

Осяева Мария Константиновна

**ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ
ЛЮДЕЙ И БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПРИ
ПОВЫШЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

1.5.4. Биохимия

3.1.20. Кардиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук

Тихазе Алла Карловна
Мартынюк Тамила Витальевна

Официальные оппоненты:

Колесникова Любовь Ильинична, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»

Минушкина Лариса Олеговна, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2023 г. в _____ на заседании диссертационного совета 21.2.060.02, созданного на базе ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, по адресу: 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026, г. Рязань, ул. Шевченко, 34, корп. 2) и на сайте www.rzgmu.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Короткова Н.В.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) и ее осложнения являются одной из ведущих причин смертности населения от неинфекционных болезней, что обусловлено в том числе агрессивным воздействием факторов окружающей среды, одним из которых может быть тепловой стресс. Данные исследований смертности населения в периоды волн летней жары показали, что наиболее высокие показатели смертности и потребности в госпитализации отмечали именно среди лиц, страдающих хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой системы (Sherbakov T., Malig B., Guirguis K. et al., 2018; Royé D., Codesido R., 2020; Sun Z., Chen C., Yan M. et al., 2021; Abrignani M.G., Lombardo A., Braschi A. et al., 2022; Iñiguez C., Ballester F., Tobias A., 2022; Majeed H., Floras J.S., 2022). Особенно актуальной данная проблема стала в течение последних двух десятилетий - в различных регионах земного шара все чаще отмечаются климатические изменения, обусловленные не только аномально жаркой погодой, но и ее сохранением на протяжении длительного периода времени (WHO, 2003; Bustinza R., Lebel G., 2013; Awasthi A., Vishwakarma K., Pattnayak K.C., 2021). Известно, что жаркая погода в каждом регионе определяется локальными критериями и характеризуется сохранением экстремально высокой суточной температуры в течение нескольких дней подряд. Тем не менее, несмотря на наличие исследований, в которых была показана достоверная положительная связь между экстремальной температурой окружающей среды и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), механизмы этого явления изучены недостаточно.

Повышение температуры может провоцировать развитие окислительного стресса, как у экспериментальных животных, так и у человека (Quindry J., Miller L., McGinnis G. et al., 2013; Yu J., Kalogeris T., Korthuis R.J. et al., 2019; Reid M.V., 2022). Известно, что окислительный стресс играет важную роль в развитии различных патологических состояний, в том числе, заболеваний сердечно-сосудистой системы и, в частности, ИБС (Агеев Ф.Т., Плисюк А.Г.,

Овчинников А.Г. и др., 2014; Schaffer A., Muscatello D., Broome R. et al., 2012; Sinning C., Westermann D., Clemmensen P., 2017; Liguori I., Russo G., Curcio F. et al., 2018; Zhou H., Toan S., 2020; Dambrova M., Zuurbier C.J., Borutaite V. et al., 2021].

Можно полагать, что окислительный стресс является одним из важных факторов, влияющих на развитие ССЗ при воздействии экстремальных климатических условий.

Степень разработанности проблемы

Окислительный стресс развивается вследствие повышенного образования активных форм кислорода (АФК) и/или снижения активности антиоксидантных механизмов (Lankin V., Tikhaze A., 2017; Lankin V. et al., 2022). В связи с этим, в качестве маркеров окислительного стресса может использоваться уровень продуктов свободнорадикального окисления, таких, как содержание малонового диальдегида (МДА); уровень окислительно модифицированных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП); активность антиоксидантных ферментов (Cu,Zn-содержащей супероксиддисмутазы – Cu,Zn-СОД, каталазы и Se-содержащей глутатионпероксидазы – ГП) (Lankin V., Tikhaze A., 2017). Тем не менее, имеется ограниченное число работ, посвященных исследованию свободнорадикальных процессов при тепловом стрессе (Slimen I.B., Najjar T., Ghram A. et al., 2014; Brownstein A.J., Ganesan S., Summers C.M. et al., 2017; Wang Y., Yang C., Elsheikh N.A.H. et al., 2019; Hirsch G.E., Heck T.G., 2022). Анализ маркеров окислительного стресса в условиях гипертермии проводили преимущественно на животных (Oliver S.R., Phillips N.A., Novosad V.L. et al., 2012; Gonzalez-Rivas P.A., Chauhan S.S., Ha M. et al., 2020; Chauhan S.S., Rashamol V.P., Bagath M. et al., 2021; Goel A., 2021; Jacobs P.J., Oosthuizen M.K., Mitchell C. et al., 2021; Oghbaei H., Hosseini L., Farajdokht F. et al., 2021), либо среди представителей профессий, при которых тепловое воздействие являлось фактором профессиональной вредности (Hillman A.R., Vince R.V., Taylor L. et al., 2011; Quindry J., Miller L., McGinnis G. et al., 2013; Gharibi V., Khanjani N., Heidari H. et al., 2020). В доступной литературе

отсутствуют сведения о механизмах нарушения регуляции свободнорадикальных процессов при экспериментальной гипертермии у здоровых людей, так же, как не изучены особенности развития окислительного стресса у пациентов с ИБС в сравнении со здоровыми людьми при воздействии волн летней жары. Исходя из этого, исследование ключевых параметров окислительного стресса у здоровых добровольцев при экспериментальной гипертермии и пациентов с распространенным атеросклеротическим поражением артериального русла в период волн летней жары представляется весьма своевременным и актуальным.

Цель исследования: изучение особенностей развития и регуляции механизмов окислительного стресса в условиях экстремального повышения температуры окружающей среды у практически здоровых людей при экспериментальной гипертермии и у больных ИБС с различной тяжестью коронарного и экстракоронарного атеросклеротического поражения при волнах летней жары.

Экспериментальная часть работы выполнена в рамках государственного контракта № 12/07-319 от 2012г. Клиническая часть работы выполнена в рамках проекта РФФИ 15-04-03030 А «Окислительный стресс при гипертермии и влияние волн летней жары на осложнения заболеваний сердечно-сосудистой системы».

Задачи исследования

1. Исследовать параметры окислительного стресса у практически здоровых добровольцев при экспериментальной гипертермии, включая уровень малонового диальдегида (МДА) и МДА-модифицированных ЛПНП (МДА-ЛПНП) в плазме крови, а также длину теломерных повторов хромосом в лейкоцитах крови.

2. Исследовать активность ключевых антиоксидантных ферментов в эритроцитах практически здоровых добровольцев при экспериментальной гипертермии, включая активность Cu,Zn-супероксиддисмутазы (Cu,Zn-SOD), каталазы и Se-содержащей глутатионпероксидазы (ГП).

3. Исследовать уровень продуктов свободнорадикального окисления (содержание МДА и МДА-ЛПНП) в плазме крови пациентов с ИБС и экстракоронарным атеросклерозом при волнах летней жары в сравнении с контрольной группой.

4. Исследовать активность ключевых антиоксидантных ферментов (Cu,Zn-СОД, каталазы и ГП) в эритроцитах пациентов с ИБС и экстракоронарным атеросклерозом при волнах летней жары в сравнении с контрольной группой.

5. Провести сравнительный анализ параметров окислительного стресса (содержание продуктов свободнорадикального окисления и активность антиоксидантных ферментов) у пациентов с ИБС при различной степени тяжести атеросклеротического поражения коронарного русла и выраженности экстракоронарного атеросклероза в условиях температуры комфорта и в ответ на воздействие волн летней жары.

Научная новизна работы

Впервые установлено, что экспериментальная гипертермия у здоровых добровольцев сопровождается развитием выраженного окислительного стресса, о чем свидетельствуют значительные изменения маркеров окислительного стресса, а именно содержание МДА, длина теломеров и активность антиоксидантных ферментов.

Впервые установлено, что у пациентов с ИБС и выраженным коронарным и экстракоронарным атеросклеротическим поражением (более 32 баллов по шкале SYNTAX) нарушения регуляции свободнорадикальных процессов в условиях волн летней жары носят более выраженный характер, чем у пациентов с ИБС и умеренным объемом коронарного и экстракоронарного поражения (22-32 балла по шкале SYNTAX).

Впервые на основании собственных данных обоснован особый механизм развития окислительного стресса при кратковременной гипертермии, включающий не только интенсификацию свободнорадикального окисления липидов и окислительную деструкцию ДНК, но и компенсаторное увеличение

активности Cu,Zn-СОД.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость исследования заключается в экспериментальном обосновании возможных механизмов нарушения регуляции свободнорадикальных процессов при действии кратковременной гипертермии, как в норме, так и при патологии сердечно-сосудистой системы. Выявлены наиболее информативные показатели, такие, как уровень МДА в плазме крови и активность Cu,Zn-СОД в эритроцитах, свидетельствующие о нарушении нормального функционирования системы регуляции свободнорадикальных процессов при экспериментальной гипертермии у здоровых людей и волнах летней жары у больных ИБС и распространенным атеросклеротическим поражением коронарного русла. Полученные результаты могут применяться для выявления тяжести индивидуальной реакции организма на тепловые воздействия с целью профилактики возможных осложнений ССЗ, а также для оптимизации проводимой медикаментозной коррекции.

Методология и методы исследования

Содержание МДА-ЛПНП определяли с помощью иммуноферментного анализа; содержание МДА – по образованию окрашенных продуктов, образованных при реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой; активность антиоксидантных ферментов – при помощи исследования кинетики ферментативной реакции с использованием спектрофотометрических методов.

Об окислительном повреждении ДНК судили по уменьшению длины теломерных повторов ядерных клеток крови. Исследование было выполнено в соответствии с требованиями надлежащей клинической практики и принципами Хельсинкской Декларации. Протоколы исследования были одобрены локальным этическим комитетом. У всех включенных в исследование было получено письменное информированное согласие.

Положения, выносимые на защиту:

1. Развитие окислительного стресса зарегистрировано как у здоровых добровольцев в условиях длительной моделируемой гипертермии, так и у

пациентов групп контроля и ИБС при естественном повышении температуры окружающей среды во время волн летней жары.

2. У пациентов с ИБС имеется как исходное нарушение работы механизмов антиоксидантной защиты, так и нарушение реакции антиоксидантной системы в ответ на жару по сравнению с группой контроля.

3. При температуре комфорта исходные параметры окислительного стресса у пациентов с ИБС и различной тяжестью коронарного и экстракоронарного поражения не различаются.

4. Имеются различия в реакции антиоксидантной системы в ответ на жару у пациентов с ИБС и тяжелым коронарным и экстракоронарным атеросклеротическим поражением по сравнению с таковыми у пациентов с умеренной тяжестью коронарного атеросклеротического поражения и невыраженным экстракоронарным атеросклерозом.

5. При кратковременном тепловом стрессе имеет место компенсаторное увеличение активности Cu,Zn-СОД у здоровых добровольцев, лиц без ИБС и пациентов с ИБС и умеренной тяжестью коронарного и экстракоронарного атеросклеротического поражения.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования обеспечивается достаточным количеством клинического материала, значительным объемом клинического обследования пациентов, соответствием полученных результатов поставленной цели и задачам исследования, использованием современных клинических и биохимических методов изучения исследуемых параметров, применением современных и адекватных методов статистической обработки данных.

Результаты работы были доложены на Всероссийской научно-практической конференции «56-я ежегодная сессия Российского кардиологического научно-производственного комплекса» (Москва, 2016) и на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2022).

Личный вклад автора

Автор провел отбор пациентов для всех этапов научного исследования, участвовал в комплексном лабораторно-инструментальном обследовании, лично участвовал в клиническом наблюдении испытуемых экспериментальной части исследования в течение всего срока проведения эксперимента, осуществлял наблюдение и консультирование пациентов, включенных в клиническую часть исследования в течение всего срока наблюдения, а также выполнил статистический анализ полученных данных, проанализировал литературные источники, подготовил публикации по результатам работы.

Сведения о внедрении

Результаты проведенного исследования внедрены в клиническую практику и научно-исследовательскую работу ФГБУ «НМИЦК им. акад. Е.И. Чазова» Минздрава России.

Структура и объем работы

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы с описанием полученных результатов, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация изложена на 118 страницах, содержит 13 рисунков и 13 таблиц. Список литературы включает 283 источника, в том числе – 51 отечественных, 232 – зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. В экспериментальное исследование на базе медико-технического комплекса Института медико-биологических проблем РАН было включено 6 здоровых добровольцев-мужчин в возрасте 22-46 лет. Размер выборки был обусловлен вместимостью жилого модуля установки искусственной изоляции («МАРС 500»). Критериями включения являлось отсутствие отклонений в состоянии здоровья по данным комплексного медицинского обследования. Параметры климатических условий в модуле: колебания температуры в дневное время – 30-38°C при влажности

30%-60%, в ночное время – 23-31°C при влажности 50-75%. Активность антиоксидантных ферментов и содержание продуктов свободнорадикального окисления определяли до начала исследования, на 10, 20 и 30-е сутки эксперимента, относительную длину теломерных повторов в лейкоцитах крови – до исследования и на 30-е сутки эксперимента.

В клиническое исследование на базе стационара ФГБУ «НМИЦК им. Е.И. Чазова» Минздрава России было включено 30 мужчин в возрасте 20-65 лет (52±13 лет) со стабильной стенокардией напряжения II-III функционального класса (ФК) по данным нагрузочного теста, у которых при проведении коронароангиографии (КАГ) было выявлено значимое стенозирование как минимум одной магистральной коронарной артерии (оценка тяжести коронарного поражения более 22 баллов по шкале SYNTAX) (Таблица 1). Первичный скрининг включал 137 пациентов.

Все пациенты основной группы исследования находились на адекватной терапии, которая не менялась в течение всего периода исследования ни в плане наименований препаратов, ни в плане режима дозирования.

Пациенты со стенокардией (n=30) были разделены на две группы по степени выраженности поражения коронарного русла по шкале SYNTAX с учетом выраженности экстракоронарного атеросклеротического поражения.

Таблица 1 – Клиническая характеристика пациентов основной клинической группы исследования

Характеристика	n=30
Типичные ангинозные боли	22 (73,3%)
Одышка/ дискомфорт в груди при нагрузках	24 (80%)
Постинфарктный кардиосклероз	9 (30%)
ЧКВ в прошлом	13 (43,3%)
Факторы риска ИБС:	
Артериальная гипертензия	26 (86,7%)
Гиперлипидемия	30 (100%)
Отягощенный семейный анамнез по ССЗ	28 (93,3%)
Курение в анамнезе	23 (76,7%)
ИМТ	
<25 (норма)	16 (53,3%)
25-30 (избыточная МТ)	6 (20%)

Продолжение Таблицы 1

30-35 (ожирение Iст.)	7 (23,3%)
35-40 (ожирение IIст.)	1 (10%)
ИМТ Me[Q25;Q75]	25,4 [23,8; 28,6]
Тредмил-тест (METS):	
<3.9 (низкая ТФН)	11 (36,7%)
4.0-6.9 (средняя ТФН)	17 (56,7%)
7.0-9.9 (высокая ТФН)	2 (6,7%)
>10 (очень высокая ТФН)	Нет
METS Me[Q25;Q75]	4,4 [3,525; 5,725]

В группу 1 вошло 12 человек (62 ± 4 лет), у которых по данным КАГ имелось гемодинамически значимое поражение не более 2 коронарных артерий (22-32 балла по шкале SYNTAX), степень стенозирования брахиоцефальных артерий у всех пациентов данной группы не превышала 30%.

В группу 2 было включено 18 человек (54 ± 12 лет) с тяжелым мультифокальным атеросклеротическим поражением (более 32 баллов по шкале SYNTAX). Клиническая характеристика пациентов представлена в Таблице 2.

Таблица 2 – Клиническая характеристика групп пациентов с ИБС и различной тяжестью атеросклеротического поражения

Характеристика	Группа 1, n=12	Группа 2, n=18
ФК стенокардии:		
II	8 (66,7%)	3 (16,7%)
III	4 (33,3%)	15 (83,3%)
Постинфарктный кардиосклероз	0	9 (50%)
ЧКВ в прошлом	5 (41,7%)	8 (44,4%)
Стенозирование коронарного русла:		
- 1 сосуд	3 (25%)	0
- 2 сосуда	9 (75%)	6 (33,3%) (из них 6: +ствол ЛКА)
- 3 сосуда	0	12 (66,7%) (из них 5: +ствол ЛКА)
Средний балл по шкале SYNTAX	25 ± 3	39 ± 6
Стенозирование брахиоцефальных артерий:		
- менее 30%	12 (100%)	0
- 30-70%	0	11 (61,1%)
- более 70%	0	7 (38,9%)

В контрольную группу клинического исследования были включены 10 мужчин в возрасте 27-65 лет (48 ± 7 лет) без клинических явлений типичной стенокардии напряжения по данным нагрузочных тестов (результат теста расценен как сомнительный, либо положительный по клиническим критериям при отсутствии ишемической динамики ST на электрокардиограмме), у которых при КАГ описана минимальная неровность контуров коронарного русла либо интактные коронарные артерии, а в брахиоцефальных артериях допускалось начальное утолщение и уплотнение стенок сосудов без формирования типичной структуры атеросклеротической бляшки.

Следует отметить, что за время наблюдения между точкой включения в исследование при температуре комфорта и точкой наблюдения после прохождения волн жары физикально у пациентов как основной, так и контрольной группы исследования не отмечено клинического ухудшения по результатам амбулаторного мониторинга основных параметров гемодинамики, показатели липидного профиля оставались стабильны.

В клинической части работы все параметры окислительного стресса измеряли дважды: весной в период температуры комфорта (дневная температура не выше 20°C) и после прохождения летней волны жары (среднесуточная температура выше 27°C более 2 суток подряд).

Содержание МДА-ЛПНП в плазме крови определяли с помощью иммуноферментного анализа (тест-наборы Mercodia Oxidized LDL ELISA, Швеция). **Содержание МДА** в плазме крови определяли спектрофотометрически по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой в кислой среде. **Активность каталазы** в эритроцитах определяли спектрофотометрически по скорости восстановления пероксида водорода. **Активность ГП** в эритроцитах определяли спектрофотометрически в сопряженной глутатионредуктазной системе по скорости окисления NADPH. **Активность Cu,Zn-СОД в эритроцитах** определяли спектрофотометрически по подавлению восстановления синего нитротетразолия супероксидным анион-радикалом, генерируемым в системе ксантин-ксантиноксидаза.

Относительную длину теломерных повторов хромосом лейкоцитов периферической крови определяли с использованием ДНК-амплификатора в реальном времени.

Статистическая обработка полученных результатов. В связи с тем, что распределение признаков во всех случаях отличалось от нормального закона распределения в тестах Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Вилка (Shapiro- Wilk's W test), для анализа полученных данных применялись непараметрические методы статистики. Размер выборки обоснован строгими критериями отбора участников исследования в целях сохранения стабильности всех оцениваемых параметров состояния здоровья, определяющих течение стенокардии при волнах летней жары, кроме изучаемых показателей окислительного стресса, а также объемом выборки предшествующих исследований с оценкой показателей окислительного стресса у пациентов кардиологического профиля, позволяющим получить достоверные результаты. Количественные данные были описаны в виде Me [Q25;Q75], где Me – медиана распределения показателя; Q25 и Q75 – нижний и верхний квартили. Анализ различий количественных показателей при межгрупповых сравнениях выполняли с помощью критерия Манн-Уитни (Mann-Whitney U test), при внутригрупповых сравнениях – с помощью критерия Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Различия считались статистически значимыми при полученных значениях $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты экспериментальной части исследования

На первом, экспериментальном, этапе исследования установлено, что при воздействии моделируемой гипертермии у здоровых людей отмечается прогрессивное повышение уровня МДА в течение всего срока эксперимента. В течение первых 10 суток эксперимента отмечено первоначальное снижение уровня МДА-ЛПНП (на 10,16%, $p < 0,05$), далее уровень этого параметра повышался и к 20-м и 30-м суткам эксперимента статистически не отличался от

исходного уровня (Рисунок 1).

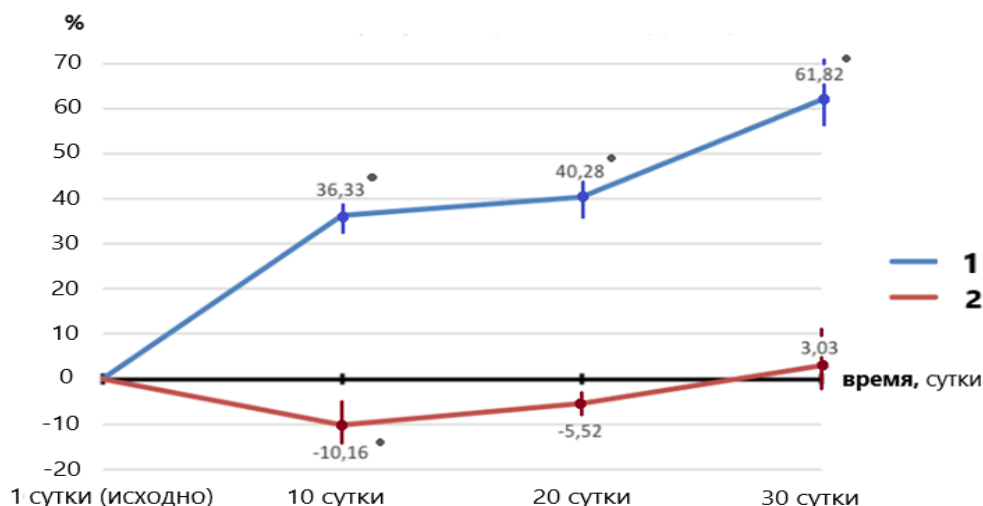


Рисунок 1 – Изменение содержания продуктов свободно-радикального окисления: МДА (1) и МДА-ЛПНП (2) в плазме крови здоровых добровольцев в условиях моделируемой гипертермии (в % от исходного)

Примечание (здесь и далее в Рисунках 2, 3, 4, 5, 6 и 7): * - $p < 0,05$ при проверке различий с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

Такая динамика продуктов свободнорадикального окисления в плазме крови сопровождалась существенным уменьшением активностей каталазы и ГП в эритроцитах и выраженным повышением активности Cu,Zn-СОД (Рисунок 2).

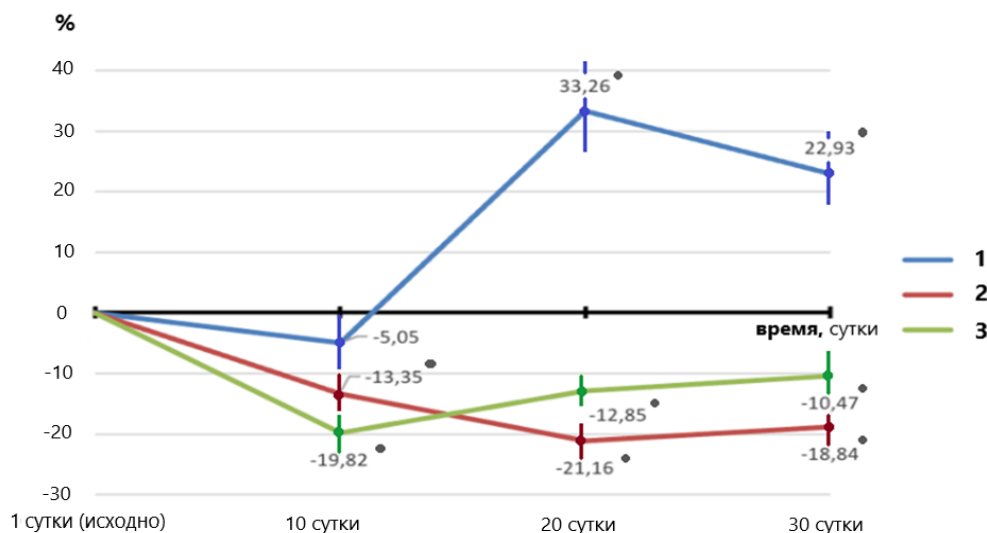


Рисунок 2 – Динамика активности антиоксидантных ферментов: Cu,Zn-СОД (1), ГП (2) и каталазы (3) в эритроцитах здоровых добровольцев при моделируемой гипертермии (в % от исходного)

При воздействии 30 суток жары у здоровых добровольцев отмечено

значимое (на 16,5%, $p < 0,05$) уменьшение длины теломеров в лейкоцитах крови (Рисунок 3).

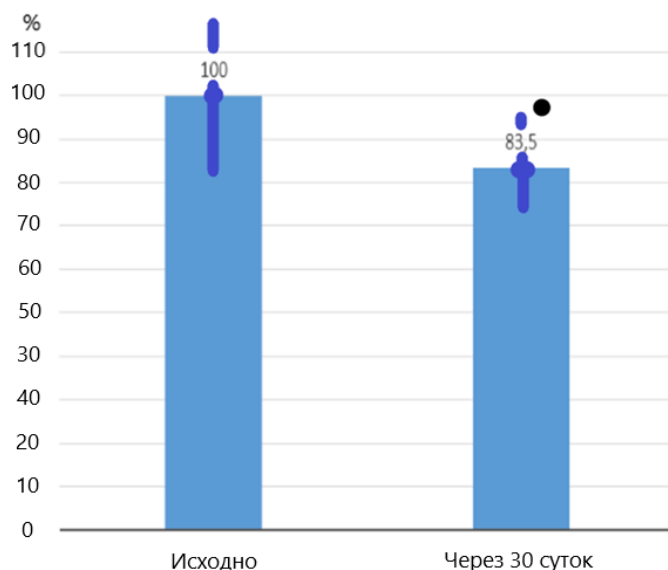


Рисунок 3 – Изменение относительной длины теломеров в лейкоцитах крови здоровых добровольцев при моделируемой гипертермии (в % от исходного) (Результаты получены в соавторстве с Ланкиным В.З., Постновым А.Ю., Родненковым О.В., Коноваловой Г.Г., Дорошук Н.А., Тихазе А.К., Дорошук А.Д., Хесуани Ю.Д., Чазовой И.Е.)

Результаты клинической части исследования

При изучении уровня продуктов свободнорадикального окисления и активности антиоксидантных ферментов в контрольной и исследуемой группе исходно при температуре комфорта была выявлена более высокая активность каталазы и ГП в группе ИБС по сравнению с группой контроля (Таблица 3).

Таблица 3 – Показатели свободнорадикального окисления в группах контроля и ИБС исходно (в период комфортной температуры), Ме [Q₂₅; Q₇₅]

	Группа контроля (n=10)	Группа ИБС (n=30)	p
Активность каталазы, ед/г Нб	333,2 [303,9; 350,7]	371,8 [347,5; 422,8]	0,0010*
Активность Cu,Zn-СОД, ед/г Нб	208,6 [172,6; 228,1]	192,3 [169,4; 231,4]	0,8658
Активность ГП, ед/г Нб	2,2 [1,64; 2,69]	3,22 [2,62; 4,30]	0,0002*
Содержание МДА, нмоль/мл	13,9 [11,9; 19,7]	10,66 [7,9; 17,9]	0,3464

Содержание МДА-ЛПНП, ед/л	46,5 [39,1; 56,4]	49,7 [43,1; 61,3]	0,7007
------------------------------	-------------------	-------------------	--------

Примечание: * - $p < 0,05$ при попарных сравнениях показателей в группах с применением рангового непараметрического критерия Манна-Уитни

При прохождении волн жары отмечено изменение всех изучаемых параметров окислительного стресса. Накопление МДА в группе контроля и группе ИБС составило более 71% ($p < 0,05$) и 60% ($p < 0,05$) соответственно. Снижение уровня МДА-ЛПНП составило более 14% ($p < 0,05$) в группе контроля и более 25% ($p < 0,05$) в группе больных ИБС (Рисунок 4).

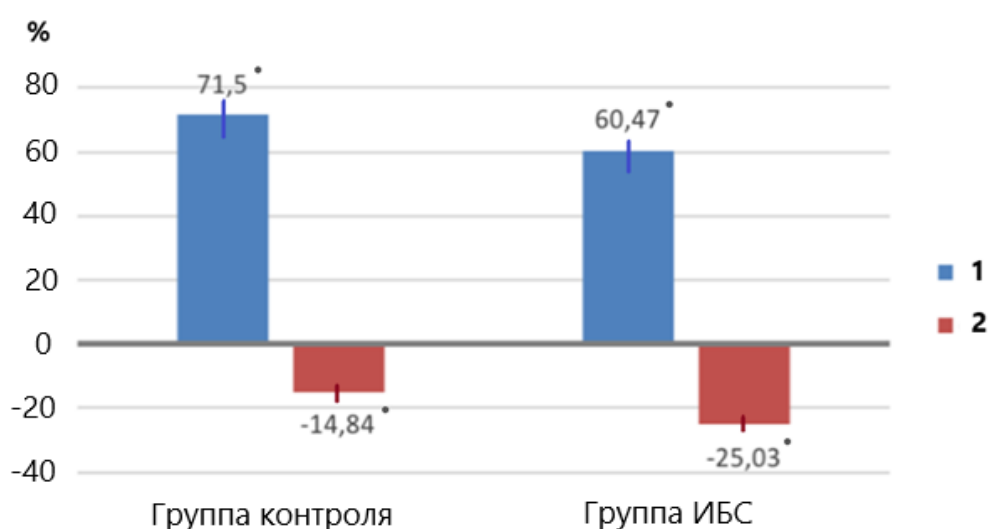


Рисунок 4 – Изменение содержания МДА (1) и МДА-ЛПНП (2) в плазме крови пациентов групп контроля и ИБС в ответ на жару (в % от исходного)

Снижение активности каталазы и ГП составило более 21% ($p < 0,05$) и почти 20% ($p < 0,05$) соответственно в группе контроля, и более 57% ($p < 0,05$) и 24% ($p < 0,05$) соответственно в группе ИБС. Активность Cu,Zn-СОД возросла более 139% ($p < 0,05$) в группе контроля и 67% ($p < 0,05$) в группе ИБС (Рисунок 5).

Таким образом, изменения ключевых параметров окислительного стресса в крови пациентов с ИБС при волнах летней жары, в целом, сопоставимы с таковыми в группе контроля, однако при схожей направленности этих изменений отмечены явные различия выраженности этих изменений по ряду

параметров у пациентов группы контроля и больных ИБС, что свидетельствует о более выраженном нарушении регуляции свободнорадикальных процессов у пациентов с ИБС.

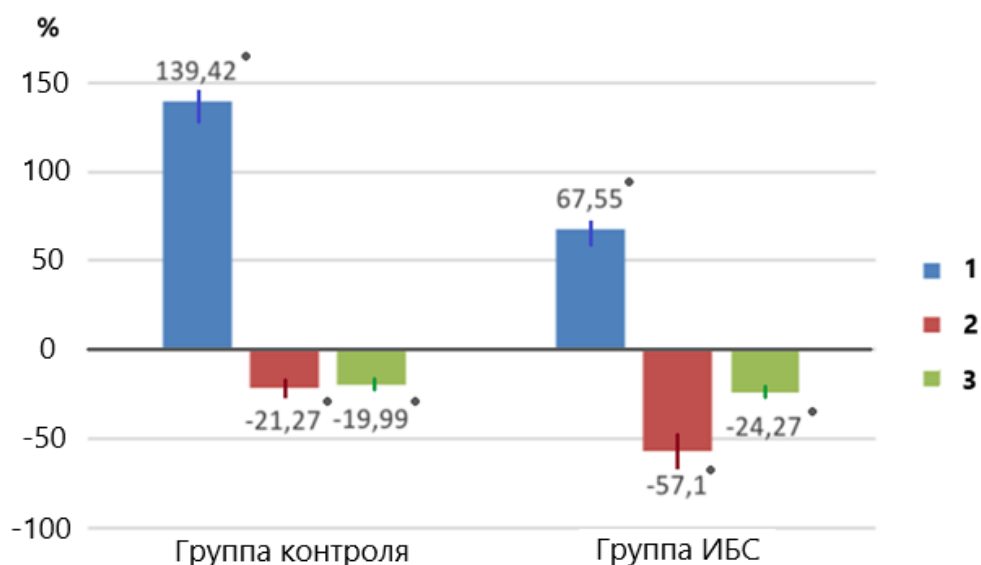


Рисунок 5 – Изменение активности Cu,Zn-SOD (1), ГП (2) и каталазы (3) в эритроцитах пациентов групп контроля и ИБС в ответ на жару (в % от исходного)

Далее представлен анализ показателей окислительного стресса при прохождении волн жары у пациентов с ИБС и различной степенью тяжести атеросклеротического коронарного и экстракоронарного поражения.

На момент включения в исследование, при температуре комфорта, при изучении уровня продуктов свободнорадикального окисления и активности антиоксидантных ферментов между группами больных ИБС с различной тяжестью коронарного поражения достоверных различий параметров не выявлено. В то же время, в ответ на прохождение волн жары у пациентов с ИБС и разной степенью тяжести коронарного поражения имелись существенные отличия в динамике показателей. У пациентов с умеренной тяжестью коронарного поражения (группа 1) было выявлено значительное (на 97,04%, $p < 0,05$, от исходного уровня) увеличение содержания МДА в ответ на прохождение волн жары, в то время как в группе с тяжелым коронарным поражением (группа 2) накопление МДА носило гораздо менее выраженный

характер (на 40,72%, $p < 0,05$, от исходного уровня). Достоверное снижение концентрации МДА-ЛПНП в группе 1 не зарегистрировано, в отличие от группы 2, где снижение составило 32,18%, $p < 0,05$, от исходного уровня (Рисунок 6).

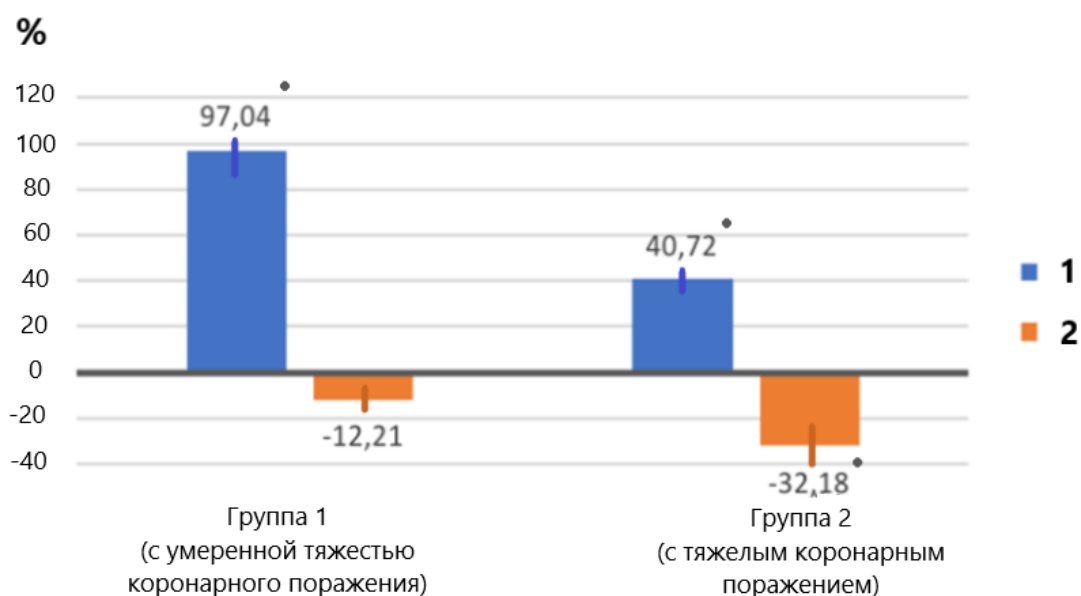


Рисунок 6 – Изменение содержания продуктов свободнорадикального окисления: МДА (1) и МДА-ЛПНП (2) в плазме крови пациентов с ИБС и различной тяжестью коронарного поражения в ответ на жару (в % от исходного)

При анализе динамики уровня ферментов обращает на себя внимание значительно более выраженное увеличение активности Cu,Zn-SOD (147,23% от исходного) в группе 1 по сравнению с этим показателем в группе 2, где прирост активности не был статистически значимым по сравнению с исходным параметром (Рисунок 7). Таким образом, и в экспериментальной части, и в ходе клинического этапа исследования наряду с типичными проявлениями окислительного стресса (снижением активности ГП и каталазы, уменьшением длины теломеров) мы наблюдали и парадоксальные реакции - увеличение активности Cu,Zn-SOD и первоначальное снижение МДА-ЛПНП. Первичное снижение содержания МДА-ЛПНП в плазме крови при экспериментальной гипертермии может быть объяснено их экстремально высоким клиренсом у млекопитающих (Тихазе А.К., Домогацкий С.П., Ланкин В.З., 2020) вследствие

активной утилизации сквенджер-рецепторами купферовских клеток печени (Ланкин В.З., Тихазе А.К., Вийгимаа М. и др., 2018).

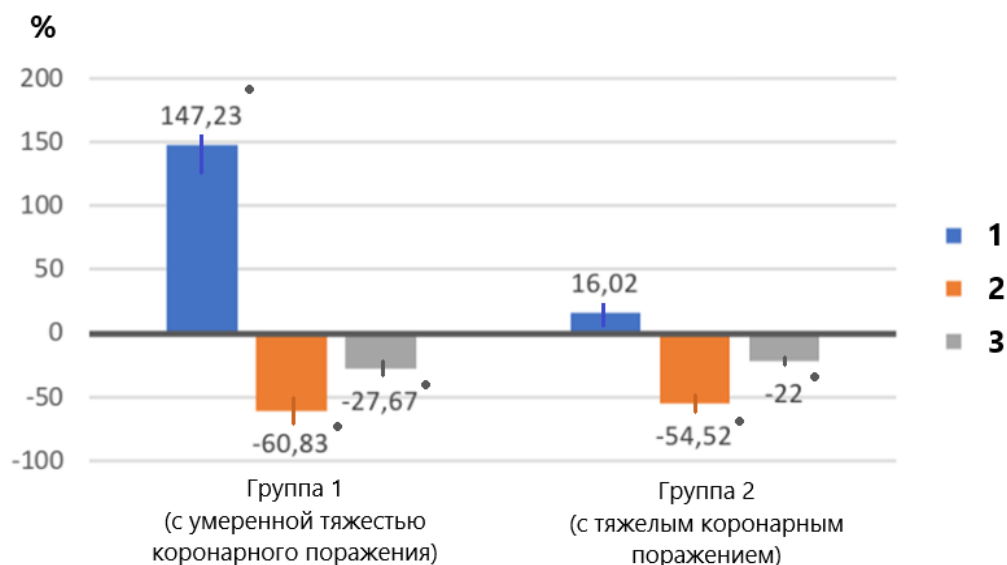


Рисунок 7 – Изменение активности антиоксидантных ферментов: Cu,Zn-СОД (1), ГП (2) и каталазы (3) в эритроцитах пациентов с ИБС и различной тяжестью коронарного поражения в ответ на жару (в % от исходного)

Увеличение активности Cu,Zn-СОД может рассматриваться в качестве компенсаторной физиологической реакции, направленной на подавление образования АФК. Известно, что при окислительном стрессе вследствие гиперпродукции АФК происходит увеличение содержания первичных и вторичных продуктов свободнорадикального окисления, преимущественно в легко окисляемых полиеновых липидах, включая ненасыщенные фосфолипиды биомембран. Этот процесс может сопровождаться окислительной деструкцией биомембран, в частности мембран эритроцитов, с их частичным гемолизом (Рисунок 8). Частичный гемолиз эритроцитов (гемолитическая анемия) неизбежно должен вызывать ответную стимуляцию гемопоэза за счет образования ретикулоцитов (Ланкин В.З., Шумаев К.В., Тихазе А.К., Курганов Б.И., 2017). В ядерных клетках происходит экспрессия генов Cu,Zn-СОД и индукция биосинтеза фермента, что приводит к увеличению активности Cu,Zn-СОД в эритроцитах.

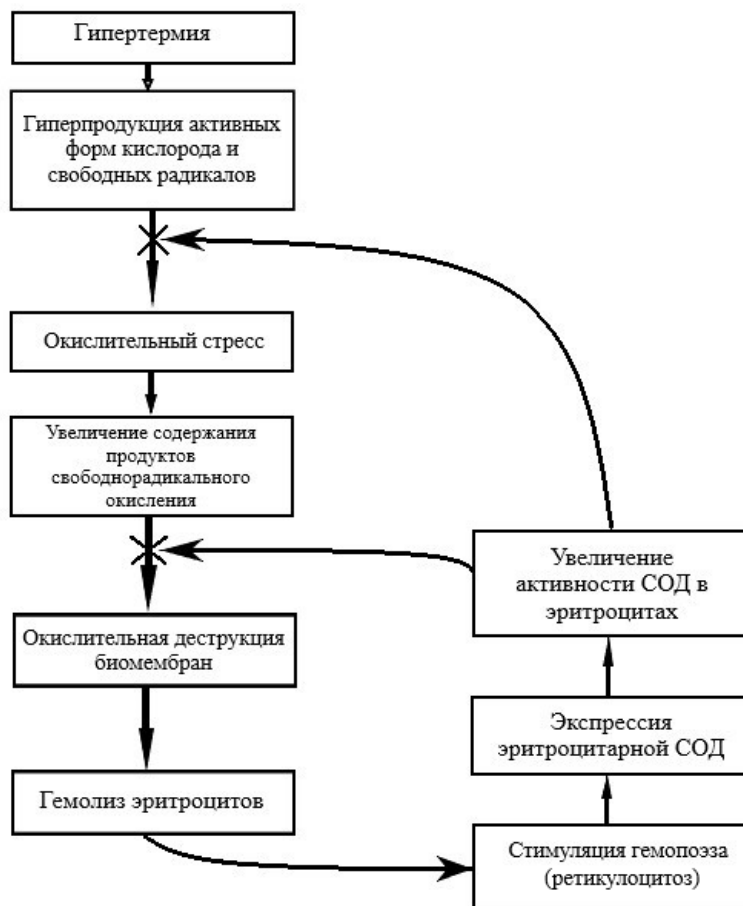


Рисунок 8 – Ферментный механизм регуляции свободнорадикального окисления при гипертермии

Увеличение активности Cu,Zn-СОД усиливает утилизацию супероксидных анион-радикалов, препятствуя образованию других АФК и вызывая снижение выраженности окислительного стресса.

ВЫВОДЫ

1. У здоровых добровольцев в условиях моделируемой гипертермии выявлено прогрессивное увеличение содержания малонового диальдегида в плазме крови и снижение длины теломеров в ядерных клетках крови в течение 30 дней наблюдения при практически неизменном содержании МДА-ЛПНП.

2. У здоровых добровольцев в условиях моделируемой гипертермии обнаружено достоверное снижение активности каталазы и ГП в эритроцитах в течение 30 дней наблюдения, при существенном возрастании активности

Cu,Zn-СОД.

3. При повышении температуры окружающей среды у пациентов с ИБС и группы контроля выявлено достоверное снижение активности каталазы и ГП в эритроцитах, тогда как активность Cu,Zn-СОД, напротив, возрастала. Как у больных с ИБС, так и в контрольной группе после волн летней жары отмечено значительное увеличение содержания МДА в плазме крови при одновременном достоверном снижении уровня МДА-ЛПНП.

4. Несмотря на однонаправленные изменения активности ферментов в группах контроля и ИБС в ответ на прохождение волн жары, увеличение активности Cu,Zn-СОД в группе больных ИБС было значительно выше, а активность ГП – значительно ниже по сравнению с группой контроля.

5. В группе с умеренной тяжестью коронарного поражения после воздействия жары наблюдалось достоверно более выраженное накопление МДА при отсутствии снижения уровня МДА-ЛПНП и выраженное повышение активности Cu,Zn-СОД по сравнению с группой с тяжелым коронарным поражением.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Изучение активности антиоксидантных ферментов и накопления продуктов свободнорадикального окисления может применяться для дополнительной оценки тяжести пациентов с верифицированным диагнозом стабильной стенокардии II-III функционального класса.

2. Оценка параметров окислительного стресса и антиоксидантной защиты рекомендуется больным ИБС с многососудистым поражением для прогнозирования риска осложнений в условиях предстоящей жары и коррекции лекарственной терапии.

3. Для выявления тяжести индивидуальной реакции организма пациентов с ИБС на тепловые воздействия рекомендуется определение наиболее информативных показателей окислительного стресса (уровень МДА плазмы крови и активность Cu,Zn-СОД в эритроцитах) с целью профилактики

возможных осложнений ССЗ и оптимизации медикаментозной терапии.

4. Для оценки эффективности антиоксидантных препаратов в составе комплексной терапии у пациентов с ИБС рекомендуется проведение клинических испытаний по изучению данной терапии на показатели окислительного стресса, течение ИБС и частоту развития осложнений в условиях жары.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России

1. Влияние летней жары на показатели окислительного стресса у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями / М.Д. Смирнова, Г.Г. Коновалова, А.К. Тихазе [и др.]. – Текст (визуальный): непосредственный // **Кардиологический вестник**. – 2013. – Т. 8, № 1(20). – С. 18-22. – (Соавт.: **М.К. Осяева**, О.Н. Свирида, Л.Г. Ратова, А.Ю. Постнов, Ф.Т. Агеев, В.З. Ланкин, И.Е. Чазова).

2. Изменение длины теломер хромосом при воздействии климатических условий, имитирующих жару в Москве летом 2010 года / Н.А. Дорошук, А.Д. Дорошук, О.В. Родненков [и др.]. – Текст (визуальный): непосредственный // **Кардиологический вестник**. – 2013. – Т. 8, № 2(20). – С. 32-35. – (Соавт.: **М.К. Осяева**, З.Б. Хасанова, Ю.Д. Хесуани, А.Ю. Постнов, И.Е. Чазова).

3. Окислительный стресс как фактор риска осложнения сердечно-сосудистых заболеваний и преждевременного старения при действии неблагоприятных климатических условий / В.З. Ланкин, А.Ю. Постнов, О.В. Родненков [и др.]. – Текст (визуальный): непосредственный // **Кардиологический вестник**. – 2013. – Т. 8, № 1(20). – С. 22-25. – (Соавт.: Г.Г. Коновалова, Н.А. Дорошук, А.К. Тихазе, **М.К. Осяева**, А.Д. Дорошук, Ю.Д. Хесуани, И.Е. Чазова).

4. Прямое повреждающее воздействие на ДНК человека неблагоприятных экологических и климатических факторов / Н.А. Дорошук, А.Ю. Постнов, А.Д. Дорошук [и др.]. – Текст (визуальный): непосредственный

// **Терапевтический архив.** – 2014. – Т. 86, № 12. – С. 72-77. – (Соавт.: З.Б. Хасанова, Н.В. Коновалова, Ю.Д. Хесуани, **М.К. Осяева**, О.В. Родненков, И.Е. Чазова).

5. **Осяева, М.К.** Окислительный стресс при гипертермии / М.К. Осяева, А.К. Тихазе, В.З. Ланкин. – Текст (визуальный): непосредственный //

Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2016. – Т. 1, № 3-2(109). – С. 124-127.

6. Изменение ключевых параметров окислительного стресса у больных с ишемической болезнью сердца при волнах летней жары / **М.К. Осяева**, А.К. Тихазе, Г.Г. Коновалова [и др.]. – Текст (визуальный): непосредственный //

Терапевтический архив. – 2021. – Т. 93, № 4. – С. 421-426. – (Соавт.: Г.И. Хеймец, Т.В. Мартынюк, В.З. Ланкин).

7. Регуляция свободнорадикальных процессов при экспериментальной гипертермии у здоровых добровольцев и больных ишемической болезнью сердца во время волн летней жары / А.К. Тихазе, Г.Г. Коновалова, **М.К. Осяева** [и др.]. – Текст (визуальный): непосредственный //

Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2021. – Т. 6, № 5. – С. 19-29. – (Соавт.: М.Д. Смирнова, Т.В. Мартынюк, В.З. Ланкин).

Статьи в других изданиях

8. Жара и сердечно-сосудистая система. Где слабое звено? / А.А. Федорович, О.В. Родненков, А.Р. Заирова [и др.]. – Текст (визуальный): непосредственный //

Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции (56-я ежегодная сессия Российского кардиологического научно-производственного комплекса) «Кардиология 2016: итоги и перспективы» (Москва, 02–03 июня 2016 года). – Москва: ООО «ИнтерМедсервис», 2016. – С. 15-16. – (Соавт.: Ш.Б. Гориева, О.А. Погорелова, М.И. Трипотень, В.Н. Шитов, **М.К. Осяева**, А.Н. Рогоза).

9. Карбонильная модификация липопротеидов низкой плотности как ключевой фактор повреждения стенки сосудов при атерогенезе и дисфункции

эндотелия / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, В.Я. Косач, **М.К. Осяева**. – Текст (визуальный): непосредственный // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 26–27 января 2022 года). – Рязань: РязГМУ им. акад. И.П. Павлова, 2022. – С. 36-41.

Патент

1. Патент № 2684286, Российская Федерация, МПК G01N 33/50(2006.01). Способ определения предрасположенности к развитию осложнений заболеваний сердечно-сосудистой системы при экстремальных изменениях климатических условий : № 2018136943 : заявл. 19.10.2018 : опубл. 05.04.2019 / Ланкин В.З., Тихазе А.К., **Осяева М.К.**, Свирида О.Н., Смирнова М.Д., Агеев Ф.Т.; Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный Медицинский Исследовательский Центр Кардиологии (ФГБУ «НМИЦ кардиологии» Минздрава России) (RU).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ГП – Se-содержащая глутатионпероксидаза

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИБС – ишемическая болезнь сердца

КАГ – коронароангиография

МДА – малоновый диальдегид

МДА-ЛПНП – МДА-модифицированные липопротеиды низкой плотности

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ФК – функциональный класс

ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство

Cu,Zn-СОД – Cu,Zn-содержащая супероксиддисмутаза