

## ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ И НИТРОЗАТИВНЫЙ СТРЕСС ПРИ РАЗВИТИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: РОЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ

*Е.И. Коваленко, Г.Н. Семенкова, Е.В. Ковш, И.Э. Адзерихо\**  
*Минск, БГУ, \*БелМАПО*

В развитии атеросклеротического поражения коронарных артерий и ишемической болезни сердца (ИБС) важную роль играют воспаление и связанные с ним окислительный и нитрозативный стресс. К прогностическим воспалительным маркерам при оценке риска сосудистых осложнений относят С-реактивный белок и индукторы его образования цитокины ИЛ-6, ИЛ-1 $\beta$ , TNF, а также белки CD40L, sVCAM-1 PAPP-A, липопротеин-связанную ФЛА<sub>2</sub>, миелопероксидазу (МПО). МПО при различных физико-химических условиях может проявлять пероксидазную, галогенирующую и нитрозилирующую активность, что обуславливает ее участие в окислительном и нитрозативном стрессе. В присутствии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> МПО может приводить к окислительному повреждению белков вследствие модификации аминокислот. При повышении в среде содержания NO и NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, существенным источником которых могут быть моноциты и макрофаги, МПО способна приводить к нитрозированию белков, формируя нитротирозин. Повышение уровней дитирозина, нитротирозина в результате работы МПО является показателями окислительного и нитрозативного стресса. МПО может модифицировать и инактивировать ингибиторы матриксных металлопротеиназ, активируя последние. Матриксные металлопротеиназы, в свою очередь, могут приводить к истончению и разрыву фиброзной покрышки фиброатером. Все это свидетельствует в пользу важной роли МПО в прогрессии ИБС. Основным источником МПО являются нейтрофилы, которые под действием цитокинов инфильтрируют в атеромы и могут способствовать их трансформации в нестабильные, склонные к разрыву. Обнаружено, что при остром коронарном синдроме в “стабильных” фиброатеромах нейтрофилы и МПО не выявляются, среди тонкокапсульных фиброатером около 25% содержат МПО-положительные клетки и 8% содержат нейтрофилы, а среди атером с разрывом 70-80% являются МПО- и нейтрофил- положительными, что подтверждает связь МПО и нейтрофилов с дестабилизацией. Однако, детальные механизмы функционирования нейтрофилов и регуляции в нейтрофилах секреции МПО не раскрыты.

Целью работы было выявить особенности функционирования нейтрофилов у пациентов с ИБС со стабильной и прогрессирующей стенокардией в сравнении с нормой, определить различия секреторной и кислородактивирующей способности клеток.

**Материал и методы.** В исследование вошло 32 пациента с ИБС, находившихся на лечении в Республиканском научно-практическом центре «Кардиология», из них 18 со стабильной стенокардией и 14 с нестабильной,

а также 14 здоровых людей. Прогрессирование заболевания оценивали по динамике состояния пациентов в течение двух лет. Активацию клеток и генерацию ими активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) наблюдали при действии хемоаттрактанта fMLP, частиц латекса и в ходе адгезии на стекло хемилюминесцентным методом с использованием люминола (ЛюмХЛ, суммарная генерация АФК и АФА) или люцигенина (ЛюцХЛ, генерация  $\cdot\text{O}_2^-$ ). Измерения проводили при pH 7,4 и 37 °С. Уровни активности МПО в клетках и во внеклеточном пространстве (секретированная МПО) исследовали ХЛ-методом по окислению люминола при добавлении  $\text{H}_2\text{O}_2$  в суспензию разрушенных нейтрофилов или в среду инкубирования клеток (1 ч при 37 °С), соответственно. Статистическую обработку данных проводили в программе Excel методами дисперсионного анализа. Межгрупповые различия принимали при уровне значимости  $\alpha \leq 0,05$  (\*). На рисунках показаны средние значения и 95% доверительные интервалы.

**Результаты и обсуждение.** Выявлено, что при прогрессировании ИБС наблюдается усиление способности нейтрофилов формировать  $\cdot\text{O}_2^-$  (ЛюцХЛ) при действии fMLP и в ходе адгезии и снижение интенсивности ЛюмХЛ, связанной с активностью МПО (см. рис. 1, а, б и рис. 2, а, б). При адгезии и действии fMLP процесс генерации АФК протекает преимущественно у внешней поверхности клеток. Люм-ХЛ нейтрофилов связывают с галогенирующей активностью МПО и формированием  $\text{HClO}$ . Из рис. 1 (в) видно, что окислительная активность секретированной МПО при нестабильной ИБС при физиологических условиях (37 °С, pH 7,4) снижена по сравнению со стабильной стенокардией и нормой. Однако, когда измерения активности МПО выполняли при 20 °С, были зарегистрированы противоположные изменения, и уровень секреции МПО во внеклеточную среду оказался при нестабильной ИБС повышен в несколько раз. Процессы, регулирующие высвобождение МПО из азурофильных гранул нейтрофилов во внеклеточную среду и внутрь фаголизосом конкурируют друг с другом. Как следует из рис. 2 (в, г), и генерация  $\cdot\text{O}_2^-$ , и интенсивность Люм-ХЛ, связанной с МПО, при прогрессировании ИБС снижается, что может быть связано с «переключением» дегрануляции с внутрифагосомальной на секреторную. Следует отметить, что регуляция перемещения гранул в клетке опосредована динамическими изменениями структуры микрофиламентов (сборка/разборка) и осуществляется, в частности, при действии ИЛ-1 $\beta$ , молекул адгезии,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{ONOO}^-$ . Можно предположить, что в условиях окислительного и нитрозативного стресса при прогрессии ИБС накопление в среде  $\cdot\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{ONOO}^-$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2^-$  обуславливает как снижение фагоцитарной активности, так и повышение секреторной активности и изменение активности МПО. С помощью ингибиторного анализа с использованием перехватчика  $\text{NO}$  и ингибиторов индуцибельной  $\text{NO}$ -синтазы были получены данные, свидетельствующие в пользу этого предположения.

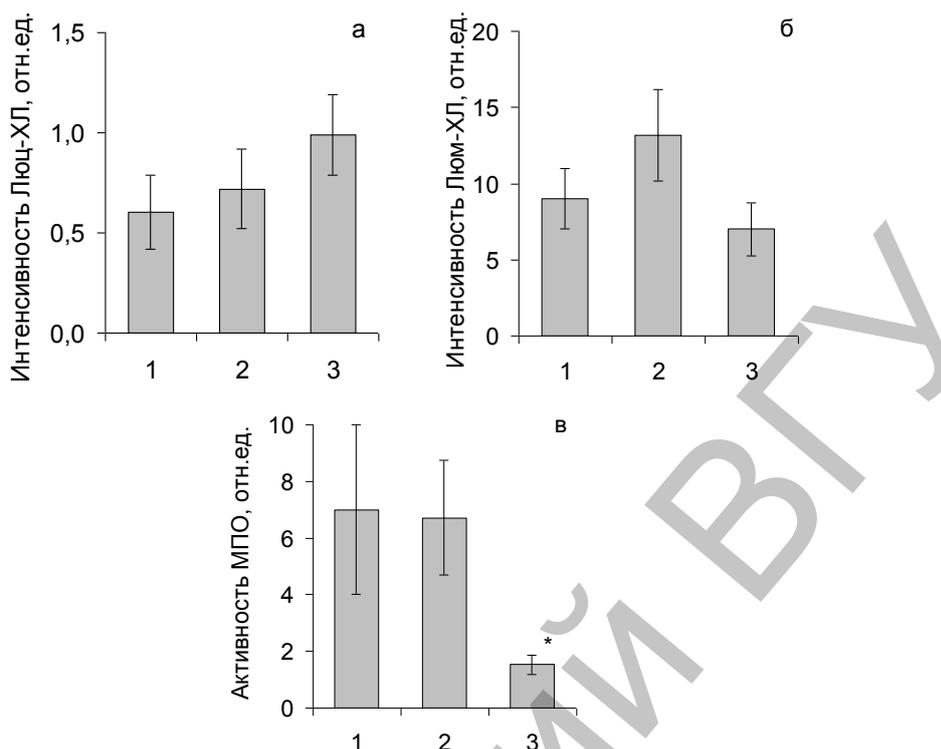


Рис. 1. Интенсивность Люц-ХЛ (а) и Люм-ХЛ (б) нейтрофилов при активации клеток в процессе адгезии и активность секретированной при адгезии МПО (в) при 37<sup>0</sup>С и рН 7,4. Здесь и дальше: 1 – норма, 2 – стабильная стенокардия, 3 – нестабильная стенокардия/инфаркт

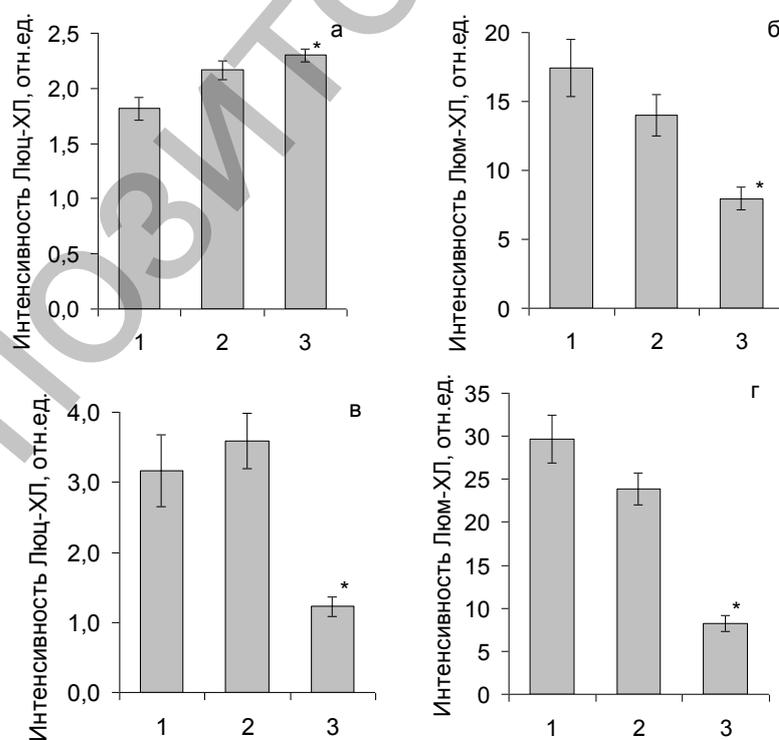


Рис. 2. Интенсивность Люц-ХЛ (а) и Люм-ХЛ (б) нейтрофилов при действии fMLP (а, б) и латекса (в, г).

**Выводы.** При прогрессировании ИБС изменяются проявления активности нейтрофилов и их фермента МПО, снижается способность клеток формировать АФК при фагоцитозе и усиливается продукция АФК во внеклеточной среде, что может обуславливать усиление процессов окисления и нитрозилирования и повреждение биомолекул.

## **ТИОЛСОДЕРЖАЩИЙ АНТИОКСИДАНТ N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИН ПРЕДУПРЕЖДАЕТ СНИЖЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КАЛЬЦИЙАКТИВИРУЕМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ БОЛЬШОЙ ПРОВОДИМОСТИ КРОНАРНЫХ СОСУДОВ, ВЫЗВАННОЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННЫМ СТРЕССОМ**

*С.С. Майорова, \*А.П. Солодков  
Витебск, УО «ВГМУ», \*УО «ВГУ им. П.М. Машерова»*

**Актуальность.** Сердечно-сосудистые заболевания являются главной причиной заболеваемости и смертности в большинстве экономически развитых стран. К независимым факторам риска сердечно-сосудистых заболеваний Европейское кардиологическое общество относит стресс [1]. Показано снижение функциональной активности АТФ-чувствительных калиевых каналов после 6-часового иммобилизационного стресса, при этом уменьшается чувствительность  $K_{\text{АТФ}}$ -каналов к их активаторам и возрастает предрасположенность к коронарному спазму [4]. Это дало возможность предположить, что в процессе иммобилизационного стресса развивается постстрессорная каналопатия. Проблема минимизации влияния стресса и восстановления постстрессорных нарушений у человека приобретает особую актуальность [2]. В последнее время большое внимание уделяется антиоксидантным препаратам [3]. Продемонстрировано, что предварительное введение тиолсодержащего антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина восстанавливает регуляторную роль супероксид-анионов в изолированных сердцах крыс, перенесших кратковременный и долговременный стресс [6]. Неизученным остается вопрос о том, как влияет иммобилизационный стресс на функциональную активность  $VK_{\text{Ca}}$ -калиевых каналов, а также возможность профилактики тиолсодержащим антиоксидантом N-ацетил-L-цистеином.

**Цель исследования:** выяснить возможность профилактики постстрессорных нарушений функциональной активности  $VK_{\text{Ca}}$ -калиевых каналов тиолсодержащим антиоксидантом N-ацетил-L-цистеином.

**Материалы и методы.** Объемную скорость коронарного потока (ОСКП) и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах изолированного сердца крыс – самок, перфузируемых в условиях постоянного давления, в полость левого желудочка которого вводили латексный баллончик постоянного объема. Сердце находилось в установке для перфузии изолированного сердца мелких лабораторных животных ИИ-SR тип 844/1 (HSE-НА, ФРГ), оборудованной датчиками для измерения объемной скорости коронарного потока (1RB-проточный, для флуометра TTFM тип 700,