

РОЛЬ НІТРОЗУЮЧОГО СТРЕСУ В ФОРМУВАННІ ЕНДОТЕЛІАЛЬНО ДИСФУНКЦІ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ В ПОЄДНАННІ ЗІ СТЕНОКАРДІЄЮ НАПРУГИ І ШЛЯХИ КОРЕКЦІ

РОЛЬ НІТРОЗУЮЧОГО СТРЕСУ В ФОРМУВАННІ ЕНДОТЕЛІАЛЬНО ДИСФУНКЦІ У ХВОРИХ НА ГІПЕРТОНІЧНУ ХВОРОБУ В ПОЄДНАННІ ЗІ СТЕНОКАРДІЄЮ НАПРУГИ ТА ШЛЯХИ КОРЕКЦІ – Вивчали функціональний стан судинного ендотелію та рівень нітрозуючого стресу у 106 пацієнтів із гіпертонічною хворобою II стадії, із них 78 – в поєднанні зі стенокардією напруги I–II ФК, а також у 30 практично здорових осіб. Аналіз результатів дослідження показав пряму залежність між тяжкістю ендотеліально дисфункції та зростанням процесів нітрозуючого стресу. Застосування метаболіто-активних препаратів на тлі базисної фармакотерапії призводить до реверсії нітрозуючого стресу та ендотеліально дисфункції, підвищуючи біодоступність оксиду азоту на тлі збільшення активності антиоксидантних ферментів.

РОЛЬ НИТРИЗИРУЮЩЕГО СТРЕССА В ФОРМИРОВАНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ В СОЧЕТАНИИ СО СТЕНОКАРДИЕЙ НАПРЯЖЕНИЯ И ПУТИ ЕЕ КОРЕКЦИИ – Изучали функциональное состояние сосудистого эндотелия и выраженность нитрозирующего стресса у 106 пациентов с гипертонической болезнью II стадии, из них 78 – в сочетании со стенокардией напряжения I–II ФК, а также у 30 практически здоровых лиц. Анализ результатов исследования показал прямую зависимость между тяжестью эндотелиальной дисфункции и выраженностью нитрозирующего стресса. Применение метаболито-активных препаратов на фоне базисной фармакотерапии приводит к реверсии нитрозирующего стресса и эндотелиальной дисфункции, повышая биодоступность оксида азота на фоне увеличения активности антиоксидантных ферментов.

ROLE OF NITROSATIVE STRESS IN FORMATION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH HYPERTONIC DISEASE IN COMBINATION WITH AN ANGINA PECTORIS AND THE WAYS OF ITS CORRECTION – We studied a functional condition of a vascular endothelium and the level of nitrosative stress in 106 patients with hypertonic disease of the II stage, among them 78 were in combination with angina pectoris and also in 30 healthy persons. Analysis of the study results showed direct dependence between endothelial dysfunction and amplification processes nitrosative stress. Application of metabolite-active drugs on the background of base pharmacotherapy leads to a reversal nitrosative stress and endothelial dysfunction, increasing the bioavailability of nitric oxide on the background of increased activity of antioxidant enzyme.

Ключові слова: нітрозуючий стрес, ендотеліальна дисфункція, гіпертонічна хвороба, стенокардія напруги, метаболіто-активна терапія.

Ключевые слова: нитрозирующий стресс, эндотелиальная дисфункция, гипертоническая болезнь, стенокардия напряжения, метаболито-активная терапия.

Key words: nitrosative stress, endothelial dysfunction, hypertonic disease, angina pectoris, metabolite-active therapy.

ВСТУП Незважаючи на досягнуті в останні десятиліття успіхи у профілактиці і лікуванні гіпертонічно хвороби (ГХ) та ішемічно хвороби серця (ІХС), оптимізація лікування даних захворювань залишається однією з найбільш актуальних проблем сучасно кардіології [2].

На даний момент сформована теоретична основа для нового напрямку фундаментальних і клінічних досліджень у кардіології: розробка участі ендотелію в патогенезі серцево-судинного континууму, а також способів ефективно корекції його дисфункції [6]. Так, необхідність корекції дисфункції ендотелію (ДЕ) повинна служити як показник адекватності антигіпертензивно і антиангінально терапії. Отже, зниження артеріального тиску і поліпшення гемодинаміки без корекції ДЕ не може вважатися успішно рішенням клінічного завдання.

Доведено, що ДЕ у хворих на ГХ викликана одночасним пошкодженням у системі L-аргінін-оксид азоту і дискоординації окиснювальних процесів, причому порушення біодоступності оксиду азоту первинне. Такий дисбаланс був встановлений у нормотензивних осіб та розцінений як первинний генетичний дефект, який лежить в основі ДЕ [5, 8]. Крім того, нормалізація артеріального тиску не завжди супроводжується відновленням ендотеліозалежно вазодилатації [2, 7]. Ряд авторів стверджує, що зміни процесів синтезу NO, зниження біодоступності NO на тлі підвищеного нітрозуючого і оксидативного стресу – ключові компоненти патогенезу ГХ [7–10]. Нітрозуючий стрес – це порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу зі зрушенням від сигнально трансдукції до окиснювально патолофізіології, пов'язане зі збільшеною продукцією реактивних форм азоту та / або супероксидпохідних оксидантів [7]. При цьому медіаторна функція реактивних форм кисню та азоту трансформуються в пошкоджувальну, зумовлену окисною модифікацією різних молекул, включаючи ДНК, білки і ліпіди, потенційно ведучи до цитотоксичності [3, 4].

На даний момент встановлено ефективний вплив метаболіто-активних препаратів на патогенетичні чинники, що призводять до розвитку ДЕ у хворих на ГХ в поєднанні зі стенокардією напруги, і таким чином, сприяють зниженню серцево-судинно летальності та розвитку судинних катастроф [1]. Тіотриазолін і триметазидин можна віднести до препаратів метаболічного типу дії, що нормалізують порушення енергетичного обміну з антиоксидантним ефектом. Триметазидин надає переважно метаболічні ефекти шляхом блокування β-окиснення жирних кислот, відновлюючи аеробний шлях окиснення глюкози. Тіотриазолін, крім блокування синтезу жирних кислот, здатний вловлювати активні форми кисню та азоту, гальмувати синтез, активувати антиоксидантні ферменти, а також діяти інгібуюче на процеси окиснювально модифікації білкових структур рецепторів, іонних каналів, ферментів, чинників транскрипції.

Механізми, які ініціюють формування ДЕ у хворих на ГХ в поєднанні зі стенокардією напруги, на сьогодні остаточно не досліджені, а також немає однозначно думки щодо ролі нітрозуючого стресу у формуванні та прогресуванні ДЕ і терапевтично стратегії, спрямовано на ефективно блокування цих механізмів

Метою роботи стало вивчення взаємозв'язку між ступенем вираженості нітрозуючого стресу та тяжкістю ДЕ у хворих на ГХ в поєднанні зі стенокардією напруги й оцінка терапевтично ді на дані порушення метаболітів-активних препаратів на тлі традиційно базисно фармакотерапі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ У дослідження було включено 106 пацієнтів із ГХ II стадії, I-II ступеня артеріально гіпертензії, з них 78 – у поєднанні з ІХС: стенокардією напруження I-II ФК, а також 30 практично здорових осіб, співставлені за статтю і віком. Всіх досліджуваних осіб було піддано загальноклінічним, інструментально-лабораторним обстеженням з метою верифікації діагнозу, визначення ускладнень та супутньої патології. Групи хворих були порівняні за тривалістю перебігу артеріально гіпертензії і за основними кардіогемодинамічними показниками. До критеріїв виключення пацієнтів належали: вторинна артеріальна гіпертензія, клінічно значуща супутня патологія, відмова від участі в дослідженні.

Хворих на ГХ у поєднанні з ІХС поділили на дві групи по 19 чоловік. У першу групу увійшли пацієнти, які для зменшення процесів нітрозуючого стресу на тлі базисно фармакотерапі брали триметазидин (предуктал MR виробництва Servier, Франція) у дозі 70 мг на добу. Другу групу склали пацієнти, які отримували комбінацію триметазидину 70 мг/добу і тіотриазоліну (тіотриазолін, виробництва АТ "Галичфарм", Україна) 300 мг / добу на тлі базисно терапі. Весь період лікування склав 12 тижнів.

Інтенсивність нітрозуючого стресу оцінювали шляхом визначення сироваткового рівня 3-нітротирозину за допомогою імуноферментного методу з використанням стандартного набору "Nitrotyrosine" фірми "HyCult biotechnology bv" (Нідерланди). Інтенсивність окисно модифікації

білка (ОМБ) вивчали методом В. Halliwell, M. C. Yutteridge (1999), визначаючи ступінь спонтанної і метал-каталізованої модифікації білка в сироватці крові. Про утворення оксиду азоту (NO) судили за сумарним рівнем нітритів та нітратів (NOx) в сироватці крові, попередньо проводячи конверсію нітратів у нітрити з використанням реактиву Griess спектрофотометричними методами. Рівень L-аргініну в сироватці крові визначали за допомогою хроматографії. Антиоксидантні властивості крові оцінювали за активністю сироваткового рівня глутатіонредуктази і каталази спектрофотометричним методом. Для вивчення ДЕ використовували ехолокацію і доплерографію плечової артерії за методом Celermajer DS, досліджуючи такі показники.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми "STATISTICA 6.0 for Windows" (StatSoft Inc.). Дані представлені у вигляді: середнє значення ± його середнє квадратичне відхилення, нормальність розподілу кількісних значень дослідження за допомогою критерію Колмогорова-Смирнова, Shapiro-Wilks.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ Отримані результати, наведені в таблиці 1, характеризують стан судинного ендотелію, про- і антиоксидантних систем в обстежуваних осіб.

Ці дані свідчать про наявність достовірного зниження рівня стабільних метаболітів NO у сироватці крові хворих на ГХ незалежно від наявності ІХС (P<0,05), яке досягає найменшого рівня у пацієнтів із ГХ у поєднанні з ІХС, що свідчить про зниження біодоступності NO у цій когорті пацієнтів. З іншого боку, концентрація L-аргініну у хворих на ГХ достовірно вище за таку в здорових осіб і достовірно нижче у пацієнтів, які мали ГХ і ІХС. Все це свідчить про напругу процесів надмірно продукції NO при ГХ і розвиток дефіциту NO у пацієнтів із ГХ та ІХС. Необхідно відзначити, що цей механізм має місце

Таблиця 1. Показники, що характеризують стан судинного ендотелію, прооксидантну та антиоксидантну системи обстежуваних осіб

Показник	Здорові (n=30)	Хворі на ГХ (n=28)	Хворі на ГХ і ІХС (n=78)
Нітрити, мкмоль/л	19,90±1,36	17,82±2,08*	12,25±0,09*#
Каталаза, мкат/мг білка/хв	0,008±0,01	0,0048±0,003*	0,004±0,006*
Глутатіонредуктаза, нмоль /мг білка/хв	0,25±0,09	0,2±0,05	0,18±0,06
L-аргінін, мкмоль/л	123,38±15,07	124,82±19,53	113±9,20*
3-нітротирозин, нМ	5,50±2,64	10,81±6,49*	37,56±24,86*#
АФГспонтан., у.о./мг білка	0,061±0,03	0,081±0,009*	0,082±0,007*
АФГстимул., у.о./мг білка	0,138±0,01	0,146±0,009	0,146±0,01
КФГспонтан., у.о./мг білка	0,032±0,005	0,048±0,008	0,056±0,003*#
d, мм	4,07±0,29	4,28±0,15	4,49±0,14
d ₁ , мм	4,89±0,25	5,10±0,20	5,13±0,18
d ₂ , мм	4,43±0,18	4,27±0,13	4,30±0,15
% вазодилатації	16,67±0,82	16,10±0,75	12,47±0,51#
% гіперемії	8,01±0,21	-0,23±0,12*	-4,20±0,17*#
V _{max} , см/с	88,10±26,21	93,52±16,10	101,5±13,67*#
V _{max1} , см/с	248,40±21,60	183,6±13,55*	162,5±11,87*#
V _{max2} , см/с	146,03±18,90	140,25±17,22*	145,10±13,47
τ, дин./см ²	43,22±2,83	43,7±2,05	45,20±1,55
τ ₁ , дин./см ²	101,61±4,18	187,27±5,16	166,73±5,11*
τ ₂ , дин./см ²	88,5±6,37	119,99±7,36	124,79±6,15*#
K, од.	0,157±0,009	-0,0037±0,0007*	-0,066±0,008*#

Примітки: 1.* – у здорових; 2. # – у хворих на ГХ (p < 0,05).

при втраті антиоксидативних властивостей крові, про що і свідчить прогресивне зменшення сироваткової активності глутатіонредуктази і каталази, які досягають найменших значень у групі хворих на ГХ та ІХС. Все це вказує на можливість підвищеної деградації NO у даній групі пацієнтів. Надмірна активність нітрозуючого стресу не тільки негативно впливає на рівень продукції NO з L-аргініну, але і прискорює пероксидацію протеїнів, про що свідчить підвищений рівень 3-нітротирозину і показників ОМБ в когорті хворих на ГХ та ІХС. Необхідно відзначити, що у хворих на ГХ з і без ІХС не виявлено достовірних відмінностей на рівні спонтанно та стимульовано модифікації протеїнів. Але інтенсивність ОМБ у даної категорії осіб значно вище за таку в здорових осіб, особливо за рахунок спонтанно фракції.

Отримані дані вказують на розвиток ДЕ у хворих на ГХ незалежно від наявності ІХС. При цьому вазоконстрикторна реакція плечової артерії більш виражена у хворих з поєднанням ГБ і ІХС. Динаміку показників ендотеліальної функції плечової артерії у хворих на ГХ разом з ІХС у процесі лікування представлено в таблиці 2.

Аналіз отриманих даних показав, що вихідний діаметр плечової артерії в процесі лікування збільшувався в обох групах. Однак темп приросту цього показника в другій групі порівняно з першою був вище і носив достовірний характер. У пацієнтів другої групи мала місце часткова реверсія вазоконстрикторної реакції плечової артерії, що розвивається при проведенні тесту з реактивною

гіперемією. При цьому вихідний діаметр плечової артерії збільшувався до кінця терапії на 2,29 %, тоді як до лікування мало місце його зменшення на 3,23 %. У пацієнтів першої групи в результаті лікування зберігалася вазоконстрикторна реакція плечової артерії, викликана збільшенням в ній швидкості кровотоку. Вихідна V_{max} у пацієнтів першої та другої груп була статистично порівнянна. У процесі лікування у всіх хворих мала місце тенденція до зниження цього показника, більш виражена у пацієнтів другої групи.

Отримані дані свідчать про те, що комбінація тіотриазоліну і триметазидину порівняно з ізольованим застосуванням триметазидину суттєво поліпшує механічні властивості ендотелію і модулює сприятливі гемодинамічні ефекти нітратів.

Стан про- і антиоксидантних властивостей сироватки крові в пацієнтів до і після лікування представлено в таблиці 3.

Проведена терапія дозволила знизити інтенсифікацію процесів оксидації і підвищити рівень антиоксидантного захисту, про що свідчать зниження рівня ОМБ і 3-нітротирозину, а також збільшення рівня активності каталази та глутатіонредуктази, що мало характер тенденції. Рівень кінцевих метаболітів оксиду азоту у пацієнтів обох груп мав тенденцію до зростання. Найбільш виражений вплив на дані показники було зареєстровано в другій групі пацієнтів (31,3 % проти 26,1 % в першій групі). Активність 3-нітротирозину і показників ОМБ також знижувалася більш вірогідно у пацієнтів другої групи. Концентрація L-аргініну більш істотно

Таблиця 2. Динаміка показників ендотеліальної функції плечової артерії у хворих на ГХ в поєднанні з ІХС у процесі лікування

Показник	Група хворих	До лікування	Після лікування	$\Delta\%$
d, мм	1	4,31±0,12	4,38±0,13	+1,64
	2	4,34±0,15	4,69±0,19*	+7,46
d ₁ , мм	1	5,09±0,09	5,20±0,10	+2,13
	2	5,13±0,12	5,61±0,28*	+8,55
d ₂ , мм	1	4,18±0,08	4,30±0,090	+2,79
	2	4,20±0,12	4,80±0,210*	+12,5
% вазодилатації	1	15,32±0,71	15,73±0,80	+2,61
	2	15,40±0,80	16,40±0,92	+6,10
% гіперемії	1	-3,02±0,12	-1,87±0,069*	+38,1
	2	-3,23±0,15	2,29±0,090*	+170,9
V _{max} , см/с	1	98,33±12,60	93,63±4,96	-4,78
	2	99,75±13,50	90,31±6,10	-9,46
V _{max1} , см/с	1	162,56±19,33	168,82±17,61	+3,71
	2	164,90±18,10	171,31±15,20	+3,74
V _{max2} , см/с	1	133,50±17,14	139,60±10,11	+4,37
	2	135,70±19,50	143,35±11,84*	+5,34
τ , дин./см ²	1	45,63±1,77	42,73±1,16	-6,36
	2	47,20±2,20	37,50±1,13*	-20,55
τ_1 , дин./см ²	1	165,49±8,12	175,60±9,19*	+5,75
	2	168,50±9,30	184,10±10,40*	+8,47
τ_2 , дин./см ²	1	111,61±4,13	120,06±4,73	+7,04
	2	115,20±4,90	141,70±5,80*	+18,70
K, од.	1	-0,049±0,008	-0,029±0,007*	+40,41
	2	-0,060±0,009	+0,130±0,004*	+316,7

Примітка. 1.* – достовірність відмінностей щодо початкового значення досліджуваних показників.

Таблиця 3. Динаміка показників про- і антиоксидантних властивостей сироватки крові у пацієнтів до і після лікування

Показник	Група хворих	До лікування	Після лікування	Δ%
3-нітротирозин, нМ	1	42,83±28,38	36,07±25,5	-15,8
	2	36,96±19,31	22,57±26,64	-38,9
Глутатіонредуктаза, нмоль /мг білка/хв	1	0,23±0,09	0,24±0,1	+4,2
	2	0,23±0,11	0,26±0,077	+11,5
Каталаза, мкат/мгбілка/хв	1	0,0027±0,004	0,0047±0,0035	+42,5
	2	0,0028±0,0086	0,0087±0,0036	+67,8
АФГ спонт., у.о./мг білка	1	0,079±0,0049	0,067±0,007	-15,2
	2	0,075±0,009	0,065±0,006	-13,3
КФГ спонт., у.о./мг білка	1	0,055±0,0046	0,045±0,177	-18,2
	2	0,056±0,009	0,043±0,005	-23,2
АФГ стим., у.о./мг білка	1	0,148±0,01	0,137±0,015	-7,4
	2	0,151±0,013	0,138±0,012	-8,6
КФГ стим., у.о./мг білка	1	0,069±0,005	0,056±0,007	-18,8
	2	0,065±0,008	0,057±0,006	-12,3
L-аргінін, мкмоль/л	1	119,82±19,05	128,96±25,51	+7,1
	2	119,02±18,869	135,2±20,65	+11,9
Нітрити, мкмоль/л	1	13,71±3,41	18,56±3,716	+26,1
	2	13,42±2,82	19,54±5,78	+31,3

підвищилася у пацієнтів другої групи, що асоціювалося з супресією продукції 3-нітротирозину в сироватці крові.

ВИСНОВКИ Результати даного дослідження дозволяють стверджувати, що саме комбінація тіотриазоліну та триметазидину порівняно з ізольованим використанням триметазидину на тлі традиційно базисної терапії дозволяє нормалізувати біодоступність оксиду азоту за рахунок реверсії активності нітрозуючого стресу, відновлюючи порушення функції судинного ендотелію, сприяючи впливати на віддалений прогноз. Включення метаболітів-активних препаратів у базисну фармакотерапію хворих на гіпертонічну хворобу в поєднанні зі стенокардією напруження може бути актуальним і **перспективним** в кардіології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Амосова Е. Н. Метаболическая терапия поврежденных миокарда, обусловленного ишемией: новый подход к лечению ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности / Е. Н. Амосова // Украинский кардиологический журнал. – 2000. – № 4. – С. 86–92.
- Кондратюк В. Є. Вікові особливості структурно-функціонального стану серця та артерій еластичного типу, системно гемодинаміки, біоелектричної активності міокарда у хворих на гіпертонічну хворобу / В. Є. Кондратюк, Л. М. Єна // Журнал Академії Медичних Наук України. – 2009. – № 1. – С. 98–116.
- Bachschmid M. Redox regulation of vascular prostanoid synthesis by the nitric oxide-superoxide system / M. Bachschmid, S. Schildknecht, V. Ullrich // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2005. – Vol. 338. – P. 536–542.
- Bartesaghi S. Protein tyrosine nitration in hydrophilic and hydrophobic environments / S. Bartesaghi, G. Ferrer-Sueta, G. Peluffo [et al.] // Amino Acids. – 2007. – Vol. 32. – P. 501–515.
- Ceriello Antonio. Possible Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Hypertension / Antonio Ceriello // Diabetes Care. – 2008. – Vol. 31. – P. 181–S184.
- Davignon J. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis / J. Davignon, P. Ganz // Circulation. – 2004. – Vol. 109. – P. 27–32.
- Escobales N. Oxidative-nitrosative stress in hypertension / N. Escobales, M. J. Crespo // Curr. Vasc. Pharmacol. – 2005. – Vol. 3. – P. 231–246.
- Landmesser U. The clinical significance of endothelial dysfunction / U. Landmesser, H. Drexler // Curr. Opin. Cardiol. – 2005. – Vol. 20. – P. 547–551.
- Trostchansky A. Interactions between nitric oxide and peroxynitrite during prostaglandin endoperoxide H synthase-1 catalysis: a free radical mechanism of inactivation / A. Trostchansky, V. B. O'Donnell, D. C. Goodwin [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2007. – Vol. 42. – P. 1029–1038.
- Zimmet J. M. Nitroso-Redox Interactions in the Cardiovascular System / J. M. Zimmet, J. M. Hare // Circulation. – 2006. – Vol. 114. – P. 1531–1544.

Отримано 10.03.11