

РЕСПУБЛИКАНСКОЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ УНИТАРНОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ «ИНСТИТУТ БИОХИМИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ НАН БЕЛАРУСИ»

УДК 616.12+616.379-008.64]:612.111.6

БУКО
Инна Вацлавовна

**ГЛУТАТИОН ЭРИТРОЦИТОВ, ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО
СТРЕССА И ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АССОЦИАЦИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ
БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И САХАРНОГО ДИАБЕТА ВТОРОГО ТИПА**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.01.04 – биохимия

Гродно, 2016

Работа выполнена в ГУ «Республиканский научно-практический центр «Кардиология» и Республиканском научно-исследовательском унитарном предприятии «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»

Научный руководитель: **Канунникова Нина Павловна**, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры технологии, физиологии и гигиены питания УО «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы»

Официальные оппоненты: **Шейбак Владимир Михайлович**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биохимии УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Голубович Владимир Петрович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией прикладной биохимии ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»

Оппонирующая организация: УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Защита состоится 17 июня 2016 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 01.30.01 при Республиканском научно-исследовательском унитарном предприятии «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси» по адресу: 230030, г. Гродно, бульвар Ленинского комсомола, 50; e-mail: office@bioch.bas-net.by, тел./факс 8(0152) 43-41-21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Республиканского научно-исследовательского унитарного предприятия «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»

Автореферат разослан « 14 » мая 2016 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций Д 01.30.01,
кандидат биологических наук



Е.Е. Нарута

ВВЕДЕНИЕ

Редокс-статус, сигнальный, регуляторный и патогенный потенциал которого вышел за рамки традиционных представлений патогенеза окислительного стресса, и включает процессы редокс-сигнализации, воздействующей на кальциевый гомеостаз, редокс-чувствительные ферменты, рост, дифференцировку и апоптоз клеток (в том числе интимальных), в настоящее время приобрел концептуальное значение (в форме редокс-гипотезы) как показатель гомеостаза, редокс-маркера клеточных и внеклеточных систем и прогностического теста при ряде патологических состояний организма, прежде всего, в кардиологии [Jones D.P., 2011].

Нарушения углеводного обмена, прооксидантно-антиоксидантного равновесия и системное воспаление являются патогенетическими факторами возникновения и развития ИБС и ассоциированных с ней сердечно-сосудистых заболеваний. В этой связи СД2 определяется как независимый фактор риска развития ИБС, а сопутствующий окислительный стресс – как непереносимое условие возникновения, осложнения течения заболеваний и показание для повышения эффективности комплексной терапии. Установлена значимость каскада воспалительных реакций в стенке сосуда, нарастания провоспалительного и прооксидантного потенциала в увеличении угрозы сердечно-сосудистой патологии, усугублении тяжести заболевания, отягощении состояния пациентов, в возникновении фатальных исходов у лиц на фоне нарушений углеводного обмена. Активация и изменения в неблагоприятную сторону прооксидантных, провоспалительных, протромботических и реологических факторов во многом связаны с нарушениями клеточного (лейкоциты, тромбоциты, эритроциты) и внеклеточного (плазма крови) редокс-гомеостаза [Шилов А.М. и др., 2008; Jones D.P., 2008; Hashemy S.I. et al., 2007].

Глубокое окисление внутриклеточного GSH способствует окислительному повреждению белков и липидов и подвергает риску структурную целостность и жизнеспособность эритроцитов. Изменение редокс-статуса глутатиона эритроцитов не только увеличивает риск роста окислительного потенциала, повышенного гемолиза, но и снижает биодоступность окиси азота в зонах окислительного повреждения [Morris C.R. et al., 2008; Matteucci E., Giampietro O., 2010].

Сокращения: GSHt – общий глутатион; GSH – восстановленный глутатион; GSSG – окисленный глутатион; E_h – редокс-потенциал; ГПО – глутатионпероксидаза; ГР – глутатионредуктаза; МПО – миелопероксидаза; СОД – супероксиддисмутаза; ТБКРС – субстраты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой; АОА – антиоксидантная активность; ИЛ – интерлейкины; ФГ – фибриноген; СРБ – С-реактивный белок; ОКС – острые коронарные синдромы; ИБС – ишемическая болезнь сердца; СД2 – сахарный диабет второго типа; ИМпST – инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST; НС – нестабильная стенокардия.

Поскольку увеличение гликозилирования белков при СД2 сопровождается сдвигом E_h , а также нарушением в системе клеточного глутатиона, этим предопределяется нарушение функциональных и реологических свойств эритроцитов, возникновение проагрегационного состояния. Равным образом провоспалительная сигнализация продуктами эндотелиальных клеток (фибробластов, моноцитов) также опосредована редокс-зависимыми механизмами, то есть, находится во взаимосвязи с динамикой E_h в клеточном и внеклеточном пространстве [Go Y.-M., Jones D.P., 2011]. С этой точки зрения, исследование системы глутатиона эритроцитов с характеристикой показателей GSht, GSH, GSSG, соотношения GSH/GSSG, ферментов метаболизма глутатиона – ГР, ГПО – в сочетании с E_h глутатиона необходимо для понимания биохимических механизмов развития сердечно-сосудистой патологии в условиях проявлений системной воспалительной реакции организма и нарушений прооксидантно-антиоксидантного баланса. Исследования в данном направлении расширяют представления о процессах с участием эритроцитов в окислительно-восстановительных реакциях у пациентов с ОКС и ИБС, осложненных СД2, что и определило цель и задачи диссертационного исследования.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами), темами. Диссертационная работа выполнена в рамках Программы «Лечебно-диагностические технологии» подпрограммы «Сердце и сосуды», задание: «Разработать и внедрить метод диагностики ранних сосудистых осложнений сахарного диабета 2 типа для оценки риска развития ишемической болезни сердца у лиц трудоспособного возраста» (2008–2010 г.г., № ГР 20081000) и ГНТП «Новые технологии диагностики и лечения» подпрограммы «Сердце и сосуды», задание: «Разработать алгоритм клинико-генетического тестирования для определения степени риска прогрессирования атеротромбоза у пациентов со стабильной стенокардией и нарушениями углеводного обмена» (2011–2013 г.г., № ГР 201127090); гранта БРФФИ Б06-201 «Изучение роли окислительного стресса в патогенезе острого коронарного синдрома. Разработка методов мониторинга и коррекции» (2006–2008 г.г., № ГР 20064635); гранта БРФФИ Б06-169 «Функциональная активность клеток крови пациентов с острым коронарным синдромом: молекулярно-мембранные механизмы и диагностическое значение» (2006–2008 г.г., № ГР 20062831); гранта БРФФИ Б08-164 «Роль факторов воспаления в атерогенезе» (2008–2010 г.г., № ГР 20081884).

Цель и задачи исследования. *Цель исследования* – выявить взаимосвязь изменений редокс-статуса системы глутатиона эритроцитов, развития окислительного стресса и системного воспаления при острой и хронической ишемии на примере модельной системы острых коронарных синдромов и ишемической болезни сердца, ассоциированных с сахарным диабетом второго типа или без диабета.

Задачи исследования:

1. Изучить показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса и воспалительного процесса в крови при острых коронарных синдромах или ишемической болезни сердца.

2. Выявить закономерности изменений показателей окислительного стресса, системного воспаления, а также изменений системы глутатиона эритроцитов при некомпенсированной (инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST) и компенсированной (нестабильная стенокардия) формах острых коронарных синдромов.

3. Определить взаимосвязь нарушений системы глутатиона эритроцитов и величины его редокс-потенциала и состояния прооксидантно-антиоксидантного статуса и развития системного воспаления при острых коронарных синдромах или ишемической болезни сердца, сахарном диабете второго типа и сочетании двух патологий.

Научная новизна. Научная новизна заключается в выявлении взаимосвязи развития окислительного стресса и системного воспаления при острой и хронической формах ишемии на примере модельной системы острых коронарных синдромов и ишемической болезни сердца, проявляющихся в значительной активации воспаления и умеренном окислительном стрессе при острой ишемии и снижении редокс-статуса системы глутатиона в эритроцитах при хронической ишемии.

Установлено, что для острых коронарных синдромов основной реакцией является активация системного воспаления, в то время как при хронической ишемии сердца преобладает снижение редокс-статуса системы глутатиона эритроцитов.

Выявлены различия изменений биохимических показателей при компенсированной (нестабильная стенокардия) и некомпенсированной (инфаркт миокарда) форме острых коронарных синдромов: при нестабильной стенокардии на фоне выраженных нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия и проявлений системной воспалительной реакции наблюдается существенный сдвиг величины редокс-потенциала глутатиона эритроцитов в окисленную сторону. При инфаркте миокарда подобный сдвиг отсутствует, а концентрация миелопероксидазы выше, что может быть расценено как неблагоприятная метаболическая ситуация.

Показано, что при сочетании ишемической болезни сердца и сахарного диабета второго типа происходит усиление системного воспаления, сдвига прооксидантно-антиоксидантного баланса и величины редокс-потенциала в окисленную сторону по сравнению с коронарной патологией без диабета или «чистым» диабетом, что свидетельствует о необходимости оценки редокс-статуса эритроцитов для прогнозирования течения процесса и коррекции окислительно-восстановительного баланса.

Объект и предмет исследования. *Объект исследования* – плазма, эритроциты и цельная кровь пациентов с острыми коронарными синдромами или ишемической болезнью сердца, в том числе ассоциированных с сахарным диабетом второго типа, полученные до начала терапевтических мероприятий. *Предмет исследования* – редокс-статус и система глутатиона эритроцитов, показатели окислительного стресса и системного воспаления плазмы крови.

Положения, выносимые на защиту.

1. Системное воспаление в большей степени выражено при острых коронарных синдромах, чем при хронической ишемической болезни сердца. Важнейшим маркером степени проявлений системного воспаления является концентрация миелопероксидазы в плазме крови. Сдвиг прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону активации окислительных процессов наблюдается и при острой, и при хронической форме коронарной патологии, но в группе с хронической ишемической болезнью сердца он сопровождается выраженным снижением редокс-статуса системы глутатиона эритроцитов.

2. При нестабильной стенокардии на фоне выраженного сдвига прооксидантно-антиоксидантного равновесия в окислительную сторону и проявлений системной воспалительной реакции отмечается существенное снижение редокс-статуса системы глутатиона. При инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST на фоне значительного увеличения концентрации миелопероксидазы и сохранения антиоксидантного потенциала в плазме крови имеет место увеличение концентрации общего глутатиона и глутатиона в восстановленной форме, падение активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы при стабильном значении редокс-потенциала глутатиона в эритроцитах.

3. Сочетание сахарного диабета второго типа и ишемической болезни сердца сопровождается выраженным сдвигом окислительно-восстановительного потенциала системы глутатиона эритроцитов в окисленную сторону и значительным угнетением системы антиоксидантной защиты на фоне отсутствия проявлений системного воспаления по сравнению с группой без сопутствующего диабета. Существует тесная связь между развитием системного воспаления и изменениями восстановительного потенциала глутатиона эритроцитов.

Личный вклад соискателя. Основной объем материалов собран, обработан и проанализирован автором самостоятельно. Определение цели, задач исследования, обобщение научных результатов и формулировка выводов проведены под руководством и при участии научного руководителя.

Диссертантом выполнены исследования показателей системы глутатиона эритроцитов и величины его редокс-потенциала, окислительного стресса – личный вклад 100%. Исследования показателей системного воспаления проведены совместно с врачом лабораторной диагностики высшей категории клиничко-диагностической лаборатории ГУ «РНПЦ «Кардиология» Русских И.И. – личный вклад 80%, исследование генерации пероксида водорода нейтрофилами при действии хемотаксического пептида N-формил-метионил-лейцил-фенилаланина проведено совместно с ведущим научным сотрудником кафедры биофизики физического факультета БГУ, кандидатом биологических наук Горудко И.В. – личный вклад 80%. Определение концентрации МПО в плазме крови провели сотрудники лаборатории клеточных и протеомных технологий Отдела молекулярной генетики ФГБУ «НИИ Экспериментальной медицины» СЗО РАМН (Санкт-Петербург) Соколов А.В. и Костевич В.А., кафедры биофизики физического факультета БГУ Григорьева Д.В. – личный вклад 10%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов. Результаты исследований доложены на VI Международной научно-технической конференции «Медэлектроника-2010» (Минск, Беларусь, 2010); Международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» и X съезде Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков (Минск, Беларусь, 2012); 15th European Congress of Endocrinology (Копенгаген, Дания, 2013); Международной научной конференции, посвященной 60-летию Института физиологии НАН Беларуси «Фундаментальные науки – медицине» (Минск, Беларусь, 2013); Bridges in Life Sciences 8th Annual Scientific Conference «Laugh and Be the Best in Research and Patient Care»TM (Прага, Чехия, 2013); III Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы стресса» (Витебск, Беларусь, 2013); Международной междисциплинарной научной конференции «Биологически активные вещества и материалы: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Новый Свет, АР Крым, Украина, 2013); IX Международной конференции «Системное кровообращение, микроциркуляция и гемореология (от ангиогенеза до центрального кровообращения)» (Ярославль, Россия, 2013); I Международном симпозиуме «Метаболический синдром: эксперимент, клиника, терапия» (Гродно, Беларусь, 2013); Redox Regulation in Health and Disease – a celebration of 50 years of the Keilin Memorial Lecture (Royal Society

Edinburgh, UK., 2014); Международной научной конференции «Кровообращение в норме и при патологии – от Гарвея до трансплантации сердца (к 100-летию со дня рождения профессора Н.И.Аринчина)» (Минск, Беларусь, 2014); II Международном симпозиуме «Метаболический синдром: эксперимент, клиника, терапия» (Гродно, Беларусь, 2015).

Результаты исследований внедрены в диагностический комплекс в Республиканском научно-практическом центре «Кардиология», в учебный процесс кафедры биофизики физического факультета Белорусского государственного университета, а также в научно-исследовательскую работу в Гродненском государственном университете имени Янки Купалы.

Опубликованность результатов диссертации. По материалам диссертации опубликовано 47 работ, среди которых 10 статей в научных журналах, рекомендованных ВАК Республики Беларусь, 12 статей в сборниках конференций и 22 тезиса докладов; 2 патента на изобретение и 1 инструкция по применению. Из них 7 работ подготовлено лично автором, в 26 работах являлась первым автором. Общий объем опубликованных материалов по теме диссертации составляет 21,2 авторских листа, из них соискателю принадлежит 8,6 авторских листа.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 136 страницах машинописного текста (основной текст 90 страниц), содержит 9 рисунков и 17 таблиц. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания объектов и методов исследования, изложения результатов исследований (2 главы), анализа и обобщения результатов исследования, заключения, списка использованных источников (24 публикации на русском языке, 137 на английском языке), списка публикаций соискателя, 8 приложений.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования

В качестве модельной системы для изучения взаимоотношений развития окислительного стресса и сдвига прооксидантно-антиоксидантного баланса в организме использованы плазма и эритроциты крови пациентов с коронарной патологией, сахарным диабетом. В исследование включено 370 человек. Из них 118 пациентов вошли в группу с ОКС (86 мужчин и 32 женщины), в том числе 47 пациентов с ИМпСТ и 71 пациент с НС. Возраст больных – 56,0 (53,3; 57,0) лет. 144 пациента составили группу с ИБС (97 мужчин и 47 женщин). Возраст больных – 55,0 (54,1; 56,7) лет. Часть пациентов из этих групп имела сопутствующий СД2: 22 человека в группе с ОКС и 35 человек в группе с ИБС. Отдельную группу составили лица только с СД2 – 19 человек. Контрольную

группу составили 89 практически здоровых лиц (42,0 (37,0; 47,0) лет), в том числе 48 мужчин и 41 женщина.

Проведенные исследования одобрены комитетом по этике РНПЦ «Кардиология» (протокол заседания №2, п. 6 от 13.02.2009 г.) (заключение этической экспертизы № 15/02/09 от 18.02.2009 г.) (Приказ ГУ РНПЦК № 66 от 13.02.2008 г.).

Содержание ТБКРС в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом [Коробейникова Э.Н., 1989]. Степень окислительной модификации атерогенных липопротеинов оценивали путем определения концентрации ТБКРС после инкубации липопротеинов низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП) в среде Дульбекко в присутствии ионов меди (II) [Рагино Ю.И., 1998]. Активность СОД крови [Чевари С.И. и др., 1991], ГПО [Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф., 1986] и ГР [Beutler C., 1969] в эритроцитах и цельной крови измеряли спектрофотометрически. Общую АОА плазмы крови определяли на основе метода [Промыслов М.Ш., Демчук М.Л., 1990]. Содержание ИЛ-6 и ИЛ-8 в сыворотке крови исследовали методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением тест-систем фирмы «Вектор-Бест», Новосибирск. Концентрацию МПО в плазме крови осуществляли методом иммуноферментного анализа в модификации [Gorudko I.V. et al., 2009]. Содержание ФГ и СРБ определяли турбидиметрически с применением наборов реактивов фирмы «Beckman coulter» (США). Нейтрофилы выделяли из крови путем центрифугирования в градиенте плотности гистобака-1077. Генерацию пероксида водорода нейтрофилами при действии хемотаксического пептида N-формил-метионил-лейцил-фенилаланина (fMLP) определяли флуоресцентным методом с использованием скополетина в качестве субстрата [Timoshenko A.V. et al. 1995]. GSHt и GSSG в эритроцитах измеряли ферментативно по методу [Akerboom T.P., Sies H., 1981]. Концентрацию GSH рассчитывали по формуле:

$$[GSH] = [GSH + 2GSSG] - 2 \times [GSSG],$$

а значение редокс-потенциала глутатиона эритроцитов – по уравнению Нернста:

$$E_h = \left(E^0 + 59,1/2 \times \log [GSSG]/[GSH]^2 \right),$$

где E^0 – стандартный восстановительный потенциал, мВ ($E^0 = -252$ мВ для эритроцитов при pH 7.2) [Schafer F.Q., Buettner G.R., 2001].

Статистическую обработку материала проводили с помощью непараметрических методов анализа данных и W-критерия Шапиро-Уилка [Халафян А.А., 2007]. Количественные показатели представлены в виде медианы (Me), нижней и верхней квартилей (LQ и UQ). Достоверность межгрупповых различий числовых показателей изучали при помощи

двухвыборочного U-критерия Манна-Уитни. Для выявления зависимости между изучаемыми параметрами рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s).

Показатели окислительного стресса, системного воспаления и редокс-статуса глутатиона эритроцитов при острых коронарных синдромах и ишемической болезни сердца

Сравнительный анализ отличий показателей окислительного стресса в группах с ОКС или ИБС выявил наличие окислительного стресса в обеих опытных группах (Таблица 1), о чем свидетельствует повышение уровня ТБКРС и снижение соотношения АОА/ТБКРС в плазме крови в обеих группах.

Таблица 1. – Показатели, характеризующие прооксидантно-антиоксидантный статус крови, при острых коронарных синдромах и ишемической болезни сердца

Показатель	ОКС (n=118)	ИБС (n=144)	Контроль (n=89)
СОД, усл. ед./мл/мин	75,26*,### (47,64; 123,13)	140,09*** (74,16; 189,02)	89,87 (73,70; 115,29)
АОА, %	71,71 (57,57; 80,63)	65,21 (53,70; 77,27)	68,00 (57,50; 84,20)
АОА/ТБКРС	15,82** (11,44; 21,80)	15,83*** (12,07; 19,43)	19,32 (15,07; 26,13)
ТБКРС, нмоль/мл	4,64***,## (3,97; 5,38)	4,21*** (3,58; 4,67)	3,63 (3,22; 4,05)
ТБКРС ₀ , нмоль/мл	0,074*** (0,038; 0,203)	0,104*** (0,044; 0,196)	0,037 (0,019; 0,127)
ТБКРС ₁ , нмоль/мл	0,143 (0,091; 0,296)	0,180*** (0,111; 0,284)	0,130 (0,090; 0,204)
ТБКРС ₄ , нмоль/мл	0,601## (0,390; 1,025)	0,746 (0,552; 0,961)	0,679 (0,515; 0,929)

Примечания – 1) * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – между группами пациентов с ОКС или ИБС и группой контроля;

2) # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – между группами пациентов с ОКС и ИБС

Однако несмотря на более высокий уровень ТБКРС в плазме крови в группе ОКС, содержание ТБКРС в исходных препаратах ЛПНП и ЛПОНП (ТБКРС₀), а также в препаратах после 4 ч окисления оказалось достоверно выше в группе ИБС. Активность СОД крови была снижена в группе с ОКС, но значительно превышала этот показатель в группе с ИБС.

Системное воспаление более выражено в острой форме сосудистой патологии: выше подъем содержания ИЛ-6 (в 2,5 раза) и концентрации МПО (в 4 раза) при ОКС, чем при ИБС (в 2 раза оба показателя).

Изменения системы глутатиона в группе ОКС по сравнению с контрольной группой были незначительные (Таблица 2), тогда как в группе ИБС наблюдалось снижение уровня GSHt, GSH, повышение содержания GSSG

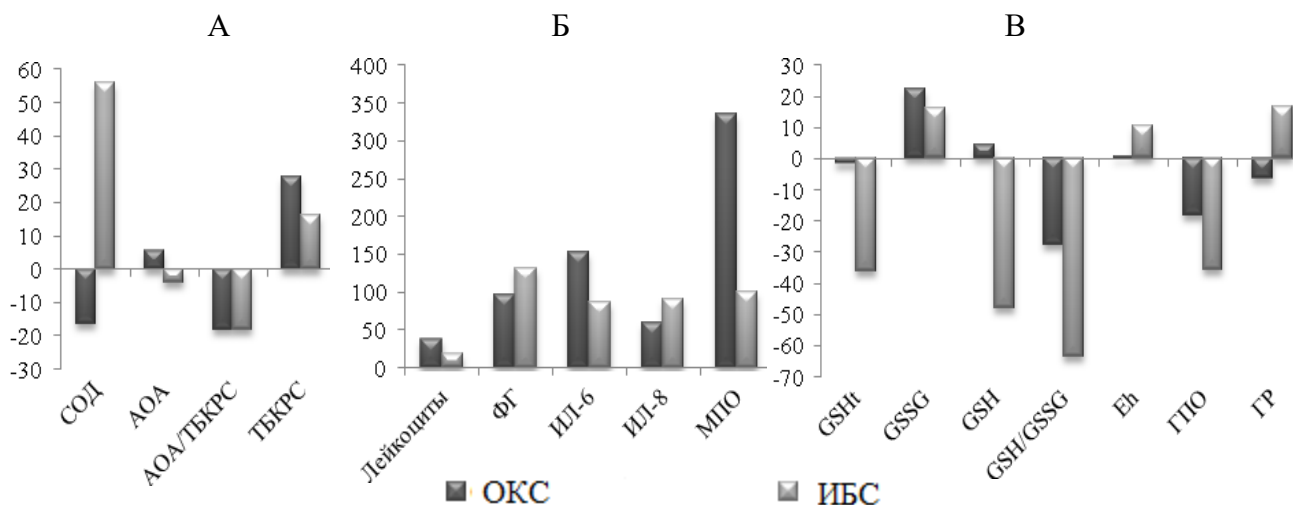
и соответственно – уменьшение соотношения GSH/GSSG, значительное угнетение активности ГПО и активация ГР на фоне сдвига редокс-потенциала глутатиона в окисленную сторону. Очевидно, это свидетельствует о снижении восстановительного потенциала системы глутатиона при хронической коронарной патологии. В соответствии с этим активацию СОД в этой группе можно расценить как компенсаторное повышение активности ферментативного звена антиоксидантной защиты (Рисунок 1).

Таблица 2. – Показатели, характеризующие систему глутатиона и его редокс-свойства в эритроцитах при острых коронарных синдромах и ишемической болезни сердца

Показатель	ОКС (n=118)	ИБС (n=144)	Контроль (n=89)
GSHt, ммоль/л	3,18### (2,21; 5,80)	2,06*** (1,26; 2,47)	3,23 (2,17; 4,54)
GSSG, ммоль/л	0,38*** (0,29; 0,44)	0,36*** (0,33; 0,39)	0,31 (0,27; 0,36)
GSH, ммоль/л	2,76### (1,68; 5,69)	1,37*** (0,61; 1,85)	2,64 (1,53; 4,06)
GSH/GSSG	7,08### (4,41; 15,26)	3,55*** (2,03; 5,21)	9,82 (5,07; 14,91)
E_h , мВ	-203,49### (-220,89; -187,95)	-183,48*** (-192,65; -168,13)	-205,32 (-216,77; -191,94)
ГПО, ммоль GSH/мин/л эритроцитарной массы	65,76*, ## (45,30; 93,62)	51,45*** (36,60; 61,36)	80,28 (59,26; 100,35)
ГР, ммоль НАДФН/мин/л эритроцитарной массы	0,91## (0,75; 1,06)	1,13** (0,83; 1,39)	0,97 (0,74; 1,11)

Примечания – те же, что и в таблице 1

Проведенный анализ изменений показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса и системного воспаления в условиях острой и хронической ишемии показал наличие существенных различий в реакциях этих систем в группах с разными формами коронарной патологии (Рисунок 1). Это свидетельствует о разных механизмах поддержания гомеостаза и развития нарушений в зависимости от длительности ишемии и позволяет в дальнейшем не приводить значения изученных показателей в контрольной группе, так как контрольная группа по возрасту не вполне соответствует группам пациентов с коронарной патологией. Это обусловлено тем, что достаточно трудно подобрать группу абсолютно здоровых людей без коронарной патологии и иных сопутствующих заболеваний в возрасте старше 50 лет. Поэтому в дальнейшем анализе нами принимались во внимание и анализировались лишь различия показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса и системного воспаления у пациентов с разными формами ишемии.



По оси ординат указаны соответствующие значения показателя в % по отношению к значению медианы практически здоровых лиц

Рисунок 1. – Показатели окислительного стресса (А), системного воспаления (Б) и системы глутатиона (В) в группах ОКС и ИБС

Показатели окислительного стресса, системного воспаления и редокс-статуса глутатиона эритроцитов при ИМпСТ или НС

Сравнение показателей окислительного стресса в группе ОКС в зависимости от выраженности острой сосудистой патологии (группа ИМпСТ в первые шесть часов от начала заболевания и группа нестабильной стенокардии – НС) показало, что при общем сохранении направленности изменений отдельных показателей в группе с ОКС от значений в контрольной группе, в группе НС степень выраженности нарушений показателей окислительного стресса больше (более высокий уровень ТБКРС и меньшая величина соотношения АОА/ТБКРС), чем в группе с ИМпСТ.

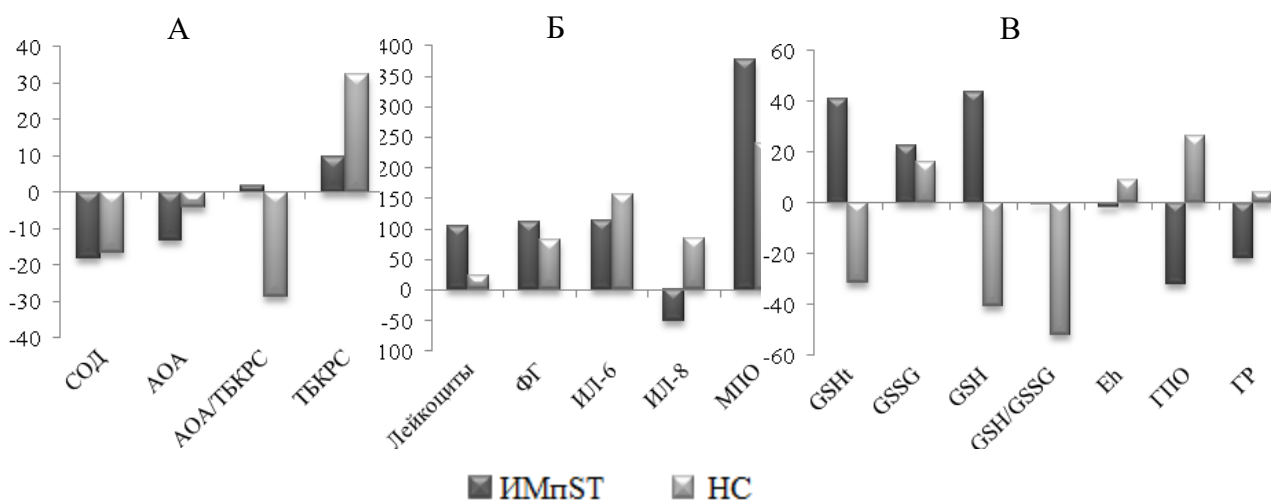
Изучение показателей системного воспаления выявило различие выраженности реакций системного воспаления в данных группах (Таблица 3). Лейкоцитоз (на 66%), содержание ФГ (на 15%) и в определенной степени концентрация МПО в плазме крови были больше в группе с ИМпСТ, чем в группе НС. В то же время уровень ИЛ-8, интерлейкина, характеризующегося полифункциональностью, в том числе способностью к активации нейтрофилов, был в 3,8 раза выше в группе с НС, чем с ИМпСТ. Это, очевидно, отражает разные механизмы и разную степень развития воспалительной реакции в критической фазе коронарной патологии (ИМпСТ) и в компенсированной фазе заболевания (НС) (Рисунок 2).

Таблица 3. – Показатели системного воспаления при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST или нестабильной стенокардии

Показатель	ИМпST (n=47)	НС (n=71)
Лейкоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	11,65 (10,00; 13,70)***	7,00 (5,50; 8,10)
ФГ, г/л	3,50 (2,90; 4,50)*	3,00 (2,70; 3,80)
СРБ, мг/л	3,18 (1,62; 9,30)	5,00 (1,50; 8,50)
ИЛ-6, пг/мл	3,98 (1,58; 8,07)	4,79 (2,60; 17,17)
ИЛ-8, пг/мл	2,46 (0,00; 5,82)**	9,27 (8,67; 17,63)
МПО, нг/мл	111,00 (63,95; 175,00)	78,80 (53,93; 120,00)

Примечания – 1) * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – между группами

Изменения показателей системы глутатиона эритроцитов у пациентов с НС свидетельствуют о снижении его редокс-статуса (Таблица 4). В то же время на фоне фатальных изменений в миокарде в острую фазу инфаркта и развивающихся при этом некомпенсированных нарушений регулирующих систем адаптации происходят разнонаправленные сдвиги в системе глутатиона, в результате которых повышается уровень и GSH, и GSSG, тогда как активность ГПО резко угнетена, что, очевидно, свидетельствует об исчерпании восстановительных ресурсов системы глутатиона в острой фазе инфаркта миокарда и важной роли ГПО в поддержании антиоксидантного потенциала организма в условиях острой сосудистой патологии (Рисунок 2).



По оси ординат указаны соответствующие значения показателя в % по отношению к значению медианы практически здоровых лиц

Рисунок 2. – Показатели окислительного стресса (А), системного воспаления (Б) и системы глутатиона (В) в группах ИМпST и НС

Таблица 4. – Показатели, характеризующие систему глутатиона и его редокс-свойства в эритроцитах при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST или нестабильной стенокардии

Показатель	ИМпST (n=47)	НС (n=71)
GSHt, ммоль/л	4,56 (2,89; 6,22)***	2,21 (1,65; 2,92)
GSSG, ммоль/л	0,38 (0,30; 0,44)	0,36 (0,29; 0,40)
GSH, ммоль/л	3,79 (2,25; 5,76)	1,56 (1,17; 2,12)
GSH/GSSG	9,78 (5,91; 15,94)*	4,71 (2,06; 6,17)
ГР, ммоль НАДФН/мин/л эритроцитарной массы	0,76 (0,66; 0,92)*	1,01 (0,87; 1,21)

Примечания – те же, что в таблице 3

Таким образом, при разных формах острого коронарного синдрома наблюдаются выраженные различия нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия, которые более выражены при нестабильной стенокардии. Для нестабильной стенокардии характерно смещение величины редокс-потенциала глутатиона эритроцитов в окисленную сторону и более высокая по сравнению с группой инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST активность ГПО эритроцитов. Для инфаркта миокарда характерна очень высокая степень повышения концентрации МПО.

Показатели окислительного стресса, системного воспаления и редокс-статуса глутатиона эритроцитов при острых коронарных синдромах, ишемической болезни сердца и сахарном диабете второго типа

При сочетании ОКС и СД2 сдвиг прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону активации окислительных процессов (резкое угнетение активности СОД крови и еще больший рост содержания ТБКРС), а также системное воспаление (повышение содержания ИЛ-6 и ИЛ-8) более выражены, чем при отсутствии сопутствующего диабета, только концентрация МПО в плазме крови в группе с ОКС+СД2 увеличивается не так значительно, как в группе ОКС без СД2. Показатели системы глутатиона в эритроцитах пациентов обеих групп практически не различаются, лишь активность ГПО снижена в группе ОКС, но повышена в случае наличия сопутствующего СД2 (на 40%), что можно расценить как отсутствие глубоких изменений редокс-статуса системы глутатиона при острой коронарной патологии, но проявление повышения его восстановительного потенциала в присутствии СД2. Это согласуется с предположениями J.D. Watson (2014) о том, что диабетические клетки имеют более напряженный редокс-потенциал, связанный преимущественно с системой глутатиона.

Сравнение показателей окислительного стресса в группах ИБС+СД2 и ИБС показало, что при сочетании ИБС и СД2 уменьшается степень

выраженности окислительного стресса. Если в группе ИБС наблюдались значительная активация СОД крови, снижение соотношения АОА/ТБКРС и повышение содержания ТБКРС на фоне умеренных проявлений системного воспаления, то в группе ИБС+СД2 проявлялось преимущественно угнетение системы антиоксидантной защиты (снижение активности СОД, отсутствие подъема уровня ТБКРС) и выраженная активация системного воспаления (повышение уровня ИЛ-6 и ИЛ-8, концентрации МПО в плазме крови) (Рисунок 3).

Для эритроцитов пациентов с ишемической болезнью сердца, ассоциированной с сахарным диабетом второго типа, было характерно значительно более выраженное снижение редокс-статуса системы глутатиона (уменьшение содержания GSht и GSH, соотношения GSH/GSSG, снижение активности ГПО и повышение активности ГР, сдвиг величины редокс-потенциала в окисленную сторону), чем в группе ИБС без СД2 (Таблица 5).

Следовательно, при ИБС+СД2 по сравнению с ИБС происходит резкое усиление системного воспаления, сдвиг прооксидантно-антиоксидантного баланса и изменение величины редокс-потенциала в окисленную сторону (Рисунок 3).

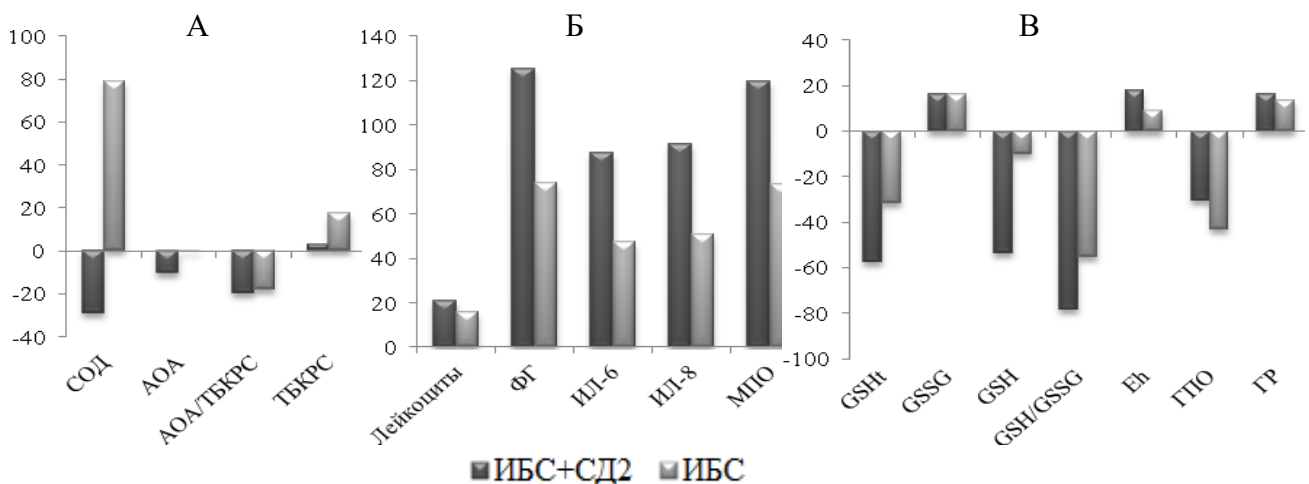
Таблица 5. – Показатели, характеризующие систему глутатиона и его редокс-свойства, в эритроцитах при ишемической болезни сердца, ассоциированной с сахарным диабетом второго типа, ишемической болезни сердца без сахарного диабета второго типа и сахарном диабете второго типа

Показатель	ИБС+СД2 (n=35)	ИБС (n=79)	СД2 (n=19)
GSht, ммоль/л	1,37 (1,09; 2,37)**	2,20 (2,07; 2,50)	2,93 (1,60; 5,66)
GSSG, ммоль/л	0,36 (0,32; 0,40)	0,36 (0,33; 0,38)	0,36 (0,31; 0,38)
GSH, ммоль/л	0,76 (0,35; 1,84)*	1,47 (1,32; 1,88)	2,86 (0,86; 5,14)
GSH/GSSG	2,10 (0,93; 4,74)**	4,41 (3,55; 5,37)	5,95 (2,18; 15,40)
ГПО, ммоль GSH/мин/л эритроцитарной массы	56,65 (37,57; 67,63)	45,58 (36,73; 52,32)	50,61 (34,46; 81,56)
ГР, ммоль НАДФН/мин/л эритроцитарной массы	1,13 (0,81; 1,33)	1,10 (0,93; 1,40)	0,81 (0,78; 1,25)

Примечания – 1) * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – между группами пациентов с ИБС+СД2 и ИБС

Наличие высокой степени корреляционных взаимосвязей между показателями системы глутатиона, величины его редокс-потенциала в эритроцитах, активности ГР и содержания ИЛ-6 и ИЛ-8 в группе ИБС+СД2 свидетельствует о тесной связи развития системной воспалительной реакции и изменений восстановительного потенциала эритроцитов при ведущей роли системы глутатиона. Восстановительный потенциал системы глутатиона в

эритроцитах может рассматриваться в качестве клеточного биомаркера прооксидантно-антиоксидантного баланса всего организма как при экстремальных ситуациях, так и при патологических состояниях. Информативным показателем, характеризующим соотношение процессов системного воспаления и окислительного стресса, является концентрация МПО в плазме крови, которая достоверно увеличивается при сочетании ишемической болезни сердца и сахарного диабета второго типа, при сахарном диабете второго типа, при нестабильной стенокардии и в еще большей степени – при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST.



По оси ординат указаны соответствующие значения показателя в % по отношению к значению медианы практически здоровых лиц

Рисунок 3. – Показатели окислительного стресса (А), системного воспаления (Б) и системы глутатиона (В) в группах ИБС+СД2 и ИБС

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. При острых коронарных синдромах наблюдаются более выраженные проявления системного воспаления, чем при ишемической болезни сердца: на фоне лейкоцитоза и фибриногенемии отмечается более высокий подъем содержания интерлейкина 6 (в 2,5 раза при острых коронарных синдромах и в 1,9 раза при ишемической болезни сердца) и в 2 раза большее увеличение концентрации миелопероксидазы (4-кратное по сравнению с контрольной группой). Сдвиг в сторону активации окислительных процессов (повышение содержания субстратов, реагирующих с тиобарбиуровой кислотой, и уменьшение соотношения общей антиоксидантной активности к концентрации субстратов, реагирующих с тиобарбиуровой кислотой) проявляется в обеих группах, кроме активности супероксиддисмутазы, которая повышается в группе с ишемической болезнью

сердца, но снижается при острых коронарных синдромах.

При острых коронарных синдромах показатели системы глутатиона эритроцитов почти не отличаются от таковых значений в контрольной группе, тогда как в группе с ишемической болезнью сердца отмечается снижение уровня общего глутатиона (на 32%), глутатиона в восстановленной форме (почти вдвое) и повышение содержания глутатиона в окисленной форме (на 16%) на фоне угнетения активности глутатионпероксидазы (на 46%) и активации глутатионредуктазы (на 16%), увеличения степени окисленности редокс-потенциала глутатиона эритроцитов, что свидетельствует о сдвиге прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону окисления [1, 12, 15, 22, 27, 36].

2. Нарушения показателей окислительного стресса больше в группе с нестабильной стенокардией (более высокий уровень субстратов, реагирующих с тиобарбиуровой кислотой, и меньшая величина соотношения общей антиоксидантной активности к концентрации субстратов, реагирующих с тиобарбиуровой кислотой), чем в группе с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST. Степень выраженности системного воспаления больше при нестабильной стенокардии (достоверное повышение содержания всех изученных показателей системного воспаления), кроме концентрации миелопероксидазы, которая в группе с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST выше, чем в группе с нестабильной стенокардией.

В группе ИМпST было выше содержание общего и восстановленного глутатиона, выше соотношение его восстановленной формы к окисленной, и величина редокс-потенциала была больше сдвинута в восстановленную сторону, но активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы при этом были достоверно ниже, чем в группе с нестабильной стенокардией, что, очевидно, свидетельствует об активном участии системы глутатиона в поддержании редокс-баланса при компенсированной ишемии и об исчерпании ее восстановительных ресурсов в острой фазе инфаркта миокарда [8, 9, 10, 11, 27, 28, 29, 37, 40, 41, 42, 44].

3. При сочетании острых коронарных синдромов и сахарного диабета второго типа сдвиг прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону активации окислительных процессов (угнетение активности супероксиддисмутазы крови и более высокое содержание субстратов, реагирующих с тиобарбиуровой кислотой), а также системное воспаление (повышение содержания интерлейкина 6 и интерлейкина 8 в 3 раза) более выражены, чем при отсутствии сопутствующего диабета, хотя показатели системы глутатиона в эритроцитах пациентов обеих групп практически не различаются. Только концентрация миелопероксидазы в плазме крови в группе с острыми коронарными синдромами и сахарным диабетом второго типа

увеличивается не так значительно, как в группе острых коронарных синдромов без сахарного диабета второго типа [9, 10, 22, 34, 41, 44].

4. Проявления окислительного стресса более выражены в группе с ишемической болезнью сердца (более высокая активность супероксиддисмутазы крови и более высокий уровень субстратов, реагирующих с тиобарбиуровой кислотой), чем в группе с ИБС+СД2, в которой система антиоксидантной защиты, скорее, угнетена (более низкая активность супероксиддисмутазы, отсутствие подъема уровня субстратов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой). Уровень показателей системного воспаления при наличии сопутствующего диабета достоверно не отличается от таковых в группе с ишемической болезнью сердца без нарушений углеводного обмена [2, 4, 5, 7, 10, 13, 18, 19, 20, 23, 24, 26, 30, 41, 42, 47].

5. В эритроцитах пациентов с ишемической болезнью сердца, ассоциированной с сахарным диабетом второго типа, наблюдается значительно более выраженное снижение редокс-статуса системы глутатиона (уменьшение содержание общего глутатиона и глутатиона в восстановленной форме, а также соотношение восстановленной и окисленной форм глутатиона практически в 2 раза ниже, чем в группе неосложненной ишемической болезни сердца, и в 2,5 раза меньше по сравнению с группой сахарного диабета второго типа). Величина редокс-потенциала глутатиона эритроцитов сдвинута в окисленную сторону относительно группы неосложненной ишемической болезни сердца. У пациентов всех трех групп активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы достоверно не различались [3, 4, 6, 7, 10, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 25, 30, 31, 32, 33, 35, 37, 38, 39, 40, 43, 44, 45, 47].

6. Наличие высокой степени корреляционных взаимосвязей между показателями системы глутатиона, величины его редокс-потенциала в эритроцитах, активности глутатионредуктазы и содержания интерлейкина 6 и интерлейкина 8 при ишемической болезни сердца, ассоциированной с сахарным диабетом второго типа, свидетельствует о тесной связи развития системной воспалительной реакции и изменений восстановительного потенциала эритроцитов при ведущей роли системы глутатиона. Информативным показателем, характеризующим соотношение процессов системного воспаления и окислительного стресса у пациентов с сосудистой патологией и сопутствующим диабетом, является концентрация миелопероксидазы в плазме крови, которая достоверно увеличивается при сочетании ишемической болезни сердца и сахарного диабета второго типа, при сахарном диабете второго типа, при нестабильной стенокардии и в еще большей степени – при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST [2, 4, 6, 7, 10, 17, 18, 26, 30, 42, 46].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Определение миелопероксидазы в плазме крови, а также показателей редокс-свойств эритроцитов могут быть использованы как предикторы угрозы фатальных осложнений при острой коронарной патологии и использованы в качестве прогностического теста течения ИБС, осложненной сопутствующим СД2, а также для повышения эффективности комплексной терапии [45, 46, 47].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в рецензируемых научных изданиях

1. Gorudko, I. Lectin-induced aggregates of blood cells from patients with acute coronary syndromes / I. Gorudko, **I. Buko**, S. Cherenkevich, L. Polonetsky, A.V. Timoshenko // Archives of Medical Research. – 2008. – Vol. 39. – P. 674–681.

2. Gorudko, I.V. Increased myeloperoxidase activity is a risk factor for ischemic heart disease in patients with diabetes mellitus / I.V. Gorudko, V.A. Kostevich, A.V. Sokolov, **I.V. Buko**, E.E. Konstantinova, N.L. Tsapaeva, E.V. Mironova, E.T. Zakharova, V.B. Vasilyev, S. N. Cherenkevich, O.M. Panasenko // Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry. – 2011. – Vol. 5, N. 3. – P. 307–312.

3. **Бук, И.В.** Редокс-свойства крови пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом 2-го типа и ишемической болезнью сердца / **И.В. Бук**, И.В. Горудко, Е.В. Шамова, Е.Э. Константинова, И.И. Русских, С.Н. Черенкевич, Н.Л. Цапаева // Здравоохранение. – 2012. – № 3. – С.4–77.

4. Gorudko, I.V. Functional Activity of Neutrophils in Diabetes Mellitus and Coronary Heart Disease: Role of Myeloperoxidase in the Development of Oxidative Stress / I.V. Gorudko, V.A. Kostevich, A.V. Sokolov, E.V. Shamova, **I.V. Buko**, E.E. Konstantinova, V.B. Vasiliev, S.N. Cherenkevich, O.M. Panasenko // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2012. – Vol. 154, N. 1. – P. 28–32.

5. Панасенко, О.М. Селективное повышение концентрации и активности миелопероксидазы – маркера азурофильных гранул нейтрофилов – в крови больных сахарным диабетом 2 типа с осложнениями ишемической болезни сердца / О.М. Панасенко, И.В. Горудко, В.А. Костевич, А.В. Соколов, Д.В. Григорьева, В.Б. Васильев, **И.В. Бук**, Е.Э. Константинова, С.Н. Черенкевич, В.И. Сергиенко // Эфферентная и физико-химическая медицина. – 2012. – № 1. – С. 25–29.

6. **Бук, И.В.** Редокс-потенциал глутатиона эритроцитов пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа / **И.В. Бук**, Н.Л. Цапаева, Е.Э. Константинова, А.Г. Мрочек, А.Г. Мойсеенок // Весці НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2013. – № 1. – С. 16–21.

7. Мойсеенок А.Г. Соотношение показателей системного воспаления,

окислительного стресса и редокс-статуса глутатиона у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа / А.Г. Мойсеенок, **И.В. Буко**, И.В. Горудко, Е.Э. Константинова, Н.Л. Цапаева, А.Г. Мрочек // Артериальная гипертензия. – 2013. – Т. 19, № 4. – С. 356–366.

8. **Буко, И.В.** Антиоксидантный статус и редокс-потенциал глутатиона эритроцитов у пациентов с острым коронарным синдромом / **И.В. Буко**, Л.З. Полонецкий, А.Г. Мрочек, А.Г. Мойсеенок // Украинский биохимический журнал. – 2014. – Т. 86, № 3. – С. 114–124.

9. **Буко, И.В.** Глутатион эритроцитов, показатели окислительного стресса и воспаления при острых коронарных синдромах / **И.В. Буко**, Л.З. Полонецкий, А.Г. Мойсеенок // Артериальная гипертензия. – 2014. – Т. 20, № 3. – С. 172–181.

10. **Буко, И.В.** Исследование показателей окислительного стресса и воспаления при ишемической болезни сердца и сахарном диабете второго типа / **И.В. Буко** // Новости медико-биологических наук. – 2014. – № 2. – С. 126–133.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций

11. **Буко, И.В.** Процессы перекисного окисления липидов у пациентов с острым коронарным синдромом / **И.В. Буко**, И.С. Карпова, Л.Г. Гелис, Д.Г. Лазюк // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: материалы IV Междунар. конф., Минск, 7 – 8 апреля 2006 г. / Белорус. гос. ун-т; редкол.: В.А. Прокашева [и др.]. – Минск, 2006. – Ч. 1. – С. 124–126.

12. **Буко, И.В.** Медь-индуцированное окисление атерогенных липидов у больных с разными формами ишемической болезни сердца / **И.В. Буко**, Д.Г. Лазюк, Г.И. Сидоренко // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: материалы V Междунар. конф., Минск, 6 – 7 апреля 2007 г. / Белорус. гос. ун-т; редкол.: В.А. Прокашева [и др.]. Минск, 2007. – С. 95–97.

13. Дрозд, Е.С. Вязкоупругие свойства эритроцитов и показатели перекисного окисления липидов у больных сахарным диабетом 2 типа / Е.С. Дрозд, **И.В. Буко**, Е.Э. Константинова, Д.А. Милютин // Междунар. науч. конф. «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем», IX съезд Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков: сборник статей, Минск, 23 – 25 июня 2010 г. / Ин-т биоф. и клет. инжен. НАН Беларуси, Белорус. гос. ун-т, Белорус. общ. объедин. фотобиол. и биофиз.; редкол.: И.Д. Вологовский [и др.]. – Минск, 2010. – С. 198–200.

14. **Буко, И.В.** Редокс-система глутатиона при сахарном диабете 2 типа и ишемической болезни сердца / **И.В. Буко**, Е.Э. Константинова, Е.В. Шамова, И.В. Горудко, С.Н. Черенкевич, Н.Л. Цапаева // VI Междунар. науч.-технич. конф. «Медэлектроника-2010» Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии, 8 – 9 декабря 2010 г., Минск. – С. 24–27.

15. **Буко, И.В.** Окислительный стресс при острой и хронической формах ишемической болезни сердца / **И.В. Буко**, И.И. Русских, Л.З. Полонецкий, А.Г. Мойсеенок // Междунар. науч. конф. «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» и X Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков: сборник статей, Минск, 23 – 25 июня 2012 г. / Ин-т биоф. и клет. инж. НАН Беларуси, Белорус. гос. ун-т, Белорус. общ. объедин. фотобиол. и биофиз.; редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск, 2012. – С. 253–255.

16. **Буко, И.В.** Редокс-потенциал глутатиона, деформируемость эритроцитов и кислородтранспортная функция у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа / **И.В. Буко**, Е.В. Миронова, Н.Л. Цапаева, Е.Э. Константинова, А.Г. Мойсеенок // Фундаментальные науки – медицине: материалы Междунар. науч. конф., 17 мая 2013 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т физиологии; редкол.: И.В. Залуцкий [и др.]. – Минск, 2013. – С. 107–110.

17. Горудко, И.В. Биохимические маркеры сердечно-сосудистых заболеваний: определение активности миелопероксидазы / И.В. Горудко, Д.В. Григорьева, А.В. Соколов, **И.В. Буко**, О.М. Панасенко, С.Н. Черенкевич // Фундаментальные науки – медицине: материалы Междунар. науч. конф., 17 мая 2013 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т физиологии; редкол.: И.В. Залуцкий [и др.]. – Минск, 2013. – С. 191–194.

18. Мойсеенок, А.Г. Соотношение показателей окислительного стресса и редокс-потенциала эритроцитов у больных ишемической болезнью сердца / А.Г. Мойсеенок, **И.В. Буко**, К.В. Плявго // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса: материалы III Междунар. науч.-практ. конференции, Витебск, 16 – 17 апреля 2013 г. / Вит. гос. ун-т; редкол.: А.П. Солодков [и др.]. – Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2013. – С. 73–76.

19. **Буко, И.В.** Двойственная функция эритрона при окислительном стрессе / **И.В. Буко** // Республиканская науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы медицины» и 22-я итоговая науч. сессия Гомельского государственного медицинского университета: сборник тезисов, Гомель, 2014. – С. 106–109.

20. **Буко, И.В.** Показатели системного воспаления, окислительного стресса и редокс-статуса глутатиона у пациентов с метаболическим синдромом и предиабетом / **И.В. Буко** // Метаболический синдром: эксперимент, клиника, терапия: материалы I Междунар. симпозиума, Гродно, 23 – 25 октября 2013 г. / ГрГМУ; редкол.: П.С. Пронько [и др.]. – Гродно, 2013. – С. 9–13.

21. **Буко И.В.** Показатели системы глутатиона, деформируемости и агрегационной способности эритроцитов при ишемической болезни сердца с нарушениями углеводного обмена / **И.В. Буко**, Е.В. Миронова, А.Г. Мойсеенок

// Материалы науч.-практ. конф. «Кислород и свободные радикалы», 14 мая 2014 г., Гродно. – С. 10–12.

22. **Буко И.В.** Изменения системы глутатиона в зависимости от выраженности коронарной патологии и наличия сопутствующего диабета второго типа / **И.В. Буко**, Н.П. Канунникова // *Метаболический синдром: эксперимент, клиника, терапия: материалы II Междунар. симпозиума, Гродно, 30 сентября – 02 октября 2015 г.* / ГрГМУ; редкол.: Л.И. Надольник (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2015. – С. 7–11.

Тезисы докладов

23. **Буко, И.В.** Состояние окислительного стресса у больных хронической болезнью сердца с гиперхолестеринемией / **И.В. Буко**, Д.Г. Лазюк, И.С. Карпова // *Атеросклероз: проблемы и решения: материалы науч. сессии, С.-Пт. / Медицинский академический журнал.* – 2006. – Т. 7, № 1. – С. 40.

24. **Buko, I.V.** Oxidative stress for the patients with chronic coronary artery disease in different age groups / **I.V. Buko**, I.S. Karpova // *5-th National scientific practical conference with international participation «Reactive oxygen species, nitric oxide, antioxidants and human health»: conference book, Smolensk, September 18 – 22, 2007 / Smolensk CNTI; edited by V.G. Podoprigrorova – Smolensk, 2007. – P. 161–163.*

25. **Буко, И.В.** Взаимосвязь характеристик окислительно-восстановительных процессов плазмы крови и параметров функционального состояния эритроцитов у больных сахарным диабетом 2 типа / **И.В. Буко**, Д.А. Милютина, Е.Э. Константинова, Е.В. Миронова, Н.Л. Цапаева // VII Междунар. конф. «Гемореология и микроциркуляция (от функциональных механизмов в клинику)»: сборник тезисов, Ярославль, 12 – 15 июня 2009 г. / Ярославль, 2009. – С. 106.

26. Горудко, И.В. Функциональные свойства нейтрофилов и активность миелопероксидазы у больных сахарным диабетом / И.В. Горудко, В.А. Костевич, А.В. Соколов, Е.В. Шамова, **И.В. Буко**, Е.Э. Константинова, В.Б. Васильев, С.Н. Черенкевич, О.М. Панасенко // *Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека: материалы 7-й национальной науч.-практ. конф. с междунар. участием: сборник тезисов, 14 – 18 сентября 2011 г., Смоленск.* – С. 72–73.

27. Окислительный метаболизм нейтрофилов и окислительная модификация липопротеинов крови пациентов с острыми коронарными синдромами / **И.В. Буко**, И.В. Горудко, Л.З. Полонецкий // II Евразийский конгресс кардиологов и VI Национальный съезд кардиологов Республики Беларусь: сборник тезисов, 20 – 21 октября 2011 г., Минск // *Кардиология в Беларуси.* – 2011. – № 5 (18). – С. 135–36.

28. Moiseenok, A.G. Hyperhomocysteinemia and markers of inflammation and oxidative stress in patients with unstable angina pectoris / A.G. Moiseenok, **I.V. Buko**, S.F. Zolotukhina // International conferences «Advances and Controversies in B-Vitamins and Choline», Abstracts, Saarbrücken, University of Leipzig (Germany) 5–8 March 2012 / Clinic. Chemistry and Laborator. Med. – 2012. – Vol. 50, № 2. – P. A50.

29. **Букo, И.В.** Система глутатиона, редокс-потенциал эритроцитов при остром коронарном синдроме / **И.В. Букo**, Л.З. Полонецкий, А.Г. Мойсеенок // Вопросы неотложной кардиологии – 2012: сборник тезисов, 28 – 29 ноября 2012 г., Москва. – С. 23–24.

30. **Buko, I.** The activity of inflammation and the blood redox status in patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus / **I. Buko**, T. Mokhort, E. Konstantinova, N. Tsapaeva, A. Moiseenok // 15th European Congress of Endocrinology: Endocrine Abstracts, Copenhagen, Denmark, 27 April – 1 May, 2013 / www.endocrine-abstracts.org. – 2013. – Vol. 32. ISSN 1479-6848 (online).

31. **Buko, I.** Redox potential of glutathione in erythrocytes of ischemic heart disease patients / **I. Buko**, A. Moiseenok // Bridges in Life Sciences 8th Annual Scientific Conference «Laugh and Be the Best in Research and Patient Care»TM: abstracts, April 5 – 7, 2013, Prague / Biopolymers & Cell. – 2013. – Vol. 29, suppl. 2. – P. 60.

32. **Buko, I.V.** The red blood cells redox potential: oxidative stress biomarker or prognostic test / **I.V. Buko**, A.G. Mrochek, A.G. Moiseenok // Biologically active substances and materials: Fundamental and Applied Problems: abstracts, May 27 – June 1, 2013, Novy Svet, AR Crimea, Ukraine. – P. 85–86.

33. **Букo, И.В.** Редокс-свойства глутатиона, деформируемость и агрегационная способность эритроцитов при нарушениях углеводного обмена / **И.В. Букo**, Е.В. Миронова, Н.Л. Цапаева, Е.Э. Константинова, А.Г. Мойсеенок // IX Междунар. конф. «Микроциркуляция и гемореология (от ангиогенеза до центрального кровообращения)»: сборник тезисов, 29 июня – 2 июля 2013 г., Ярославль, 2013. – С. 34.

34. **Букo И.В.** Глутатион и параметры функционального состояния эритроцитов и кислородтранспортной функции у пациентов с острым коронарным синдромом и сахарным диабетом 2 типа / **И.В. Букo**, Е.В. Миронова, Н.Л. Цапаева, Е.Э. Константинова, А.Г. Мойсеенок // IX Междунар. конф. «Микроциркуляция и гемореология (от ангиогенеза до центрального кровообращения)»: сборник тезисов, 29 июня – 2 июля 2013 г., Ярославль, 2013. – С. 35.

35. **Букo, И.В.** Редокс-потенциал глутатиона – потенциальный маркер состояния эритроцитарной мембраны / **И.В. Букo** // Биологические функции пантотеновой кислоты. Пантотеновая кислота и мозг. Новые возможности метаболической и диетической терапии: материалы Междунар. симпозиума,

Гродно, 28 июня 2013 / Гродно : ГрГМУ, 2013 г. – С. 19–21.

36. **Буко, И.В.** Редокс-статус глутатиона эритроцитов у пациентов с острым инфарктом миокарда / **И.В. Буко**, Л.З. Полонецкий // Вопросы неотложной кардиологии-2013: сборник тезисов, Москва. – 2013. – С. 19.

37. **Буко, И.В.** Редокс-потенциал системы глутатиона эритроцитов при отягощенном течении ишемической болезни сердца / **И.В. Буко**, Е.В. Ковш, А.Г. Мойсеенок, А.Г. Мрочек // Материалы III Евразийского конгресса кардиологов, 20 – 21 февраля 2014 г., Москва. – С. 73–74.

38. **Buko, I.** The risk of erythrocyte glutathione redox potential disorder in young women / **I. Buko** // Redox Regulation in Health and Disease – a celebration of 50 years of the Keilin Memorial Lecture 19 – 21 March 2014. Royal Society Edinburgh, UK. – P. 10.

39. **Buko, I.** Direction variability of red cell glutathione redox status at risk of diabetes and coronary heart disease / **I. Buko**, A. Moiseenok // Redox Regulation in Health and Disease – a celebration of 50 years of the Keilin Memorial Lecture 19 – 21 March 2014. Royal Society Edinburgh, UK. – P. 17.

40. Semenovich, D. Studies of coenzyme A – and glutathione system-mediated redox-sensitive neuroprotection mechanisms / D. Semenovich, N. Kanunnikova, N. Pekhovskaya, S. Omelyanchik, **I. Buko**, Y. Lukienko, V. Gurinovich A. Moiseenok // Redox Regulation in Health and Disease – a celebration of 50 years of the Keilin Memorial Lecture 19 – 21 March 2014. Royal Society Edinburgh, UK. – P. 18.

41. **Buko, I.V.** Peculiarities of systemic inflammation indicators in acute coronary syndrome, coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus / **I.V. Buko** // The proceedings of the International Interdisciplinary Conference «Adaptation Strategy of the Living Systems», 12 – 17 May 2014, Novy Svet, Ukraine. – Kyiv: / V.S. Martynyuk Publisher, 2014. – P. 8–9.

42. **Буко, И.В.** Соотношение показателей системного воспаления и оксидантно-антиоксидантного баланса при отягощенном течении ишемической болезни сердца / **И.В. Буко** // Материалы 8-й национальной науч.-практ. конф. с междунар. участием «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека», 25 – 29 мая 2014 г., Смоленск, Россия. – 2014. – С. 33–35.

43. Мойсеенок, А.Г. Система глутатиона в формировании редокс-потенциала эритроцитов: возможности регуляции при окислительном стрессе / А.Г. Мойсеенок, Т.А. Пеховская, **И.В. Буко**, Н.П. Канунникова, В.А. Гуринович // Материалы 8-й национальной науч.-практ. конф. с Междунар. участием «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека», 25 – 29 мая 2014 г., Смоленск, Россия. – С. 132–134.

44. **Буко, И.В.** О системных последствиях окислительного повреждения эритроцитов / **И.В. Буко**, Н.П. Канунникова, А.Г. Мойсеенок // Новости медико-биологических наук. – 2014. – № 3 : материалы Междунар. науч. конф.

«Кровообращение в норме и при патологии – от Гарвея до трансплантации сердца (к 100-летию со дня рождения профессора Николая Ивановича Аринчина)», 16 – 17 октября 2014 г., Минск, Беларусь. – С. 15–16.

Патенты

45. Способ предварительной диагностики ишемической болезни сердца у пациента с сахарным диабетом 2 типа : пат. 18830, Респ. Беларусь : МПК G01N33/68, A61B5/02 (2010) / **И.В. Буко**, И.В. Горудко, Е.В. Шамова, Е.Э. Константинова, Н.Л. Цапаева, С.Н. Черенкевич ; дата публ. 30.12.2014.

46. Способ определения функционального состояния миелопероксидазы в плазме крови : пат. 2464575, RU : МПК G01N 33/68 (2006) / И.В. Горудко, О.М. Панасенко, А.В. Соколов, В.А. Костевич, **И.В. Буко**, Е.Э. Константинова, В.Б. Васильев, С.Н. Черенкевич, В.И. Сергиенко ; дата публ. 20.10.2012.

Инструкция

47. Диагностический алгоритм определения степени риска прогрессирования атеротромбоза у пациентов со стабильной стенокардией и нарушениями углеводного обмена : инструкция по применению. Регистрационный № 141-1113 от 06.06.2014 [Электронный ресурс] / Н.Л. Цапаева, Т.В. Мохорт, Е.Э. Константинова, **И.В. Буко**, О.Н. Шишко, Е.В. Миронова, Т.Н. Толстая, О.С. Спиридонова. – Режим доступа: <http://cardio.by/files/instrukcii/Инструкция-141-1113.doc>. – Дата доступа: 06.10.2014.

Буко Инна Вацлавовна

Глутатион эритроцитов, показатели окислительного стресса и воспаления при ассоциации ишемической болезни сердца и сахарного диабета второго типа

Ключевые слова: глутатион эритроцитов, редокс-потенциал, миелопероксидаза, окислительный стресс, острые коронарные синдромы, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет второго типа.

Цель работы: выявить взаимосвязь изменений редокс-статуса системы глутатиона эритроцитов, развития окислительного стресса и системного воспаления при острой и хронической ишемии на примере модельной системы острых коронарных синдромов и ишемической болезни сердца, ассоциированных с сахарным диабетом второго типа или без диабета.

Методы исследования: спектрофотометрические, флуоресцентные, иммуноферментные, статистические.

Полученные результаты и их новизна: установлено, что для ОКС основной реакцией является активация системного воспаления, тогда как при ИБС преобладают изменения редокс-потенциала глутатиона и снижение редокс-статуса эритроцитов. При компенсированной форме ОКС (нестабильная стенокардия) на фоне нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия и системного воспаления наблюдается существенный сдвиг величины редокс-потенциала глутатиона эритроцитов в окисленную сторону. При некомпенсированной форме (ишемия миокарда) подобный сдвиг отсутствует, тогда как системное воспаление более выражено. При сочетании ИБС+СД2 происходит резкое усиление системного воспаления, сдвига прооксидантно-антиоксидантного баланса и изменения величины редокс-потенциала в окисленную сторону по сравнению с коронарной патологией без диабета, что свидетельствует о необходимости оценки редокс-статуса эритроцитов для коррекции окислительно-восстановительного баланса.

Рекомендации по использованию: определение миелопероксидазы в плазме крови, а также показателей редокс-потенциала эритроцитов может быть использовано как предиктор угрозы фатальных осложнений, в качестве прогностического теста осложненного течения заболевания при коронарной патологии, осложненной СД2, и для повышения эффективности комплексной терапии.

Область применения: биохимия, кардиология.

Буко Іна Вацлаваўна**Глутатыён эрытрацытаў, паказчыкі акісляльнага стрэсу і запалення пры асацыяцыі ішэмічнай хваробы сэрца і цукровага дыябету другога тыпу**

Ключавыя словы: глутатыён эрытрацытаў, рэдакс-патэнцыял, міелапераксідаза, акісляльны стрэс, вострыя каранарныя сіндромы, ішэмічная хвароба сэрца, цукровы дыябет другога тыпу.

Мэта даследавання: выявіць узаемасувязь змяненняў рэдакс-статусу сістэмы глутатыёна эрытрацытаў, развіцця акісляльнага стрэсу і сістэмнага запалення пры вострай і хранічнай ішэміі на прыкладзе мадэльнай сістэмы вострых каранарных сіндромаў і ішэмічнай хваробы сэрца, асацыяваных з цукровым дыябетам другога тыпу або без дыябету.

Метады даследавання: спектрафотаметрычныя, флуарэсцэнтныя, імунаферментныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: выяўлена, што для ВКС асноўнай рэакцыяй з'яўляецца актывацыя сістэмнага запалення, у той час як пры ішэмічнай хваробе сэрца пераважаюць змены рэдакс-патэнцыялу глутатыёна і панижэнне рэдакс-статусу эрытрацытаў. Пры кампенсаванай форме ВКС (нестабільная стэнакардыя) на фоне парушэнняў прааксідантна-антыаксідантнай раўнавагі і сістэмнага запалення назіраецца істотны зрух велічыні рэдакс-патэнцыялу глутатыёна эрытрацытаў у акіслены бок. Пры некампенсаванай форме (ішэмія міякарда) падобны зрух адсутнічае, у той час як сістэмнае запаленне больш выяўлена. Пры спалучэнні ІХС+СД2 адбываецца рэзкае ўзмацненне сістэмнага запалення, зрух прааксідантна-антыаксідантнага балансу і змена велічыні рэдакс-патэнцыялу ў акіслены бок у параўнанні з каранарнай паталогіяй без дыябету, што сведчыць аб неабходнасці ацэнкі рэдакс-статусу эрытрацытаў у мэтах карэкцыі акісляльна-аднаўленчага балансу.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: вызначэнне міелапераксідазы ў плазме крыві, а таксама паказчыкаў рэдакс-патэнцыялу эрытрацытаў можа быць выкарыстана як прэдыктар пагрозы фатальных ускладненняў, у якасці прагнастычнага тэсту ўскладненага хода захворвання пры каранарнай паталогіі, ускладненай СД2, а таксама для павышэння эфектыўнасці комплекснай тэрапіі.

Галіна выкарыстання: біяхімія, кардыялогія.

SUMMARY**Buko Ina****Red blood cell glutathione, indices of oxidative stress and inflammation in association with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus**

Key words: red blood cell glutathione, redox potential, myeloperoxidase, oxidative stress, acute coronary syndromes, coronary heart disease, type 2 diabetes mellitus.

Objective: to determine the relationship of red blood cell glutathione system redox status, development of oxidative stress and systemic inflammation in acute and chronic ischemia for a model system of acute coronary syndromes and coronary heart disease associated with type 2 diabetes mellitus or without diabetes.

Methods: spectrophotometric, fluorescence, ELISA, statistical.

Results obtained and the novelty thereof: for ACS, the main reaction was established to be an activation of systemic inflammation, whereas in IHD, changes in glutathione redox potential and redox status reduction were predominant. As for a compensated ACS (unstable angina) secondary to impaired prooxidant-antioxidant balance and systemic inflammation, a significant shift of glutathione redox potential value towards the oxidation was noted. Similar shift is not observed in the settings of uncompensated form (myocardial ischemia), whereas the systemic inflammation is more pronounced. In combination of IHD+T2DM, an abrupt intensification of systemic inflammation, prooxidant-antioxidant balance and redox potential value change towards the oxidation compared to non-diabetic coronary artery disease, suggesting the need to assess red blood cells redox status to correct redox balance.

Recommendations for use: determination of plasma myeloperoxidase as well as indices of red blood cell redox potential is useful as a predictor of potential fatal complications, as a prognostic test of complicated course of the disease in coronary abnormality complicated by T2DM, and for improving the efficiency of combination therapy.

Scope of application: biochemistry, cardiology.

Подписано в печать 13.05.2016 Формат 60x84_{1/16} Бумага офсетная
Гарнитура Roman Печать цифровая Усл.печ.л. 1,4 Уч.изд.л. 1,5
Тираж 20 экз. Заказ № 2192

ИООО «Право и экономика» 220072 Минск Сурганова 1, корп. 2
Тел. 284 18 66, 8 029 684 18 66

E-mail: pravo-v@tut.by; pravo642@gmail.com Отпечатано на издательской системе

KONICA MINOLTA в ИООО «Право и экономика»

Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий, выданное
Министерством информации Республики Беларусь 17 февраля 2014 г.
в качестве издателя печатных изданий за № 1/185