

КЛИНИЧЕСКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 577.161.2 + 125.33 + 37

© Коллектив авторов

О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОМ ЗНАЧЕНИИ НАРУШЕНИЙ СОСТОЯНИЯ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

А.В.ПАРАНИЧ¹, С.Н.ЛАД², Н.А.ФРОЛОВА², И.А.СНЕГУРСКАЯ³,
С.Н.КОВАЛЬ³

¹Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина

²Харьковский государственный медицинский университет

³Институт терапии АМН Украины, г.Харьков

В плазме крови и лимфоцитах здоровых доноров и пациентов с гипертонической болезнью II степени исследовали состояние антиокислительного гомеостаза. Изучали содержание в объектах первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов, а также неферментативных компонентов АО системы - жирорастворимых витаминов: А, Е, каротина и метаболитов токоферола.

При гипертонической болезни II степени происходит усиление процессов ПОЛ с образованием и накоплением в крови производных полиеновых жирных кислот, обладающих гуморальной активностью, а также токсичных диальдегидов. При этом усиливается мобилизация резервов жирорастворимых витаминов из тканевых депо. Витамин Е, вероятно, непосредственно участвует в связывании токсических продуктов ПОЛ. Такие адаптационные изменения обеспечивают высокую АОА и нормальное функционирование лимфоцитов

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, антиокислительный гомеостаз, перекисное окисление липидов, жирорастворимые витамины, плазма крови, лимфоциты

ВВЕДЕНИЕ. Несмотря на многолетние и всесторонние исследования патогенетических аспектов гипертонической болезни (ГБ), многие проблемы остаются еще не до конца выясненными. Общая патофизиологическая картина

определяется изменением системного уровня регуляции сосудистого тонуса; при этом проявляются эффекты универсальных изменений структурно-функциональных характеристик мембран клеток. Клиническое течение заболевания в каждом конкретном случае определяется локальными особенностями нарушений обмена веществ в органах или системах организма больного, длительностью анамнеза, наследственными факторами и пр.

К общим универсальным метаболическим процессам относится перекисное окисление липидов (ПОЛ), которое, как известно, контролируется многочисленными системами ферментативных и неферментативных антиоксидантов. Между процессами перекисного окисления и реакциями их ограничивающими существует динамическая взаимосвязь. Если организм способен удерживать антиоксидантный (АО) гомеостаз, то некоторые отклонения от нормы обратимы. Если же восстановление АО гомеостаза запаздывает, то нарастают клинические проявления патологического состояния. Поскольку важным элементом в этиологии ГБ является дисбаланс в системе нейрогуморальной регуляции, то нарушения путей трансформации жирных кислот могут приобретать патогенетическое значение.

Как известно, гуморальная составляющая регуляторных систем организма в значительной степени зависит от ПОЛ; поскольку синтез биологически активных производных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК): лейкотриенов, тромбоксанов, простагландинов начинается с реакции перекисидации свободных жирных кислот. Отсутствие ограничений со стороны АО системы может приводить к лавинообразному усилению ПОЛ и нарастанию содержания в крови токсических продуктов этих реакций.

Имеющиеся в литературе сведения о роли продуктов ПОЛ в этиологии гипертонической болезни [1-3] являются недостаточно полными.

Целью настоящей работы было изучение степени сбалансированности процессов ПОЛ с уровнем неферментативных АО в плазме крови и лимфоцитах больных гипертонической болезнью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В экспериментах использовали плазму крови и лимфоциты здоровых доноров (группа контроля) и больных ГБ II степени (по классификации ВОЗ 1996 [4]), находившихся на лечении в отделении артериальной гипертонии Института терапии АМН Украины. Лимфоциты выделяли в градиенте плотности фиколл-верографина и ресуспендировали в среде Хенкса. В аликвотах плазмы крови и лимфоцитов определяли спектрофотометрически содержание первичных продуктов ПОЛ - диеновые (ДК), триеновые (ТК), оксодиеновые (ОДК) и тетраеновые (ТЕТ) конъюгаты [5]; колориметрически - содержание вторичных продуктов ПОЛ реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (малонового диальдегида (МДА)) [6]. После щелочного гидролиза образцов спектрофотометрически определяли содержание жирорастворимых витаминов: А, Е, каротиноидов, активных метаболитов токоферола (α -токоферилхинон (ТФХ) и димеры токоферола (ОТФ)) [7]. Общую антиоксидантную активность (АОА) оценивали по степени ингибирования исследуемым образцом реакции термического автоокисления олеиновой кислоты [8,9]. Количество изучаемых веществ определяли, используя коэффициенты молярной экстинкции [10] и пересчитывали на один мл плазмы крови или на один миллион лимфоцитов. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Уровень первичных продуктов ПОЛ в лимфоцитах больных гипертонической болезнью не отличается от контроля, а вторичных - даже в 5 раз ниже, чем в контроле (табл.1). При этом в плазме крови эти показатели существенно превышают уровень контроля. Так, содержание ДК повышено в 3 раза, уровень ТК, ОДК и ТЕТ - почти в 10 раз, а количество МДА превышает уровень контроля почти в 70 раз.

Таблица 1. Содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ в плазме крови и лимфоцитах у здоровых лиц и больных гипертонической болезнью II степени

Объект	ДК	ТК	ОДК	ТЕТ	МДА
Плазма Здоровые	0,12±0,01 (18)	0,011±0,001 (18)	0,022±0,002 (18)	0,44±0,04 (18)	0,16±0,01 (10)
Больные	0,39±0,02* (35)	0,12±0,003* (34)	0,18±0,006* (34)	3,06±0,016* (36)	11,5±1,3* (27)
Лимфоциты Здоровые	0,06±0,01 (12)	0,02±0,003 (11)	0,04±0,01 (12)	0,72±0,16 (12)	11,4±1,2 (12)
Больные	0,05±0,01 (16)	0,02±0,005 (18)	0,04±0,01 (18)	0,60±0,27 (19)	1,83±0,36* (19)

Примечания: содержание ДК, ТК, ОДК и МДА приведено в мкмоль/мл или на 1 млн клеток; уровень ТЕТ- в единицах оптической плотности/мл или 1 млн клеток; в скобках - n-количество обследованных; * - достоверность отличия от контроля, $P < 0,001$.

Анализируя эти изменения, можно предположить, что у исследованных больных накопление первичных продуктов ПОЛ (особенно ДК) происходит не слишком сильно, тогда как распад продуктов трансформации ПНЖК (ДК, ТК, ОДК, ТЕТ) до диальдегидных продуктов (МДА) существенно ускорен. Высокий уровень МДА в крови больных (по сравнению с контрольной группой) свидетельствует не только об интенсивном метаболизме первичных продуктов ПОЛ, что хорошо известно в клинике многих заболеваний, но и, вероятно, о замедленном выведении этих токсичных веществ из организма. Такие изменения, отмечаются при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [12-16]. Высокий уровень продуктов ПОЛ в крови, а, возможно, и в тканях, требует мобилизации ресурсов защитных АО систем организма, что мы и наблюдали в виде увеличения содержания в крови жирорастворимых неферментативных АО. Устанавливается новый уровень динамического равновесия, обеспечивающий адаптацию организма в условиях ГБ. Косвенным подтверждением этой адаптации может быть стабильное или даже сниженное содержание продуктов ПОЛ в лимфоцитах, циркулирующих в крови.

Проведенные исследования (табл. 2) показали, что в лимфоцитах больных гипертонической болезнью содержание жирорастворимых витаминов (за исключением каротина, уровень которого повышен) практически не отличается от контроля; общая АОА повышается. Наряду с наблюдавшимся снижением образования МДА такая ситуация вполне закономерна.

Таблица 2. Содержание жирорастворимых витаминов, метаболитов токоферола и общая АОА плазмы крови и лимфоцитов здоровых людей и больных гипертонической болезнью II степени.

Объект	ОТФ	ТФХ	Е	А	Каротин	АОА
Плазма Здоровые	0,06±0,01 (13)	0,50±0,09 (13)	0,14±0,02 (13)	0,007±0,001 (13)	0,03±0,005 (13)	0,8±0,1 (13)
Больные	0,40±0,07* (32)	0,78±0,07* (31)	0,22±0,03* (26)	0,008±0,001 (40)	0,14±0,009* (33)	1,1±0,1* (28)
Лимфоциты Здоровые	0,20±0,04 (12)	0,26±0,07 (12)	0,06±0,01 (12)	0,002±0,0003 (12)	0,02±0,002 (12)	0,8±0,1 (12)
Больные	0,14±0,01 (19)	0,25±0,02 (19)	0,08±0,008 (19)	0,002±0,0003 (19)	0,05±0,005* (18)	1,4±0,1* (14)

Примечания: содержание ОТФ, Е, А, каротина приведено в мкмоль/мл или млн клеток; уровень ТФХ в единицах оптической плотности/мл или млн клеток; АОА в относительных единицах; * - достоверность отличия от контроля, $P < 0,05$.

В плазме крови больных гипертонической болезнью (по сравнению со здоровыми лицами) отмечаются существенные изменения изучаемых не-ферментативных компонентов АО системы, сопровождающиеся повышением на 40% общей АОА. Уровень витамина Е и ТФХ увеличивается почти на 60%, но при этом количество димеров токоферола возрастает почти в 7 раз. С одной стороны, можно говорить о мобилизации ресурсов витамина Е из тканевых депо, а с другой – нельзя исключить труднообратимую утилизацию вит. Е с накоплением димерных соединений. Возможность такого пути была уже описана ранее [17,18]. В четыре раза увеличивается уровень каротина, что при неизменном содержании витамина А, свидетельствует о мобилизации и других веществ, обладающих АО свойствами. Совокупность наблюдаемых изменений дает возможность организму быстро корректировать ПОЛ, но ресурсы жирорастворимых АО в организме ограничены. Жирорастворимые витамины, поступающие с пищей, могут в такой ситуации оказаться удобным и доступным инструментом коррекции подобных нарушений.

Обобщая полученные данные и уже ранее известные сведения о процессах ПОЛ, можно предположить, что нарушение динамического равновесия в системе ПОЛ-АОА является важным патогенетическим звеном в развитии гипертонической болезни, хотя нельзя исключить оно может быть и ее следствием. Общая система регуляции гомеостаза организма включает в себя все уровни физиологической организации биологической системы и поэтому трудно выявить точку локализации нарушения, приводящего в дальнейшем к развитию ГБ.

Развитие и стабилизация патологического процесса сопровождается образованием избыточного уровня катехоламинов, которые разрушаются при участии моноаминоксидазной системы с образованием диальдегидов и перекиси водорода [19]. При этом стимулируется ПОЛ, липиды теряют свои АО свойства [20,21], происходит нарушение структурной целостности липидного бислоя мембран клеток и функционирования катионных каналов [22], что приводит к повышению концентрации ионов Ca^{2+} внутри клетки. Ca^{2+} стимулирует инкорпорированные фосфолипазы, которые отщепляют от фосфолипидов жирные кислоты, в первую очередь полиненасыщенные, что приводит к повышению уровня арахидоновой и линоленовой кислот в тканях и крови больных

гипертонической болезнью [12,23,24]. Большое количество субстратов окисления при понижении функции АО системы приводит к интенсификации ПОЛ, а также к образованию гуморально активных эйкозаноидов [25]. Этот процесс может автокаталитически ускоряться. В этой связи необходимо отметить, что у больных гипертонической болезнью нарастает концентрация вазоактивных веществ, обладающих вазопрессорными эффектами; при этом и сами продукты ПОЛ, находящиеся в кровяном русле, обладают вазоконстрикторными свойствами.

Параллельно с этими нейрогуморальными изменениями, которые сопровождают развитие болезни, можно отметить и то, что, клетки эндотелия сосудов могут синтезировать тромбоцитаактивирующий фактор [24]. Он имеет метаболическое происхождение от арахидоновой кислоты, освобождающейся из фосфатидилхолина мембран под действием фосфолипазы А₂. Этот процесс запускается агонистами (гистамин, брадикинин, тромбин) и приводит также к преобладанию вазоспастических реакций состояния сердечно-сосудистого тонуса. Как правило, ситуация в организме осложняется тем, что с возрастом АОА тканей снижается [9], а АО гомеостаз нарушается [26]. Этот неблагоприятный физиологический фон усиливает риск возникновения нарушений нейрогуморальной регуляции сердечно-сосудистого тонуса.

Таким образом, в ходе исследований нами выявлено, что при гипертонической болезни II степени происходит активация процессов ПОЛ с образованием и накоплением в крови продуктов окисления ПНЖК (оксодиенов, триенов и тетраенов), обладающих гуморальной активностью, а также токсичных продуктов ПОЛ. Как защитный механизм от последствий этих процессов, усиливается мобилизация резервов жирорастворимых антиокислителей из тканевых депо с возможной нейтрализацией витамином Е токсичных альдегидов. Эти адаптационные механизмы обеспечивают высокий уровень общей АОА и нормальное функционирование клеток (в нашем случае мы можем судить об этом на примере лимфоцитов).

ЛИТЕРАТУРА

1. Постнов Ю.В., Орлов С.Н. (1987) Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. М.: Медицина.
2. Кулагин Ю.И., Сюрин А.А., Кузнецов Н.С. и др. (1994) Новое в профилактике, диагностике и лечении основных заболеваний внутренних органов. Харьков, с. 329-333.
3. Мойбенко А.А., Коцюруба В.Н., Зражевская В.К., Сорочинский А.Е. (1991) Физиол. ж. СССР, 77, (9), 42-47.
4. Борьба с артериальной гипертензией. (1996) Доклад Комитета Экспертов ВОЗ (пер. с англ. Женева).
5. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. (1983) Лаб. дело. N3, 33-36.
6. Спиричев В.Б., Матусис И.И., Бронштейн Л.М. (1979) Экспериментальная витаминология. Минск: Наука и техника, с. 18-57.
7. Jore D., Ferradini C., Patterson L.K. (1986) Radiat. Phys. Chem. 28, N5/6, 554-558.
8. Параніч А.В., Котілов А.В., Аміду Діарра, Нікіпела О.Г. (1995) Фізіол. журн., 41, N 1-2, 29-35.
9. Параніч А.В., Котілов А.В., Гугало В.П., Назарець В.С. (1996) Фізіол. журн. 42, N1-2, 31-34.

10. Паранич Л.И., Паранич А.В., Василенко Н.М., Бугай Е.В. (1993) Бюлл. эксперим. биол. и мед. **10**, 402-405.
11. Рокицкий П.Ф. (1973) Биологическая статистика. Минск.
12. Nakamura K., Ichihara K., Abiko Y. (1989) Eur.J.Pharmacol., **169**, 259-267.
13. Васильева Л.П., Полюхович Г.С., Маслова Г.Т., Боборыко Т.Л. (1989) Биохимия. Минск. с. 15-19.
14. Полимбатов Д.С., Мурзабаева М.Д., Бектасова Л. (1997) Современные проблемы клиники внутренних болезней. Харьков:РИП Оригинал, 206-211.
15. Шевченко В.В., Расин М.С. (1994) В кн.: Новое в профилактике, диагностике и лечении основных заболеваний внутренних органов. Харьков, с.501-505.
16. Савов В.М., Диденко В.В., Досмагамбетова Р.С. и др. (1985) Биологические науки, N 5, 30-33.
17. Bors W., Erben-Russ M., Saran M. (1987) Bioelectrochem. Bioenerg., **18**, 37-49.
18. Паранич А.В., Чайкина Л.А., Алексеев С.М., Тарабрин М.Б. (1987) Вopr. мед. химии. Деп. ВИНТИ N3740-B 31.12.92.-17 с.
19. Herbaczynska-Cedro K., Gordon-Majszak W. (1986) Pharmacol. Res. Commun., **18**, 321-332.
20. Hemler M.E., Cook H.W., Lands W.E.M. (1979) Arch. Biochem. Biophys. **193**, 340-345.
21. Salmon J.A. (1987) Biochem.Soc.Trans. **15**, 324-326.
22. Древаль В.И., Финашин А.В. (1991) Биофизика. **36**, 799-801.
23. Никушкин Е.В., Крыжановский Г.Н., Михалева Л.И. и др. (1989) Бюлл. эксперим. биол. мед. **107**, N2. 174-177.
24. Rosenthal M.D., Brown III M.E., Jones J.E. (1988) Lipids., **23**, 1089-1092.
25. Chock S.P., Schmauder-Chock E.A. (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. **156**, 1308-1315.
26. Паранич А.В. (1997) Биол. вестн. **1**, 43-47.

Поступила 18.04.00.

IMPAIRMENTS OF ANTIOXIDATIVE HOMEOSTASIS IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION: IMPLICATIONS FOR PATHOGENESIS

A.V. PARANICH¹, S. N. LAD², N. A. FROLOVA¹, I. A. SNEGURSKAYA³, S. N. KOVAL³

¹Karazin National University, Kharkov, Ukraine

²Kharkov State Medical Institute, Ukraine

³Institute of Therapy, National Academy of Medical sciences, Kharkov, Ukraine

Antioxidative homeostasis was investigated in blood plasma and lymphocytes of patients with hypertonic disease (stage II). The intensification of lipid peroxidation was accompanied by accumulation of polyenic fatty acid derivatives and toxic dialdehydes and also by mobilization of lipid soluble vitamins. Vitamin E is probably involved into direct binding of toxic LPO products. Such changes provide high antioxidant activity and normal functioning of lymphocytes.

Key words: hypertonic disease, antioxidative homeostasis, peroxidation of lipids, liposoluble vitamins, blood plasma, lymphocytes.