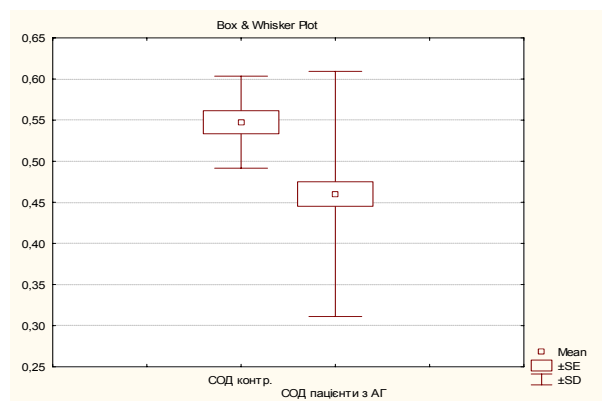


Рис. 3. Активність СОД у пацієнтів на ГХ та в групі контролю.

Зміни активності каталази у обстежених хворих порівняно з нормотензивними особами виявлено не було (рис.3.)

При аналізі активності СОД у хворих із різними ступенями АГ, була встановлена тенденція до зниження активності СОД у пацієнтів 1-го ступеня на 13% ($p > 0,05$) та достовірне зниження у пацієнтів 2-го та 3-го ступенів на 16,7% та 14,8% відповідно, порівняно з показниками групи контролю, де $p < 0,05$

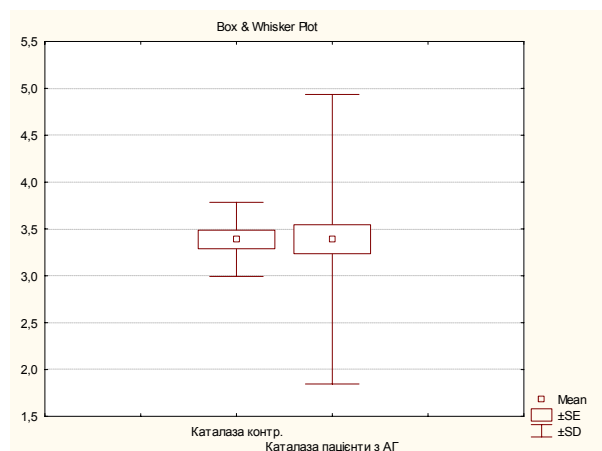


Рис. 4 Активність каталази у пацієнтів на ГХ та в групі контролю.

При визначенні активності каталази у хворих по ступеням АГ не було виявлено вірогідних розбіжностей порівняно з показниками групи контролю, але встановлена тенденція до зниження активності каталази пацієнтів з АГ 3-го ступеня на 3,6%, де $p > 0,05$. Звертала увагу також тенденція до підвищення активності останнього показника у пацієнтів 1-го та 2-го ступенів АГ на 5% проти показників групи контролю, де $p > 0,05$ (таб. 1).

Таблиця 1
Активність СОД та каталази у пацієнтів з різним ступенем АГ (Mean±SD)

Показник	Супероксиддисмутаза (мккатал/л)	Каталаза (мккатал/л)
Контроль (n=16)	0,54±0,05	3,388±0,39
Пацієнти на АГ (n=100)	0,46±0,14*	3,389±1,54
1-й ступінь АГ (n=18)	0,47±0,22	3,53±2,02
2-й ступінь АГ (n=27)	0,45±0,13*	3,54±1,57
3-й ступінь АГ (n=55)	0,46±0,12*	3,26±1,35

Примітка: * - $p < 0,05$ достовірність різниці порівняно з групою контролю.

Тенденцію до підвищення активності каталази у хворих на ГХ 1-го та 2-го ступенів в порівнянні з показниками групи контролю можна пояснити активацією антиоксидантного захисту на тлі вираженої напруги ОС. Але у хворих на ГХ з 3-ім ступенем, тоді як буде відмічено максимальне підвищення рівня 8-ізопространу, як чутливого маркера ОС, спостерігалось виснаження активації антиоксидантного захисту.

Таким чином, у хворих на ГХ мало місце зниження активності антиоксидантної системи.

Нормальність розподілу оцінювали візуально по графікам на імовірному папері (рис. 4).

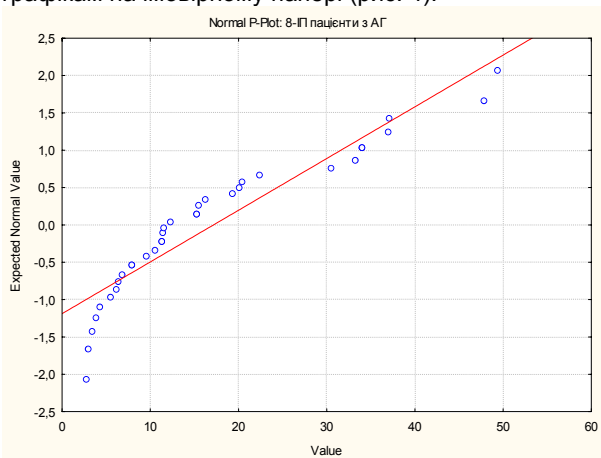


Рис. 4. Нормальність розподілу показника 8-ізопространу у пацієнтів на ГХ

Масштаб вертикальної осі вибирали так, щоб нормальному розподілу відповідали прямі лінії (імовірна шкала). Наглядна близкість експериментальних крапок до прямої лінії дозволяє говорити про нормальність розподілу варіаційного ряду.

Під час аналізу ОС в даному дослідженні відмічалось достовірне збільшення кількості 8-ізопространу у сироватці крові пацієнтів на ГХ порівняно з групою контролю: (17,15±3,12) та (1,41±0,81) пг/мл відповідно, де $p < 0,05$.

При цьому рівень 8-ізопространу у хворих на ГХ в 12,16 разів перевищував показник групи контролю (рис. 5).

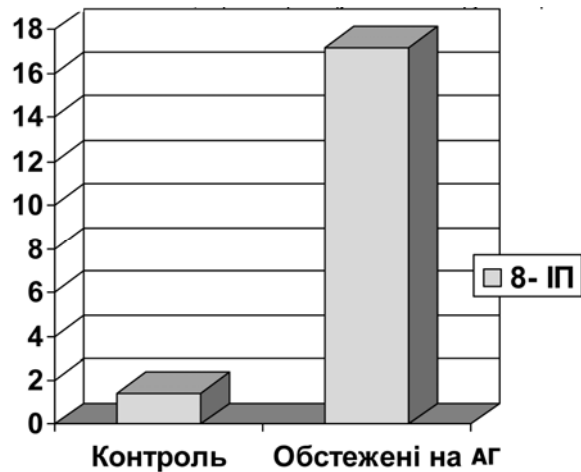


Рис. 5. Рівень 8-ізопространу у пацієнтів на ГХ порівняно з показниками групи контролю.

Кількість 8-ізопространу у сироватці крові обстежених хворих з різним ступенем АГ та осіб контрольної групи показано у таблиці 2.

При зіставленні кількості 8-ізопространу в сироватці крові хворих на ГХ в залежності від рівня АТ відмічалось статистично достовірне збільшення кількості 8-ізопространу: в 3,17 рази у осіб з АГ 1-го ступеня, в 7,1 рази у осіб з АГ 2-го ступеня та в 18,4 рази у осіб 3-го ступеня порівняно з показниками контрольної групи, де $p < 0,001$. У пацієнтів з АГ 3-го ступеня останній показник перевищував аналогічний у 5,8 рази (де $p < 0,001$) та у 2,59 рази (де $p < 0,01$) відповідно, у пацієнтів 1-го та 2-го ступенів. У пацієнтів з АГ 2-го ступеня величина показника 8-ізопространу була на 123,7% вища порівняно з пацієнтами на АГ 1-го ступеня, а у осіб на АГ 3-го ступеня величина вказаного параметру на 158,9% перевищувала аналогічний у пацієнтів з АГ 2-го ступеня.

Таблиця 2
Рівень 8-ізопространу у пацієнтів на ГХ з різним ступенем АГ та у осіб контрольної групи (Mean±SD)

Показник	Контроль (n=10)	Обстежені на АГ (n=34)		
		1 ступінь АГ	2 ступінь АГ	3 ступінь АГ
8-ізопростран (пг/мл)	1,41±0,81	4,48±1,56*	10,02±2,8 ^Δ	25,94±12,2 ^{*Δ#}

Примітка: * - достовірність різниці порівняно з показниками контрольної групи $p < 0,001$; $\Delta p < 0,001$ порівняно з показниками пацієнтів на АГ 1-го ступеня; # $p < 0,01$ порівняно з показниками пацієнтів на АГ 2-го ступеня.

Висновки

Отримані дані про підвищення рівня 8-ізопространу у сироватці крові, можуть трактуватися як формування при ГХ стану ОС, що має важливе значення для пояснювання агрегації серцево-судинних захворювань в цій категорії хворих.

Тенденцію до підвищення активності каталази у хворих на ГХ 1-го та 2-го ступенів в порівнянні з показниками групи контролю можна пояснити активацією антиоксидантного захисту на тлі вираженої напруги ОС. Але у хворих на ГХ з 3-ім ступенем, тоді як було відмічено максимальне підвищення рівня 8-

ізопростану, як чутливого маркеру ОС, спостерігалось виснаження активації антиоксидантного захисту. Таким чином, у хворих на ГХ мало місце зниження активності антиоксидантної системи на підставі зниження активності СОД та каталази.

Література

1. Активность внутриклеточных антиоксидантных ферментов у больных гипертонической болезнью / С.А. Ельчанинова, Л.П. Галактионова, Н.В. Толмачева [и др.] // Тер. архив. – 2000. – № 4. – С. 51-53.
2. Барабой В. А. Биоантиоксиданты / Барабой В. А. – К.: 2006. – 461с.
3. Ковалёва О.Н. Роль оксидативного стресса в кардиоваскулярной патологии / О.Н. Ковалёва, А.Н. Беловол, М.В.Зайка // Журн. АМН України, 2005, т.11. - № 4. – С. 660-670.

4. Оксидативний стрес. Прооксиданти та антиоксиданти / [Є.Б. Менщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков та ін.] - М. "Соова". – 2006. – 553 с.
5. Decideri G. Effects of obesity and weight loss on soluble CD 40 L levels / G. Decideri, C. Ferry // JAMA. – 2003. – Vol. 289. – P. 1781-1782.
6. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systemic analysis of population health data // A.D. Lopez, C.D., Mathers, M. Ezzati [et al.] // Lancet. – 2006. – Vol. – 367. P. 1747-1575.
7. Romero J.C. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension / J.C. Romero, J.F. Reckelhoff // Hypertension. – 1999. –Vol. 34(part 2). – P. 943-949.
8. Ruilope L.M. Reducing Cardiovascular Risk in hypertension patients / L.M. Ruilope // - 2007. – P. 53.
9. Superoxide excess in hypertension and aging: a common cause of endothelial dysfunction / C.A. Hamilton, M.J. Brosnan, M. McIntyre [et al.] // Hypertension. – 2001. - Vol. 37. – P.529-534.

Summary

LEVELS OF 8-ISOPROSTANE AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

O.M. Kovalyova, N.M. Gerasimchuk, N.A. Safargalina-Kornilova, V.I. Smirnova, S.V. Potabenko

Key words: arterial hypertension, oxidant stress, 8-isoprostane, superoxidedismutase, catalase.

The status of prooxidant and antioxidant systems by examining the level of 8-isoprostane, a key marker of the OS, and superoxide dismutase and catalase in patients with hypertension has been determined. 100 patients with AH aged 32 to 70 years (average age $54,54 \pm 0,91$) and 16 healthy subjects (average age $43,68 \pm 14,23$) were examined. The antioxidant system condition was evaluated based on the activity of SOD and catalase in blood serum, determined by biochemical method. The level of 8-isoprostane (8-iso-Pg F_{2α}) in serum was determined by ELISA. In the examined patients the significant decrease in SOD activity in 1.17-fold (or 15%) compared with control group performance was detected. In the analysis of SOD activity in patients with varying degrees of hypertension, the tendency of SOD activity decrease by 13% ($p > 0.05$) in patients of 1st degree and significant decrease by 16.7% and 14.8% in patients of the 2nd and 3rd degree respectively, compared with rates of the control group has been revealed. The significant increase in the level of 8-isoprostane in the serum of patients with AH in comparison with indicators of monitoring: ($17,15 \pm 3,12$) and ($1,41 \pm 0,81$) pg / ml, respectively has been noted. When comparing the levels of 8-isoprostane in the serum of patients with AH depending on the level of blood pressure, there was the statistically significant increase in the level of the last figure on 3.17 times in subjects with hypertension of 1st degree, 7.1 times in people with hypertension of 2nd degree, and 18.4 times in patients with hypertension of 3rd degree, as compared with the control group. The obtained results on increase of -isoprostane level 8 in the serum can be interpreted as the formation of a AH in the state of OS, which is important to explain the aggregation of cardiovascular disorders in this category of patients. In patients with AH the decreased activity of antioxidant systems on the basis of SOD and catalase decreasing activity has been detected.

Kharkiv National Medical University

Матеріал надійшов до редакції 08. 09.2011 р.