

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии  
имени академика Е.И. Чазова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

**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

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
доктор медицинских наук, профессор  
Тихазе А.К.

доктор медицинских наук  
Мартынюк Т.В.

Москва – 2022

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Влияние повышенной температуры окружающей среды на заболеваемость, частоту обострений сердечно-сосудистых заболеваний и смертность: эпидемиологические данные.....	12
1.2. Критерии аномальной жары.....	16
1.3. Патопфизиология окислительного стресса и его роль в патогенезе ИБС.....	17
1.3.1. Механизмы окислительного стресса.....	17
1.3.2. Механизмы антиоксидантной защиты.....	20
1.3.3. Окислительный стресс в генезе ишемической болезни сердца.....	22
1.4. Механизмы взаимосвязи гипертермии и окислительного стресса.....	26
1.4.1. Тепловой стресс и продукция активных форм кислорода.....	26
1.4.2. Тепловой стресс и система антиоксидантной защиты.....	27
1.4.3. Влияние гипертермии на дыхательную цепь и перекисное окисление липидов.....	28
1.4.4. Влияние гипертермии на окисление белков.....	29
1.4.5. Роль гипертермии в индукции апоптоза.....	31
2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.....	33
2.1. Общая характеристика участников.....	33
2.1.1. Характеристика участников экспериментальной части исследования.....	33
2.1.2. Характеристика участников клинической части исследования.....	34
2.1.3. Клиническое обследование участников исследования.....	35
2.1.4. Методы исследования параметров окислительного стресса.....	37
2.1.5. Характеристики условий проведения исследования.....	42
2.1.6. Статистическая обработка полученных результатов.....	44

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	45
3.1. Результаты экспериментальной части исследования.....	45
3.1.1. Динамика уровня продуктов свободнорадикального окисления.....	45
3.1.2. Динамика активности антиоксидантных ферментов.....	47
3.1.3. Изменение относительной длины теломерных повторов хромосом лейкоцитов.....	50
3.2. Результаты клинической части исследования.....	51
3.2.1. Динамика показателей окислительного стресса исходно и после волн жары в контрольной группе и группе больных ИБС.....	59
3.2.2. Динамика показателей окислительного стресса у пациентов с ИБС в зависимости от степени тяжести коронарного и экстракоронарного поражения.....	64
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	70
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	80
ВЫВОДЫ.....	83
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	84
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	85
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	87

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Болезни системы кровообращения являются одной из ведущих причин смертности населения от неинфекционных болезней. Это обусловлено целым комплексом факторов, в том числе агрессивным воздействием факторов окружающей среды. Одним из них может быть тепловой стресс в условиях волн летней жары, которые все чаще наблюдаются в разных регионах мира. Данные исследований 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 [59, 84, 137, 138, 154, 178].

Лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) занимает ишемическая болезнь сердца (ИБС). 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 [133, 262].

Анализ погодных явлений за длительный период в прошлом и моделирование дальнейшего развития климатических изменений говорят о том, что в будущем ситуация будет ухудшаться [69, 186]. 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 высокой температурой окружающей среды и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний, механизмы этого явления изучены недостаточно.

Повышение температуры может провоцировать развитие окислительного стресса, как у экспериментальных животных, так и у человека [110, 157, 232]. Также известно, что окислительный стресс играет важную роль в развитии

различных патологических состояний, в том числе, заболеваний сердечно-сосудистой системы и, в частности, ИБС [3, 27, 49, 107, 108, 208, 244, 283]. Можно полагать, что окислительный стресс является одним из важных факторов, влияющих на развитие ССЗ при воздействии экстремальных климатических условий.

### **Степень разработанности темы исследования**

Окислительный стресс развивается вследствие повышенного образования активных форм кислорода (АФК) и/или снижения активности антиоксидантных механизмов. В связи с этим, в качестве маркеров окислительного стресса может использоваться уровень продуктов свободнорадикального окисления (например, содержание малонового диальдегида – МДА, уровень окислительно модифицированных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), а также активность антиоксидантных ферментов (Cu,Zn-содержащей супероксиддисмутазы – Cu,Zn-СОД, каталазы, глутатионпероксидазы – ГП) [181, 272]. Однако, имеется весьма ограниченное число работ, посвященных исследованию свободнорадикальных процессов при тепловом стрессе *in vivo* и *in vitro* [100, 136, 142, 143, 228]. Анализ маркеров окислительного стресса в условиях гипертермии проводили преимущественно на животных либо среди представителей профессий, при которых тепловое воздействие являлось фактором профессиональной вредности [110, 116, 128, 134, 147, 150, 206, 260]. 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 по сравнению со здоровыми людьми при воздействии волн летней жары. Исходя из этого, исследование ключевых параметров окислительного стресса у здоровых добровольцев и пациентов с распространенным атеросклеротическим поражением артериального русла в период волн летней жары представляется весьма своевременным и актуальным.

**Объектом исследования** явились здоровые добровольцы, а также пациенты стационара кардиологического профиля, как с установленным диагнозом ИБС с различной тяжестью коронарного и экстракоронарного атеросклеротического поражения, так и с подтвержденным отсутствием ИБС.

**Предметом исследования** явилась оценка влияния повышенной температуры окружающей среды на развитие окислительного стресса у здоровых лиц и пациентов с ИБС с различной тяжестью коронарного и экстракоронарного атеросклеротического поражения.

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

Экспериментальная часть работы выполнена в рамках государственного контракта № 12/07-319 от 2012 г. 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-SOD, 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 исследования**

Впервые установлено, что экспериментальная гипертермия у здоровых добровольцев сопровождается развитием выраженного окислительного стресса, о чем свидетельствуют значительные изменения маркеров окислительного стресса, а именно уровень 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 исследования**

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 артериального русла. Полученные результаты могут применяться для выявления тяжести индивидуальной реакции организма на тепловые воздействия с целью профилактики возможных осложнений сердечно-сосудистых заболеваний, а также для оптимизации проводимой медикаментозной коррекции.

### **Методология и методы исследования**

В работе использованы различные современные биохимические и иммунохимические методы. 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.

### **Основные 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 методов

обследования и изучения исследуемых биохимических параметров, применением современных и адекватных методов статистической обработки полученных 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).

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационная работа соответствует паспортам научных специальностей 1.5.4. Биохимия, 3.1.20. Кардиология по тематике, методам исследования и научным положениям, поскольку освещает биохимические аспекты развития атеросклероза и ишемической болезни сердца.

### **Личный вклад автора**

Автором проведен отбор пациентов для всех этапов научного исследования. Автор участвовала в комплексном лабораторно-инструментальном обследовании, лично участвовала в клиническом наблюдении испытуемых экспериментальной части исследования в течение всего срока проведения эксперимента. Автор лично осуществляла наблюдение и консультирование пациентов, включенных в клиническую часть исследования в течение всего срока наблюдения, а также выполнила статистический анализ полученных данных, проанализировала литературные источники, подготовила публикации по результатам работы.

### **Сведения о внедрении**

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

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 7 – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований, из которых 3 – в изданиях, индексированных в международной цитатно-аналитической базе данных Scopus, получен 1 патент РФ на изобретение.

### **Структура и объем диссертации**

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. Общий объем диссертации изложен на 118 страницах машинописного текста. Диссертация иллюстрирована 13 рисунками и 13 таблицами. Список литературы включает 283 источника, в том числе 51 – отечественных и 232 – зарубежных авторов.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### **1.1. Влияние повышенной температуры окружающей среды на заболеваемость, частоту обострений сердечно-сосудистых заболеваний и смертность: эпидемиологические данные**

В целом ряде исследований установлено влияние жаркой погоды в отношении заболеваемости ССЗ, частоты различных событий, в т.ч. фатальных, которые занимают лидирующее место в перечне причин заболеваемости и смертности, при этом атеросклероз является самой распространенной причиной их развития [39, 112, 113, 202, 224].

Первые публикации о влиянии аномальной жары на частоту госпитализаций и смертность населения относятся к концу 1990-х гг. В 1997 г. было опубликовано исследование, выполненное после пятидневной волны жары в Чикаго в 1995 г., когда температура воздуха достигла 40°C. В этот период впервые было зарегистрировано увеличение общей смертности (на 85%) и госпитализаций (на 11%) по сравнению с показателями за тот же период времени в предшествующие годы. Основными причинами смертности при анализе структуры причин стали осложнения ИБС, сахарного диабета, заболеваний органов дыхания. Наиболее частыми заболеваниями среди лиц, госпитализированных в этот период, были заболевания ССС, органов дыхания, почек, нервной системы [183].

Первое описание жары в Европе было сделано в 1997 г., когда впервые была документально зафиксирована дополнительная смертность 2 тыс. человек после периода аномальной жары в Афинах. Лето 2003 г. в Европе с аномально высокой и длительной жарой (первый рекорд жары за всю историю наблюдений) послужило основанием масштабных исследований в целом ряде европейских стран. В Италии, Великобритании, Германии, Чехии, Австрии, Франции впервые был организован мониторинг показателей смертности в регионах и крупных городах, таким образом, были получены первые данные о связи смертности

населения с температурой и влажностью воздуха [115, 256].

В 2007 г. были опубликованы данные о 70 тыс. случаев избыточной смертности населения, полученные в рамках проекта ВОЗ CANICULE [235]. В рамках этого проекта впервые было обнаружено большее влияние высокой температуры воздуха на смертность, чем на увеличение частоты госпитализаций.

В 2010 г. были опубликованы результаты масштабного исследования ВОЗ в 15 странах Европы, посвященного изучению влияния волн жары на смертность населения, в ходе которого было подсчитано, что волны жары увеличивают ежедневную смертность населения от ССЗ на 30%, от заболеваний респираторной системы – на 61%, другие причины смертности выявились в значительно меньшем количестве случаев [149].

В США в 2012 г. были опубликованы результаты аналогичных исследований, в ходе которых были проанализированы данные, полученные во время волн жары в более чем 90 американских городах за 14 лет [86]. Было показано, что риск смерти зависел от интенсивности и продолжительности волны жары, а также документирована большая опасность экстремальных повышений температуры в самом начале теплого сезона, из-за сниженной адаптационной способности организма в этот период.

Интересный факт был выявлен в рамках исследований по проекту PHEWE в Европе: было установлено, что для значимого повышения смертности требуется относительно небольшое повышение температуры. При анализе смертности в 15 европейских городах за 10 лет было выявлено повышение смертности на 2% для северных городов и на 3% для южных городов с каждым дополнительным 1°C увеличения температуры воздуха выше порогового уровня для региона [268].

В то же время по всему миру начали проводиться масштабные исследования влияния климата на смертность, частоту госпитализаций, а также начал проводиться систематический анализ структуры заболеваемости у лиц умерших, госпитализированных либо потребовавших обращения за экстренной медицинской помощью в периоды аномальной жары. Тогда же было подтверждено, что лица с хроническими заболеваниями ССЗ составляют одну из

ведущих групп риска смерти и госпитализации при климатических аномалиях.

Так, австралийскими авторами было выявлено статистически значимое увеличение при жаркой погоде коэффициентов вероятности госпитализации в связи с такими патологическими состояниями, как сердечно-сосудистые заболевания, болезни дыхательной системы, обезвоживание. При этом наибольшее количество госпитализаций (38%) приходилось на ССЗ [94, 275].

Влияние жаркой погоды на рост частоты госпитализаций и обращений за экстренной медицинской помощью в связи с развитием или обострением ССЗ было продемонстрировано в исследованиях, проведенных в Корее [247], США [117], Австралии [275], в масштабном исследовании, проведенном в нескольких городах Италии [106].

В масштабном австралийском исследовании установлена высокая чувствительность пациентов с рядом заболеваний к изменениям температуры окружающей среды, в частности, анализ специфических когорт больных ССЗ показал, что наибольшее количество госпитализаций (38%) приходилось именно на ССЗ, причем наиболее часто госпитализируются пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС) – 35% [275].

В данном исследовании анализ сроков обострений различных заболеваний при изменениях температуры окружающей среды показал, что в большинстве случаев частота госпитализаций по поводу ССЗ, как правило, повышается на 3-й день после установления жаркой погоды. В других исследованиях сообщалось об увеличении частоты ИБС и острого инфаркта миокарда (ОИМ) в первый же день повышения температуры до экстремальных значений [2, 46], однако в работе Р. Vanesckova, Н. Vambrick (2013) этого отмечено не было [275].

В крупном исследовании А.С. Barnett et al. (2012) в 99 городах США было установлено, что увеличение смертности больных ССЗ во время аномальной жары было гораздо более выраженным по сравнению с пациентами с заболеваниями системы дыхания [86].

В исследовании Н. Davidkovova et al. (2014) было показано, что в Чехии независимо от возраста или пола смертность от ИБС значимо возрастала с 1-го по

4-й день аномальной жары, при этом пик смертности приходился на 2-й день [151]. Было установлено, что в первый день после начала аномальной жары наблюдалось резкое увеличение смертности больных с хронической ИБС (примерно на 15%), после чего повышенный уровень этого показателя сохранялся в течение 5 дней. Интересно, что при этом значимое повышение смертности от острого ИМ наблюдалось только в течение второго дня аномальной жары и было значительно менее выраженным (около 8%) по сравнению с увеличением смертности пациентов с хронической ИБС [151].

В исследовании, проведенном в Сучжоу (Китай) в 2005-2008 гг., был применен подход расчета относительного риска смерти при прохождении волны жары, который при максимальных зарегистрированных температурах составил 1,43 (за единицу принят риск смерти при комфортной температуре) [254]. В ходе исследования было показано, что увеличение средней температуры в течение 2 дней на 5°C в Пекине сопровождалось возрастанием относительного риска смертности от ССЗ до 1,098 [66]. Было рассчитано, что увеличение температуры на каждый 1°C в 17 крупных городах Китая сопровождалось соответствующим увеличением риска смерти на 3,02% [198].

Несмотря на используемые в исследованиях различные критерии «аномальности» жары, в целом взаимосвязь между аномальной жарой и смертностью от ССЗ считается подтвержденной.

При сравнении влияния повышения температуры окружающей среды на смертность и заболеваемость в различных регионах обращал на себя внимание тот факт, что наиболее выраженные изменения уровня смертности наблюдались в северных континентальных регионах, а не в средиземноморских либо южных континентальных, несмотря на то, что выраженность температурной аномалии в южных регионах часто была значительно выше. По всей видимости, в связи с относительной редкостью в северных регионах периодов, при которых температура воздуха значительно превышает обычные показатели, такое выраженное увеличение смертности может объясняться более низкой способностью к адаптации населения этих регионов. При этом в исследованиях

было показано, показал, что увеличение смертности от ССЗ при повышении температуры окружающей среды наблюдается не только в крупных европейских городах [149, 182, 261, 264].

Отдельного внимания заслуживает отмеченный в большинстве исследований харвестинг-эффект при повышении температуры окружающей среды, то есть первичное увеличение смертности, за которым следует период снижения смертности до показателей ниже среднестатистических. Согласно общепринятой в настоящее время точке зрения, это объясняется тем, что на фоне аномальной жары летальный исход наступает раньше у пациентов, у которых он наступил бы в ближайшие дни независимо от погодных условий. Поскольку наиболее выраженное увеличение смертности наблюдается на фоне наиболее экстремальных температур, предполагают, что нагрузка на здравоохранение по мере глобального потепления будет увеличиваться [86].

В большинстве работ было показано, что эффект жаркой погоды наблюдается практически незамедлительно. Так называемый эффект запаздывания при увеличении смертности от ССЗ при жаркой погоде составляет всего 0-3 дня [73, 255, 271].

Значительное увеличение заболеваемости и смертности, ассоциированное с периодами жары, неоднократно регистрировалось и на территории РФ. Так, в 2001г. при повышении среднесуточной температуры выше 25°C суточная смертность выросла на 93%. В 2010 г. на фоне длительных аномально высоких температур повышение смертности было отмечено в 31 регионе РФ [27, 42].

Таким образом, полученные к настоящему времени эпидемиологические данные свидетельствуют об однозначном влиянии повышения температуры окружающей среды на частоту летальных исходов и осложнений у лиц с заболеваниями сердечно-сосудистой системы и, в частности, с ИБС.

## **1.2. Критерии аномальной жары**

В различных исследованиях в разных регионах мира приняты разные критерии аномальной жары. В проекте EuroHEAT критериями аномальной жары

являются такие максимальные и минимальные значения температуры воздуха, которые превышают 90-й процентиль месячного распределения, по крайней мере, в течение 2-х дней [152]. Однако в ряде регионов (например, с повышенной или пониженной влажностью, влияющей на субъективное ощущение жары, а также с учетом среднегодовой температуры в регионе) приняты другие критерии определения аномальной жары. Так, в исследовании, проведенном в Сучжоу (Китай) в 2005-2008 гг. критериями волны жары были максимальная температура выше 35,0° С и среднесуточная температура выше 97-го процентиля в течение 7 дней подряд [254].

Для г. Москвы уровень опасности воздействия жары на здоровье населения устанавливается Комиссией Правительства Москвы по предупреждению и ликвидации чрезвычайных ситуаций [13] и установлен как низкий – при среднесуточной температуре до 21,9°С, настораживающий – до 24,2°С, средний – до 25,5°С и высокий – свыше 25,5°С. При этом пороговой величиной высокой степени опасности считается максимальная суточная температура выше 29°С. Следует отметить, что за время наблюдения в большинстве исследований дни со средней и максимальной суточной температурой выше пороговых значений, как правило, совпадали, таким образом, максимальная суточная температура является удобным прогнозируемым критерием, позволяющим идентифицировать волну жары и прогнозировать как проведение исследований, так и профилактические мероприятия у лиц в группах высокого риска. В настоящем исследовании для идентификации волны жары использовался критерий максимальной суточной температуры.

### **1.3. Патопфизиология окислительного стресса и его роль в патогенезе ИБС**

#### **1.3.1. Механизмы окислительного стресса**

Понятия «активные формы кислорода» (АФК) и «активные формы азота» (АФА) относятся к активным радикалам и нерадикальным производным кислорода и азота [229]. АФК и АФА образуются во всех клетках с аэробным

метаболизмом и играют роль в патогенезе заболеваний, связанных со старением организма [239]. Образование этих активных форм происходит не только в рамках патологических процессов, они также возникают в ходе реакций энергетического обмена, при функционировании иммунной системы, эти формы участвуют в процессах сигналинга [41, 51, 125].

Известно, что обмен кислорода в клетках организма происходит преимущественно в митохондриях (85-90% кислорода, потребляемого клеткой) [79].

Активными формами кислорода являются кислородсодержащие радикалы – супероксидный анион-радикал ( $O_2^*$ ), гидропероксидный радикал ( $HO_2^*$ ) и гидроксил-радикал ( $HO^*$ ), а также пероксид водорода ( $H_2O_2$ ) и гипохлорную кислоту ( $HOCl$ ).

Несмотря на то, что небольшие концентрации АФК присутствуют в клетке в норме и участвуют в передаче сигналов [95], неконтролируемое увеличение концентрации АФК и АФА инициирует свободнорадикальные цепные реакции с вовлечением белков, липидов, полисахаридов и ДНК [28], продукты которых в конечном итоге запускают механизмы апоптоза [233, 250].

Существуют эндогенные и экзогенные источники АФК и АФА. К эндогенным источникам относятся никотинамидадениндинуклеотид фосфат-оксидаза (НАДФ-оксидаза), миелопероксидаза, липооксигеназа и ангиотензин II [238]. НАДФ-оксидаза является основным источником супероксид-аниона ( $O_2^*$ ). Источником электронов в данном случае является НАДФН.

Пероксид водорода не является свободным радикалом, потому что не имеет неспаренных электронов, однако это вещество может образовывать очень высокореактивные гидроксильные радикалы ( $OH\cdot$ ) в результате реакций Фентона и Хабера-Вейса. В нейтрофилах  $H_2O_2$  в присутствии хлорид-ионов и миелопероксидазы превращается в хлорноватистую кислоту, которая повреждает внутриклеточные белки [125]. Из-за небольшого размера и относительно низкой реактивности (по сравнению с другими АФК),  $H_2O_2$  может свободно диффундировать через клеточные мембраны. Гидроксил-радикал ( $OH\cdot$ ) имеет

очень короткий период полувыведения и реагирует с любой молекулой в непосредственной близости [165], в то время как  $\text{H}_2\text{O}_2$  способен проявлять токсические эффекты на определенном удалении от непосредственного источника АФК.  $\text{H}_2\text{O}_2$  способен индуцировать обратимые ковалентные модификации цистеиновых (Cys) тиоловых остатков в активных и аллостерических сайтах белков, что приводит к нарушению их функции [78]. Любой белок, содержащий депротонированный остаток Cys, может окисляться  $\text{H}_2\text{O}_2$  [278]. Тиолы белка могут подвергаться дальнейшему двухэлектронному окислению  $\text{H}_2\text{O}_2$  с образованием сульфеновой ( $\text{R-SO}_2\text{H}$ ) или сульфоновой кислоты ( $\text{R-SO}_3\text{H}$ ).  $\text{H}_2\text{O}_2$  окисляет, в частности, фосфатазы, факторы транскрипции, белки ионных каналов, антиоксидантные и метаболические ферменты, структурные белки и протеинкиназы [270].

Оксид азота (NO) образуется из L-аргинина под действием одной из трех изоформ NO-синтазы: эпителиальной NO-синтазы, задействованной в процессах регуляции сосудистого тонуса, нейрональной NO-синтазы, связанной с внутриклеточным сигналингом, и индуцируемой NO-синтазы, активирующейся при воздействии различных эндотоксинов и цитокинов [56]. Наконец,  $\text{O}_2$  может реагировать с NO, образуя еще одну относительно реактивную молекулу, пероксинитрит ( $\text{ONOO}^-$ ) [125, 238]. Пероксинитрит является крайне токсичной молекулой с большим количеством мишеней и широким спектром механизмов патологического воздействия на клетку, это вещество модифицирует белки нитритными остатками тирозина с образованием дитирозина, триптофана и цистеина [159]. Основными мишенями пероксинитрита в митохондриях являются комплексы I, II, IV и V дыхательной цепи, аконитазы, креатинкиназы, супероксиддисмутазы, митохондриальные мембраны и митохондриальная ДНК (мтДНК).

Образование NO в митохондриях имеет важные последствия, поскольку это соединение связывается с гемом цитохрома (в частности, цитохромоксидазы) и ингибирует дыхание, что, в свою очередь, способствует продукции супероксид-аниона [197].

В качестве экзогенных источников АФК и АФА выступают вещества, загрязняющие воздух и воду, табак, алкоголь, тяжелые или переходные металлы, некоторые лекарственные средства (например циклоспорин, такролимус, гентамицин), промышленные растворители, вещества, образующиеся при нагревании (копчении и жарке) животного жира, а также радиоактивное излучение [48, 214].

Экзогенные и эндогенные АФК и АФА окисляют основные внутриклеточные макромолекулы (углеводы, липиды, белки и ДНК) [238], которые могут быть использованы в качестве маркеров окислительного стресса.

Липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) являются основными переносчиками холестерина в организме. Окисление ЛПНП представляет собой сложный процесс, при котором и белковый, и липидный компоненты подвергаются окислительным изменениям, происходит накопление холестерина [25, 209] и вторичных продуктов окисления липидов, таких, как 4-гидрокси-транс-2-ноненаль, малоновый диальдегид (МДА) и изопростаны [85].

Таким образом, малоновый диальдегид и окисленно модифицированные ЛПНП (преимущественно МДА-модифицированные ЛПНП), будучи продуктами свободнорадикального окисления, могут быть использованы как надежные маркеры окислительного стресса при исследованиях.

### **1.3.2. Механизмы антиоксидантной защиты**

Важнейшим механизмом обеспечения защиты биологических систем от токсического воздействия свободных радикалов является функционирование антиоксидантной системы организма. Антиоксиданты, как и свободные радикалы, подразделяются на эндогенные и экзогенные, в свою очередь эндогенные антиоксиданты могут быть ферментативными и неферментативными.

К основным антиоксидантным ферментам относятся супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатионпероксидаза и глутатион-S-трансфераза [9].

СОД, представленная в клетках двумя основными изоформами (Cu,Zn-содержащей СОД растворимой фракции клеток и Mn-содержащей

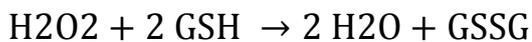
митохондриальной СОД) осуществляет восстановление супероксид-аниона до пероксида водорода,



затем каталаза разлагает образующийся пероксид водорода на кислород и воду:



Глутатионпероксидаза катализирует реакцию восстановления глутатионом гидропероксидов полиненасыщенных жирных кислот, а также подобно каталазе, способна утилизировать пероксид водорода:



где GSH – восстановленный глутатион, GSSG – окисленный глутатион [32].

К другим антиоксидантным ферментам относятся глутатион-S-трансфераза и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа [203].

К неферментативным антиоксидантам относятся молекулы, которые взаимодействуют с АФК и АФА и прерывают свободнорадикальную цепную реакцию: билирубин,  $\alpha$ -токоферол (витамин E) и  $\beta$ -каротин, а также альбумин и мочевая кислота, обеспечивающие 85% антиоксидантной емкости плазмы [4, 14, 279].

В число экзогенных антиоксидантов входят аскорбиновая кислота (витамин C), которая связывает гидроксильные радикалы и супероксид-анионы,  $\alpha$ -токоферол (витамин E) и фенольные антиоксиданты (ресвератрол, фенольные кислоты и флавоноиды), лецитин, селен, цинк и некоторые лекарства, в частности, ацетилцистеин [47, 216]. Окислительный стресс развивается, когда возникает дисбаланс между образованием и утилизацией АФК и АФА на фоне их гиперпродукции и/или нарушения процессов нейтрализации оксидантов [238].

Таким образом, изменение активности антиоксидантных ферментов, наряду с изменением уровня продуктов свободнорадикального окисления, является надежным маркером развития окислительного стресса, и кроме того позволяет судить об активности антиоксидантной защиты организма.

### 1.3.3. Окислительный стресс в генезе ишемической болезни сердца

Ишемическая болезнь сердца является полиэтиологичным заболеванием, в основе которого лежат генетические, экологические и эпигенетические факторы [38, 61, 68, 91, 124, 126, 204, 225, 234, 267]. Накопление окисленно-модифицированных ЛПНП является одним из важнейших факторов развития и прогрессирования атеросклероза [211]. В ряде работ на кроликах и минипигах было показано, что активность СОД и глутатионпероксидазы в цитозоле печени этих животных с алиментарной гиперхолестеринемией резко снижалась, а содержание липопероксидов в печеночных микросомах этих животных резко возрастало. Параллельно наблюдалось выраженное снижение активности микросомальной холестерин-7 $\alpha$ -гидроксилазы, ключевого фермента катаболизма холестерина. В той же серии экспериментов на кроликах оксистеролы продемонстрировали гораздо большую атерогенную активность, чем неокисленный холестерин. [75].

Известно, что накопление липогидроксипероксидов и продуктов их восстановления глутатионпероксидазой повышает текучесть клеточных мембран. Таким образом, процесс перекисного окисления липидов в мембранных фосфолипидах является механизмом, снижающим жесткость мембран [19, 24].

В рамках специальной исследовательской программы по изучению атеросклероза, которая проводилась в СССР в 1979-1982 гг., было проведено уникальное исследование, в котором проводилось изучение ткани жировых пятен и липофиброзных бляшек аутопсийного материала аорты пациентов с ИБС, причем изоляция материалов проводилась через 1-3 часа после смерти пациента. 20 аутопсийных образцов было проанализировано с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. В результате было выяснено, что содержание липопероксидов (преимущественно 13-гидропероксилинолеата) было существенно выше в ткани липофиброзных бляшек, чем в неповрежденной интиме и меди сосудов [19, 251]. Более того, исследование тех же образцов выявило значительное снижение активности СОД и глутатионпероксидазы в липидных пятнах и фиброзированных атеросклеротических бляшках по

сравнению с неповрежденными участками аорты [19, 111].

Исследование крови больных атеросклерозом в ходе эпидемиологического мониторинга населения Москвы выявило значительное увеличение концентрации первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов с одновременным снижением активности глутатионпероксидазы [75].

В работе Т.Е. Brinkley et al. (2009) была продемонстрирована тесная связь между концентрацией окисленных ЛПНП и эластичностью артериальной стенки, независимая от других традиционных факторов риска ССЗ [218]. В литературе описано увеличение концентрации окисленных ЛПНП с возрастом [33, 173].

В ходе популяционного 9-летнего исследования InCHIANTI была продемонстрирована взаимосвязь между повышенными концентрациями окисленных ЛПНП и смертностью от ССЗ [90, 177]. Повышение концентрации окисленных ЛПНП может значительно усиливать атерогенность их молекул в связи с усилением проокислительного и провоспалительного окружения клеток [1, 211]. В ряде исследований была продемонстрирована связь усиленной продукции свободных радикалов и вероятности развития ИБС [180, 269].

Интенсификация перекисного окисления липидов повышает уровень МДА, образующегося в результате окислительной деструкции липогидропероксидов, в плазме крови. При этом выявлено, что частицы ЛПНП, модифицированные МДА, захватываются культивируемыми макрофагами человека более эффективно, чем нативные ЛПНП. Степень окисления ЛПНП и соответствующее соотношение между первичными и вторичными продуктами свободнорадикального окисления в частицах ЛПНП может определять их различия в биологических эффектах, включая эффективность поглощения макрофагами, способность провоцировать апоптоз этих клеток, экспрессию молекул адгезии на эндотелиальных клетках и т.д. [19, 141, 155 187].

Было показано, что устойчивость структур кардиомиоцитов к воздействию свободных радикалов снижается по мере снижения концентрации антиоксидантных ферментов (например, ГП и СОД) [223]. Было обнаружено, что гипергомоцистеинемия, которая является фактором риска ИБС, активирует

свободнорадикальное окисление липидов [11, 87]. Было показано, что избыточное накопление гомоцистеина внутри клетки может быть причиной повреждения ДНК и развития нарушений внутриклеточных обменных процессов. К.С. Cheng et al. (1992) продемонстрировали связь как легкой, так и тяжелой гипергомоцистеинемии с повреждением тиминового и гуанинового остатков ДНК, соответственно [52]. Предполагают, что вероятный механизм гомоцистеин-провоцируемого окислительного стресса может быть обусловлен аутоокислением гомоцистеина с образованием  $H_2O_2$ , супероксидных и гидроксильных радикалов [144]. Другой возможный механизм заключается в том, что гомоцистеин повышает активность и экспрессию НАДФН-оксидазы, которая индуцирует образование супероксид-радикала [162].

Установлено, что окислительный стресс способствует развитию эндотелиальной дисфункции [50, 93, 184]. С увеличением возраста увеличивается экспрессия эндотелина-1, наиболее эффективного вазоконстриктора, производимого сосудистым эндотелием, что в свою очередь обратно коррелирует с эндотелий-зависимой вазодилатацией [192, 276]. Эндотелиальная дисфункция и сосудистое ремоделирование выступают в качестве ранних факторов, определяющих развитие артериальной гипертензии и атеросклероза [5, 246].

К настоящему времени продемонстрирована взаимосвязь различных генетических полиморфизмов и окислительного стресса и имеется ряд работ, посвящённых роли этих полиморфизмов в развитии ИБС.

Так, установлено, что полиморфизм С1561Т гена глутаматкарбоксипептидазы II (GCP II) и полиморфизм А66G гена метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) усиливают продукцию свободных радикалов. При полиморфизме С1420Т гена цитозольной серингидроксиметилтрансферазы (сSHMT) и полиморфизме короткого tandemного повтора 2R3R гена TYMS наблюдается сдвиг биохимических процессов в сторону реметилирования, что снижает выраженность окислительного стресса, в то время как нарушения реметилирования усиливают окислительный стресс [156]. В той же работе продемонстрировано, что полиморфизм С1561Т гена GCP II коррелирует с

наличием гипергомоцистеинемии, что является доказанным фактором риска развития ИБС, тогда как полиморфизм С1420Т гена сSHMT и полиморфизм короткого tandemного повтора 2R3R гена TYMS, напротив, выявляется у лиц с низким риском ИБС [156].

Ген GSTP1 относится к генам суперсемейства глутатион-S-трансфераз, т.е. генам систем антиоксидантной защиты. В исследовании S.V. Lakshmi et al. (2013) при изучении эндотелиальных клеток аорты пациентов с ИБС *in vitro* было выявлено снижение экспрессии генов внеклеточной СОД и GSTP1 [205].

Полиморфизм 105 (A>G) гена GSTP1 по данным Т. Ramprasath et al. (2011) связан с риском развития ИБС [222], однако в похожем исследовании Н. Nomani et al. (2011) данная связь не наблюдалась [258].

Также была установлена связь между маркерами окислительного стресса и сниженной экспрессией генов внеклеточной СОД и GSTP1. Показано, что увеличение концентрации фолатов и сдвиг равновесия в сторону реметилирования при полиморфизме короткого tandemного повтора 2R3R гена TYMS увеличивает экспрессию гена внеклеточной СОД. Этот механизм – механизм усиления окислительного стресса при сниженной экспрессии генов внеклеточной СОД и GSTP1 – показан у курильщиков [65, 71].

В другом исследовании было установлено, что полиморфизм С1561Т гена GСРII ухудшает абсорбцию фолата в кишечнике [212]. При этом показано, что полиморфизм С1420Т гена сSHMT поддерживает гомеостаз фолатов в организме [71]. Было обнаружено, что истощение запасов фолатов вызывает окислительный стресс и влияет на функцию антиоксидантной системы [71, 220].

В исследовании S. Majumdar et al. (2009), проведенном на крысах, было показано, что добавление фолатов и витамина В<sub>12</sub> эффективно снижало выраженность окислительного стресса, вызванного введением крысам мышьяка, путем активизации антиоксидантной защитной системы [120].

BNIP3 представляет собой проапоптотический белок, который активируется индуцируемым гипоксией фактором-1 (HIF1 $\alpha$ ) в условиях гипоксии или ишемии [89, 188] и, как было показано, имеет положительную корреляцию с образованием

конечных продуктов усиленного гликозилирования и активных форм кислорода [104]. Это согласуется с исследованием D.A. Kubli et al. (2008), в котором BNIP3 был определен как митохондриальный маркер окислительного стресса [77]. По результатам исследования V. Lakshmi et al. (2013) экспрессия гена BNIP3 имела положительную корреляционную связь с концентрацией гомоцистеина в плазме крови и сниженной экспрессией внеклеточной СОД и GSTP1 [205].

Эти исследования указывают на связь между метаболизмом фолатов, экспрессией генов ферментов антиоксидантной защитной системы и факторами развития и прогрессирования ИБС.

#### **1.4. Механизмы взаимосвязи гипертермии и окислительного стресса**

##### **1.4.1. Тепловой стресс и продукция активных форм кислорода**

В настоящее время общепризнанно, что тепловой стресс сопровождается гиперпродукцией АФК в организме, приводя к увеличению концентрации супероксидного анион-радикала в митохондриях [96, 190].

Синтез супероксидного анион-радикала также тесно связан с одновалентным восстановлением кислорода митохондриальными семихинонами. Увеличение концентрации семихинонов было обнаружено в крови портальной вены крысы на фоне гипертермии [148, 240].

Было показано, что в клетке *Escherichia coli* реакция аутоокисления флавиноадениндинуклеотида из НАДН является основным источником супероксидного анион-радикала, при этом его концентрация увеличивается у мутантных убихинон-дефицитных форм *E. coli* по мере увеличения температуры [10, 105].

Тепловой стресс приводит к снижению концентрации мРНК СОД, цитоплазматической концентрации СОД и, соответственно, снижению активности фермента, что приводит к увеличению продукции СОД [30, 31].

Показано, что тепловой стресс сопровождается увеличением концентрации  $H_2O_2$  и образованием гидроксильных радикалов [163], при этом увеличение продукции гидроксильного радикала соотносится с увеличением продукции

супероксидного анион-радикала [118, 273].

Установлено, что выраженная гипертермия приводит к увеличению уровня NO-синтазы с соответствующим возрастанием продукции NO [102].

Было показано, что при тепловом воздействии отношение НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН увеличивается без участия субъединиц НАДФН и без изменения экспрессии мРНК НАДФН-оксидазы 1 (NOX1). В настоящее время имеются сведения о том, что NOX1 необходима для индуцированного тепловым воздействием синтеза АФК. NOX1-опосредованный синтез АФК приводит к активации индуцируемого гипертермией фактора-1 (HIF-1) [195, 237]. Блокирование активности NOX1 приводит к подавлению продукции АФК [200].

#### **1.4.2. Тепловой стресс и система антиоксидантной защиты**

В целом, имеющиеся на сегодняшний день данные указывают на то, что супероксидные свободные радикалы или продукты перекисного окисления являются причиной большинства цитотоксических эффектов при гипертермии. Изменение активности антиоксидантных ферментов влечет за собой изменения тепловой чувствительности клетки. В ряде исследований было показано, что обработка клеток каталазой обеспечивает частичную защиту от индуцированного нагреванием апоптоза, тогда как обработка СОД не оказывает значимого эффекта [217].

Установлено, что тепловой стресс снижает или подавляет экспрессию и активность СОД [66], что объясняется термической и/или оксидативной инактивацией фермента [189]. В нескольких исследованиях было показано, что тепловой стресс приводит к резкому снижению уровня глутатиона (GSH), в свою очередь истощение GSH ассоциировано с увеличением продукции АФК [135] и повышенной чувствительностью клетки к гипертермии [81], что рассматривается как один из ранних этапов индуцированного тепловым воздействием апоптоза [64].

Показано, что тепловой стресс снижает активность каталазы у растений [17].

Тепловой стресс нарушает функцию и структуру комплекса I дыхательной цепи. Показано, что нарушение функции этого комплекса индуцирует активность СОД [236], соответственно нарушение функции комплекса I не сопровождается увеличением синтеза СОД. Однако одного этого фермента может быть недостаточно для эффективного контроля оксидативного повреждения. Для эффективной детоксикации  $H_2O_2$  СОД должна действовать сочетанно с глутатионпероксидазой (GSPx) и/или GSH, в противном случае образуются значительные количества высокоактивного  $OH\cdot$  [253].

### **1.4.3. Влияние гипертермии на дыхательную цепь и перекисное окисление липидов**

Известно, что энергетическая активность митохондрий изменяется при тепловом шоке вследствие чувствительности дыхательной цепи к высоким температурам [103].

Показано, что тепловой стресс ингибирует синтез АТФ митохондриями и нарушает функцию дыхательной цепи. Известно, что АФК окисляют тиолы в структуре комплексов I, II, IV и V [109, 248] и карбонилаты нескольких гликолитических ферментов [226]. В результате дыхательная цепь сокращается, поглощение кислорода снижается, а постоянная концентрация супероксидного анион-радикала увеличивается [194, 259]. Снижение транспорта электронов по дыхательной цепи приводит к снижению активности дыхания и, следовательно, к снижению синтеза АТФ [219].

Активный синтез АФК в митохондриях во время теплового стресса приводит к изменениям структуры липидов, белков и нуклеиновых кислот с нарушением их функции. Компоненты мембраны митохондрий восприимчивы к окислительному повреждению АФК. Как было отмечено выше, основным продуктом перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот является малоновый диальдегид (МДА). Воздействие теплового стресса приводит к повышению концентрации МДА в митохондриях и в плазме крови [190].

Перекисное окисление липидов митохондриальной мембраны является еще

одним источником свободных радикалов, так как данный процесс проходит по типу цепной реакции. Процесс перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) митохондриальной мембраны имеет 3 этапа: инициация, распространение и завершение [127].

Инициация происходит, когда к АФК (чаще всего – к гидроксильным радикалам) переходит атом водорода [62, 191]. АФК может отнимать атом водорода у ПНЖК либо в концевом положении с образованием пероксильного радикала ( $\text{LOO}\cdot$ ), либо у одного из промежуточных атомов углерода цепочки жирной кислоты [122]. В последнем случае ПНЖК подвергается либо реакции циклизации, либо катализируемой металлом реакции с образованием реактивных алкоксильных радикалов. После циклизации кислота может образовывать гидропероксид или подвергаться повторной циклизации, с образованием альдегидов, в том числе МДА. Последний, в свою очередь, может вступать в реакцию с основаниями ДНК, вызывая мутации [44, 67 230, 231].

#### **1.4.4. Влияние гипертермии на окисление белков**

В ряде исследований показано, что тепловой стресс вызывает денатурацию митохондриального белка в присутствии высоких концентраций АФК. При этом происходит повреждение субъединицы комплекса пируват-декарбоксилазы, субъединицы АТФ-синтазы и ферментов цикла трикарбоновых кислот [191]. При гипертермии окисляется значительное количество митохондриальных белков. Всего на фоне теплового стресса зарегистрировано повреждение 82 белков с молекулярной массой от 24 до 108 кДа [140, 190, 243].

Высокая концентрация АФК на фоне теплового стресса может повредить и/или ингибировать белки посредством нескольких механизмов. Так, нарушение функции белка может происходить при прямом окислении аминокислотных остатков. Окисленные остатки цистеина образуют при этом дисульфидные мостики, при окислении остатков метионина образуется сульфоксид, а окисление остатков аргинина, лизина, пролина, гистидина, серина и треонина приводит к образованию карбонильных групп в боковых цепях [201, 213, 281].

На ферменты также могут воздействовать активные формы азота, которые образуются в результате взаимодействия NO с СОД [123, 161]. Кроме того, окисление может вызывать разрыв белковой цепи [74, 185]. Также может происходить прямое взаимодействие АФК с кофакторами, в частности, с железосерным кластером аконитазы дыхательной цепи [139].

Окислительная деградация белка усиливается в присутствии ионов металлов, способных к рециркуляции окислительно-восстановительного потенциала, в частности Fe. Существует множество форм окислительного повреждения белков, индуцированного повышением температуры: окисление боковых цепей аминокислотных остатков, образование белково-белковых перекрестной связей и окисление основной цепи белка с нарушением его первичной структуры [72, 215]. Хотя все аминокислоты могут быть окислены АФК, некоторые боковые цепи, содержащие лизин, аргинин, гистидин, пролин и треонин, являются особенно восприимчивыми к окислению [122]. Поскольку окисление белка приводит к образованию карбонильных групп, которые легко обнаруживаются, уровень белковых карбонилов используется в качестве количественного маркера окисления белков и выраженности окислительного стресса [74].

Окисление белка может быть обратимым или необратимым. Обратимое окисление сульфгидрильной группы приводит к образованию внутримолекулярных или межмолекулярных поперечных связей и глутатионилированию [249]. Необратимое окисление белка включает нитрозилирование сульфгидрильных групп цистеина, тирозина, метионина и триптофана под действием ONOO<sup>-</sup>. Нитрирование остатков тирозина препятствует его фосфорилированию или аденилированию, которые являются важными регуляторами функции белка [153]. Окислительный стресс может приводить к образованию поперечных сульфидных мостиков или вторичным окислительным изменениям белка: образование аддуктов окисленных белков и продуктов перекисного окисления липидов или гликирования. В результате может наблюдаться агрегация высокомолекулярных белковых комплексов,

которые могут ингибировать протеасомы 26S и 20S, что приводит к накоплению поврежденных белков и гибели клеток [196, 221].

#### 1.4.5. Роль гипертермии в индукции апоптоза

Известно, что митохондрии играют ключевую роль в активации механизмов апоптоза [129]. Имеются данные о том, что гипертермия индуцирует апоптоз именно через митохондриальный путь [88, 193]. При изменении проницаемости наружной мембраны митохондрий для цитохрома с на фоне теплового стресса активируются два основных механизма [129]. В основе первого лежит изменение размеров пор наружной мембраны митохондрий, в частности, олигомерных пор Вах/Вак [73, 119] и Вах(Вак)/зависимых анионных каналов (VDAC), которые регулируются анти- и проапоптотическими белками семейства Bcl2, которые непосредственно контролируют проницаемость мембраны для цитохрома с [277]. Гипертермия индуцирует апоптоз через митохондриальную транслокацию пор Вах/Вак и выделение цитохрома с в цитозоль [232, 282].

Второй механизм – неспецифический разрыв наружной мембраны митохондрий за счет открытия поры, вызывающей переход мембраны митохондрий в состояние высокой проницаемости (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) вследствие кальциевой перегрузки митохондрий [266, 274].  $Ca^{2+}$  в основном попадает в митохондриальный матрикс через митохондриальный кальциевый унипорт, расположенный во внутренней мембране митохондрий при наличии соответствующего градиента [70, 92]. Гипертермия вызывает митохондриальную перегрузку  $Ca^{2+}$  и индуцирует синтез АФК, которые являются ключевыми индукторами открытия РТР, что приводит к разбуханию матрикса и разрыву наружной мембраны митохондрий [132, 164, 179]. Повышение проницаемости мембран митохондрий приводит к высвобождению апоптотических факторов (в т.ч. цитохрома с) из митохондрий в цитозоль [166]. После высвобождения цитохром с связывается с активирующим фактором апоптотической протеазы 1 (Araf-1) и образует апоптосомы Araf-1/procas-pase-9, активируя протеолитические ферменты – иницирующую каспазу-9, которая, в

свою очередь, активирует нисходящие эффекторы (каспазу-3 и -7), реализуя процессы апоптоза и некроза [101, 158].

Как видно из анализа литературы, работы, посвященные развитию окислительного стресса при гипертермии, являются экспериментальными и выполненными *in vitro*. В доступных источниках имеются единичные работы, посвященные изучению окислительного стресса при гипертермии в живых объектах – лабораторных животных, а также у человека.

В основном, это работы в области вреда теплового стресса для сельскохозяйственных животных [100, 150] и экспериментальные работы на лабораторных животных [54].

У человека изучение провокации окислительного стресса при гипертермии описано в небольшом исследовании у рабочих горячих цехов, у которых было выявлено повышение уровня МДА [260]. Также есть работы по гипертермии физического напряжения [97, 263]. В исследовании O. Laitano et al. (2010) при естественной гипертермии физического напряжения и тепловом воздействии у здоровых людей было обнаружено повышение степени окисления глутатиона в крови [242]. В обзоре I. DiMauro et al. (2016), подробно рассматривается роль белков теплового шока и АФК в адаптации скелетной мускулатуры к физической нагрузке.

Однако, работ, посвященных роли гипертермии (как естественной, так и искусственной) и окислительного стресса у людей с ССЗ, в частности с ИБС и атеросклерозом, на момент начала работы в доступных источниках не найдено.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

### 2.1. Общая характеристика участников

#### 2.1.1. Характеристика участников экспериментальной части исследования

В экспериментальное исследование на базе медико-технического комплекса Института медико-биологических проблем РАН (МТК ИМБП РАН) было включено 6 здоровых добровольцев мужского пола в возрасте 22-46 лет. Размер выборки обусловлен вместимостью жилого модуля установки искусственной изоляции («МАРС 500»), с помощью которого выполнялось исследование.

##### **Критериями включения являлись:**

- отсутствие отклонений в состоянии здоровья по данным комплексного медицинского обследования
- добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

##### **Критериями исключения были:**

- любое диагностированное непосредственно перед исследованием или в ходе эксперимента острое заболевание;
- любое установленное хроническое заболевание;
- АД  $\geq$ 140/90 мм рт. ст.;
- ишемическая болезнь сердца;
- хроническая сердечная недостаточность;
- пороки сердца любой этиологии, нарушения ритма и проводимости сердца;
- нарушение мозгового кровообращения или транзиторная ишемическая атака в анамнезе;
- нарушение функции почек (креатинин  $>$ 120 мкмоль/л);
- нарушение функции печени (АСТ/АЛТ  $>$  40 ед/л, билирубин общ.  $>$ 20 мкмоль/л)
- хронические заболевания легких;

- отказ участника подписать информированное согласие на включение в исследование

### **2.1.2. Характеристика участников клинической части исследования**

В клиническое исследование на базе стационара НМИЦК им. Е.И.Чазова МЗ РФ было включено 30 мужчин в возрасте 20-65 лет ( $52 \pm 13$  лет) со стабильной стенокардией, у которых при проведении коронароангиографии (КАГ) было выявлено значимое стенозирование как минимум одной магистральной коронарной артерии (степень сужения от 70%) [37]. Первичный скрининг включал 137 пациентов.

#### **Критерии включения в исследование:**

- наличие болевого синдрома в грудной клетке;
- документированное при КАГ гемодинамически значимое (более 70%) атеросклеротическое поражение, по крайней мере, одной крупной коронарной артерии;
- информированное согласие пациента на включение в исследование.

#### **Критерии исключения из исследования:**

- хирургические (в т. ч. эндоваскулярные) вмешательства на коронарных артериях в течение предшествующих 6 месяцев;
- очаговое поражение миокарда в течение предшествующих 3 месяцев;
- фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ)  $< 40\%$ ;
- АД  $\geq 140/90$  мм рт. ст.;
- нарушения ритма сердца, требующие постоянной антиаритмической терапии;
- хронические эндокринные заболевания, в том числе сахарный диабет, гипотиреоз, гипертиреоз и др.
- другие заболевания внутренних органов в стадии обострения или в стадии декомпенсации;
- отказ пациента подписать информированное согласие на включение в

исследование.

В контрольную группу данного этапа исследования были включены 10 мужчин в возрасте 27-65 лет ( $48 \pm 7$  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 ЭКГ), у которых при коронарографии описана минимальная неровность контуров коронарного русла либо интактные коронарные артерии, а в брахиоцефальных артериях допускались минимальные проявления атеросклеротического поражения: начальное утолщение и уплотнение стенок сосудов без формирования типичной структуры атеросклеротической бляшки.

### **2.1.3. Клиническое обследование участников исследования**

Всем участникам экспериментальной части исследования на базе МТК ИМБП РАН было проведено обследование в объеме:

- физикальное обследование
- ЭКГ покоя (12 отведений)
- суточное мониторирование АД
- суточное мониторирование ЭКГ (2 суток)
- рентгенография органов грудной полости
- функция внешнего дыхания (ФВД)
- эхокардиография
- тредмил-тест
- ультразвуковая доплерография (УЗДГ) экстракраниального отдела брахиоцефальных артерий
- УЗИ органов брюшной полости, щитовидной железы
- консультации специалистов (невролог, офтальмолог, уролог, психиатр, хирург)
- комплексная лабораторная диагностика, включавшая: общий анализ крови, биохимический анализ крови (АЛТ, АСТ, общий билирубин, электролиты

(K<sup>+</sup>,Na<sup>+</sup>), общий белок, глюкоза, креатинин, мочевая кислота, триглицериды, ОХ, ЛПНП, ЛПВП, С-реактивный белок), коагулограмма, Д-димер.

Всем участникам клинической части исследования на базе стационара ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России было проведено обследование в объеме:

- ЭКГ покоя (12 отведений);
- суточное мониторирование ЭКГ;
- тредмил-тест;
- ультразвуковое дуплексное сканирование (УЗДГ) экстракраниального отдела брахиоцефальных артерий;
- эхокардиография;
- коронарная ангиография (КАГ);
- комплексная лабораторная диагностика, включавшая в себя: общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови (АЛТ, АСТ, общий билирубин, электролиты (K<sup>+</sup>,Na<sup>+</sup>), общий белок, глюкоза, креатинин, мочевая кислота, триглицериды, ОХ, ЛПНП, С-реактивный белок), коагулограмму.

Верификация ишемии миокарда проводилась с использованием стресс-теста на тредмиле с предварительной (за 48 часов) отменой плановой антиангинальной медикаментозной терапии (нитраты, бета-блокаторы, антагонисты кальция). При клинической необходимости стабилизации состояния в течение 24 часов перед тестом пациенты переводились на ситуационный прием короткодействующих бета-блокаторов и антагонистов кальция.

Пробы проводились по стандартному протоколу BRUCE [60]. Критериями завершения стресс-теста являлись: достижение субмаксимальной ЧСС, усталость, появление ангинозных болей, появление выраженной одышки, появление ЭКГ-критериев (горизонтальная или косонисходящая депрессия сегмента ST $\geq$ 1,0 мм и/или подъем сегмента ST $>$ 1,0 мм в 60-80 мс от точки J (в отведениях без патологического зубца Q), косовосходящая депрессия сегмента ST  $\geq$  2,0 мм).

КАГ проводилась в отделениях рентгенохирургических методов

диагностики и лечения ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» МЗ РФ. КАГ проводилась по методике Judkins радиальным доступом. КАГ левой коронарной артерии выполнялась в 4 стандартных проекциях, правой коронарной артерии – в двух проекциях. В качестве контрастного вещества использовались - йопромид («Ультравист 370», Bayer Schering Pharma AG, Германия) либо йоверсол («Оптирей 350», Liebel-Flarsheim Company LLC, США). Контрастирование проводилось на протяжении не менее 3 циклов сердечных сокращений. Запись изображения происходила со стандартной скоростью 15 кадров/сек.

Оценка тяжести атеросклеротического поражения коронарного русла проводилась по шкале SYNTAX (Synergy between percutaneous coronary intervention with Taxus and cardiac surgery) – системе балльной оценки, используемой для распределения пациентов по степени поражения в зависимости от количества и локализации стеноза коронарных артерий с учетом наличия изменений ствола левой коронарной артерии, наличия трехсосудистого поражения, особенностей бифуркационного и трифуркационного поражения, наличия окклюзий и тромбоза коронарных артерий, их извитости, наличия кальциноза стенок коронарных артерий. Оценивались артерии более 1,5 мм в диаметре при их поражении >50%. В соответствии с критериями шкалы SYNTAX пациенты подразделяются на 4 группы: нормальные коронарные артерии (0), незначительное поражение (1–22 балла), поражение средней степени (23–32 балла), тяжелое поражение коронарных артерий (>32 баллов) [9]. В течение всего исследования проводилась регистрация ЭКГ в 6 стандартных отведениях. В клиническую часть исследования включались пациенты с оценкой тяжести коронарного поражения более 22 баллов по шкале SYNTAX.

#### **2.1.4. Методы исследования параметров окислительного стресса**

В экспериментальной части работы 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 определяли

до исследования и на 30-е сутки эксперимента. Одновременно с показателями окислительного стресса в рамках данной работы проводился контроль параметров липидного профиля (ОХ, ЛПНП, ТГ) и контроль основных параметров гемодинамики (ЧСС, АД).

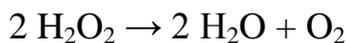
В клинической части работы все параметры окислительного стресса измеряли дважды: весной в период температуры комфорта (дневная температура не выше 20°C) и после прохождения летней волны жары (среднесуточная температура выше 27°C более 2 суток подряд). Одновременно проводился контроль показателей липидного профиля (ОХ, ЛПНП, ТГ) и контроль ЧСС и АД.

Забор венозной крови проводился натощак в вакутейнеры SARSTEDT Monovette с ЭДТА.

### **Определение активности каталазы**

Активность каталазы определяли на спектрофотометре Hitachi-557 (Япония) по изменению содержания пероксида водорода при добавлении лизата эритроцитов [57].

Каталаза катализирует следующую реакцию:



Лизат эритроцитов помещался в инкубационную среду с 30 мМ пероксида водорода в 50 мМ фосфатном буфере (pH= 7,0). Изменение оптической плотности при длине волны поглощения 240 нм регистрировали в течение 3-5 минут.

При расчете активности каталазы коэффициент молярной экстинкции пероксида водорода составлял  $E=43,6 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . За единицу активности фермента принимали количество каталазы, необходимое для утилизации 1 мкмоль пероксида водорода за 1 минуту.

### **Определение активности глутатионпероксидазы**

Определение липопероксидазной активности ГП происходит на основе 2 реакций. На первом этапе ГП катализирует реакцию восстановления перекиси

водорода и гидропероксидов полиненасыщенных жирных кислот (LOOH) глутатионом (GSH) с образованием окси-кислот (LOH). На втором этапе глутатионредуктаза (ГР) катализирует реакцию восстановления образовавшегося в предыдущей реакции окисленного глутатиона (GSSG):



Определение активности ГП проводилось в реакционной среде, с избытком субстратов (восстановленного глутатиона, NADPH, органического гидропероксида и глутатионредуктазы).

Активность ГП определяли по скорости окисления NADPH в сопряженной глутатион-редуктазной системе при 340 нм с гидропероксидом трет-бутила в качестве субстрата на химическом анализаторе FP-900 Labsystems Oy (Финляндия) [21, 210].

Вводилась поправка на неферментативное окисление глутатиона за время реакции при расчете начальной скорости. За единицу активности ГП принимали количество фермента, которое необходимо для окисления 1 мкмоль глутатиона за 1 минуту в данных условиях.

### **Определение активности Cu,Zn-супероксиддисмутазы**

Cu,Zn-СОД – антиоксидатный фермент, утилизирующий супероксидный анион-радикал ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), таким образом предотвращая образование гидроксил-радикала ( $\text{HO}^{\bullet}$ ).

Основой антиоксидантного действия СОД является реакция:

СОД



Для измерения активности Cu-Zn-СОД проводили осаждение гемоглобина в лизате эритроцитов крови с помощью смеси этанол-хлороформ (3:5) [16], после чего в надосадочной части образца определяли активность Cu-Zn-СОД по

ингибированию восстановления синего тетразолия супероксидным радикалом, сгенерированного в системе ксантин-ксантиноксидаза, регистрируя кинетику образования формазана при 560 нм на спектрофотометре Hitachi-557 (Япония). За единицу активности СОД принимали количество антиоксидантного фермента, необходимого для 50% подавления восстановления синего нитротетразолия в данных условиях.

Активность антиоксидантных ферментов выражалась в ед/гНв.

### **Определение содержания МДА**

Определение МДА в плазме крови проводили по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой, анализируя количество образовавшегося триметинового комплекса при 532 нм на спектрофотометре Hitachi 220А (Япония).

Для этого 150 мг тиобарбитуровой кислоты растворяли в 31 мл дистиллированной воды, предварительно нагретой до 60 С (в течение 10-15 минут). В пробирку добавляли 3 мл 1,4% раствора ортофосфорной кислоты, 0,25 мл плазмы крови и 1 мл раствора тиобарбитуровой кислоты. В контрольную пробу вместо 0,25 мл плазмы крови добавляли такое же количество дистиллированной воды. Затем проводили кипячение пробирок на водяной бане в течение 45 минут при температуре +100 °С, после чего пробирки охлаждали в течение 3-5 минут в воде. Затем в пробирки добавляли в них 3 мл n-бутанола, встряхивали до образования однородной белой суспензии с розовым оттенком и центрифугировали пробирки при 1800 g в течение 10 минут.

Измерение оптической плотности исследуемого образца против контрольного проводилось при 2-х длинах волн: 535 и 570 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм, в пробирках с 3 мл супернатанта. Расчет содержания ТБК-реактивных продуктов производили по формуле:

$$C = D_{535} - D_{570} / 0,156 \times 16$$

Где:

$C$  – содержание ТБК- реактивных продуктов в опытной пробе (мкмоль/л)

$D_{535}$  – оптическая плотность опытной пробы при 535 нм;

$D_{570}$  – оптическая плотность опытной пробы при 570 нм;

0,156 – коэффициент молярной экстинкции комплекса малонового диальдегид – ТБК;

16 – коэффициент разведения плазмы крови

### **Определение содержания МДА-ЛПНП**

Уровень МДА-ЛПНП в плазме крови определяли иммунохимическим методом при помощи тест-наборов Mercodia Oxidized LDL ELISA (Швеция) на планшетном спектрофотометре BioTek EL808 (США).

Перечисленные методы определения параметров окислительного стресса в неоднократных ранее проведенных исследованиях показали высокий уровень воспроизводимости и были успешно использованы для проведения исследований в области биохимии свободнорадикальных процессов [12, 29].

### **Определение длины теломерных повторов хромосом**

Относительную длину теломерных повторов хромосом лейкоцитов из периферической крови человека определяли, как описано в литературе [80], с помощью метода количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени, с использованием ДНК-амплификатора АНК-32 (Россия) по следующему протоколу:

- Денатурация ДНК: 15мин при 95<sup>0</sup>С
- Синтез синтетической матрицы теломерного повтора: 2 цикла 15 сек при 94<sup>0</sup>С, 15 сек при 49<sup>0</sup>С.
- Амплификация теломерного повтора и гена альбумина: 50 циклов 15 сек при 94<sup>0</sup>С, 10 сек при 62<sup>0</sup>С, 15 сек при 74<sup>0</sup>С, 10 сек при 84<sup>0</sup>С, 15 сек при 88<sup>0</sup>С

Альбумин служил внутренним контролем, относительно которого определяли длину теломерного повтора. В качестве калибратора использовали

ДНК, выделенную из клеточной линии HeLa. Определение длины теломерных повторов проводилось двукратно - до начала и на 30-е сутки эксперимента.

### **2.1.5. Характеристики условий проведения исследования**

Экспериментальная часть исследования на базе медико-технического комплекса ИМБП РАН проводилась в 2012 г. с использованием герметичной установки искусственной изоляции («МАРС 500») с возможностью длительной симуляции условий атмосферы в соответствии с заданными параметрами (Рисунок 1). В течение 30 дней добровольцы проживали в искусственно созданных климатических условиях, аналогичным имевшим место в июле-августе 2010 г. в Москве в соответствии с данными Росгидромета. Климатические условия поддерживались в специализированных герметичных модулях.

Характеристика модулей:

- жилой модуль: объемом  $150 \text{ м}^3$ , внутри которого расположены 6 индивидуальных кают, кухня-столовая, каюткомпания, главный пульт управления и санузел.

- медицинский модуль: объемом  $100 \text{ м}^3$ , включающий три зоны - лабораторию, процедурную зону и изолятор. Здесь же расположена кухня и санузел.

- технический модуль: объемом  $250 \text{ м}^3$ , включающий в себя хранилище, тренажерный зал, собственную душевую установку и санузел.

Все модули имели переходные герметичные шлюзы для перемещения, позволяющие регулировать климатические условия в соответствии с заданными параметрами в течение длительного времени. Режим активности и отдыха, режим физических нагрузок, состав и режим питания, и другие основные этапы жизни испытуемых внутри модуля были регламентированы в соответствии со специально разработанной программой и строго контролировались. Все перемещения между помещениями были строго регламентированы для предотвращения нарушений установленных параметров обитания. Для взятия крови участников эксперимента переводили в медицинский модуль.

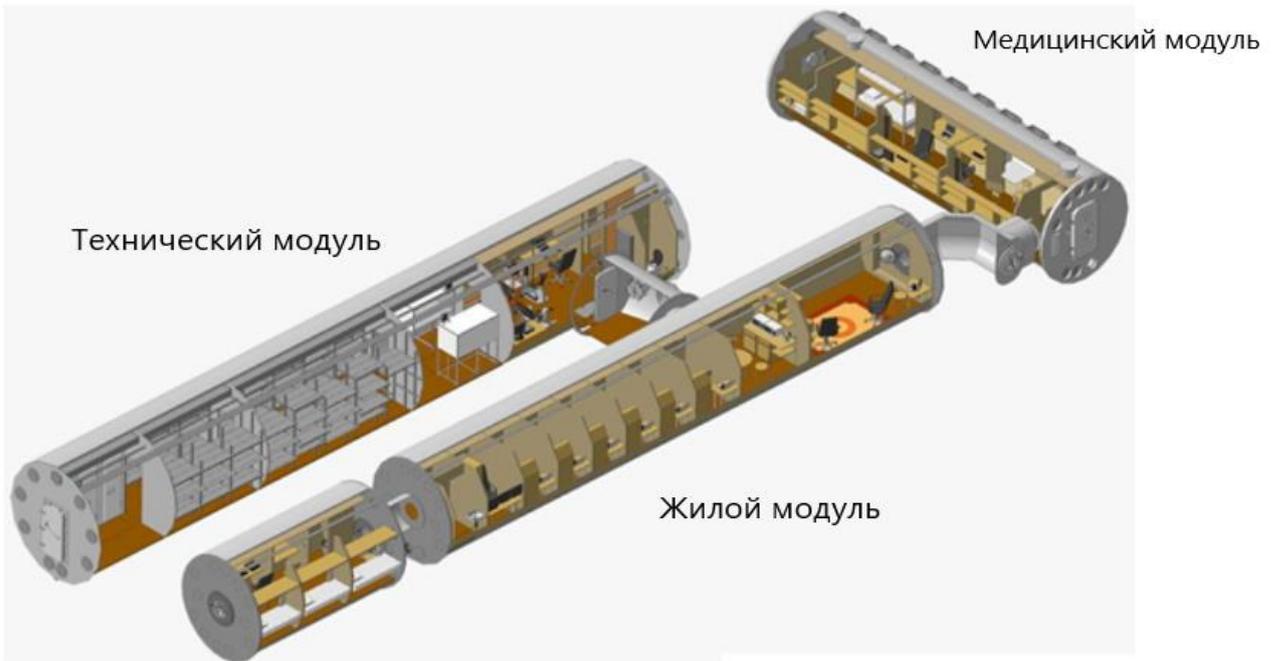


Рисунок 1 – Схема модулей МАРС-500

Параметры климатических условий в модуле представлены на рисунке 2: колебания температуры в дневное время были в пределах 30-38° С при влажности 30%-60%, в ночное время - 23-31°С при влажности 50-75%.

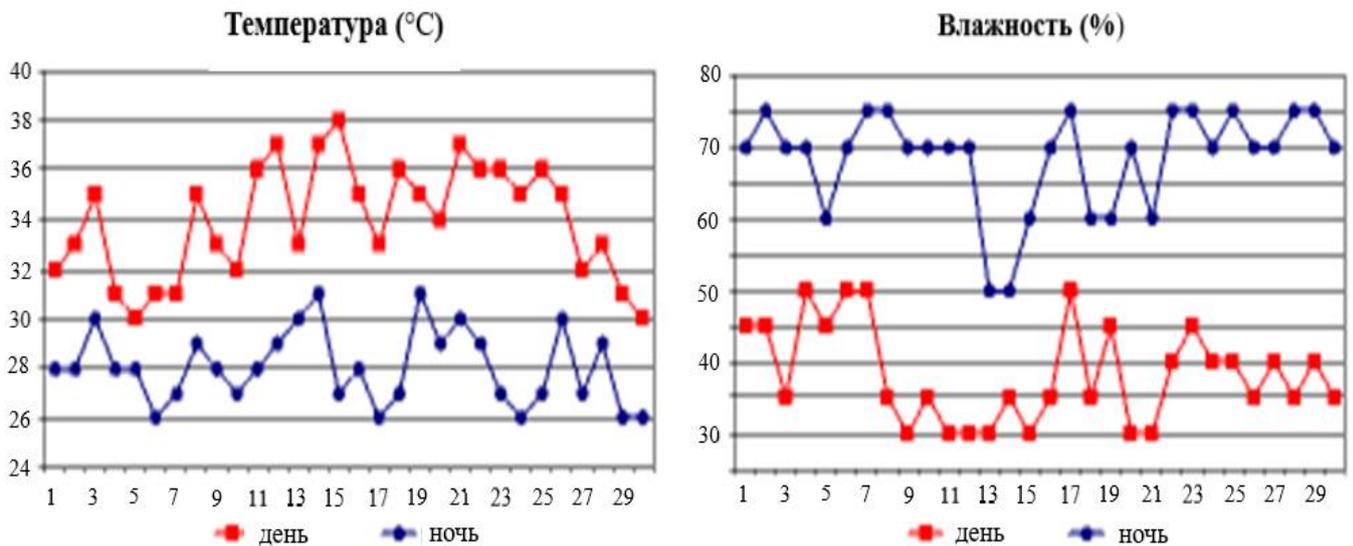


Рисунок 2 – Температурный режим и влажность воздуха в жилом модуле

Клиническая часть исследования проводилась в апреле 2018 г. в период температуры комфорта (дневная температура не превышала 20°С) – первая точка,

и в конце июля - начале августа 2018 г. в период волн летней жары (среднесуточная температура выше 27°C на протяжении более 2 суток подряд) – вторая точка.

### **2.1.6. Статистическая обработка полученных результатов**

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью пакетов программного обеспечения STATISTICA 10 (Statsoft), MedCalc version 12.7.0.0 (MedCalc Software) и Microsoft Excel 2010, версия 14.0.7263.5000. Поскольку распределение признаков во всех случаях отличалось от нормального закона распределения в тестах Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Вилка (Shapiro-Wilk's  $W$  test), то для анализа полученных данных применялись непараметрические методы статистики. Размер выборки клинической части работы обоснован строгими критериями отбора участников исследования в целях сохранения стабильности всех оцениваемых параметров состояния здоровья, определяющих течение стенокардии в условиях волн летней жары, кроме изучаемых показателей окислительного стресса, а также объемом выборки предшествующих исследований по оценке состояния 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 этого распределения, соответственно. Анализ различий количественных показателей при межгрупповых сравнениях выполняли с помощью непараметрического критерия Манн-Уитни (Mann-Whitney  $U$  test). Анализ различий показателей при внутригрупповых сравнениях (при оценке динамики показателей) выполняли с помощью непараметрического критерия Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Различия считались статистически значимыми при полученных значениях  $P < 0,05$ .

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Результаты экспериментальной части исследования.

В экспериментальную часть исследования было включено 6 здоровых мужчин в возрасте 22-46 лет.

Следует отметить, что статистически значимых различий в точках измерения параметров липидного спектра выявлено не было (Таблица 1). Основные гемодинамические параметры оставались стабильны и в пределах нормальных значений в течение всего срока эксперимента.

Таблица 1 – Динамика показателей липидного спектра и степени компенсации АД в плазме крови здоровых людей при моделируемой гипертермии, Me [Q25;Q75]

	Исходно	10 сутки	20 сутки	30 сутки
ОХ, ммоль/л	4,48 [4,32; 4,56]	4,38 [4,27;4,52]	4,52 [4,22;4,6]	4,39 [4,26;4,53]
ЛПНП, ммоль/л	1,39 [1,27;1,47]	1,34 [1,14;1,51]	1,41 [1,22;1,5]	1,36 [1,07;1,48]
ТГ, ммоль/л	1,01 [0,89;1,1]	1,12 [1,02;1,14]	1,23 [0,9;1,3]	1,2 [0,82;1,24]
САД/ДАД, мм рт.ст.	121 [118;126] / 77 [74,5;78]	126 [124;131,5] / 72 [71,5;77,5]	124 [119;128] / 74 [71,5;77]	122 [119;132] / 76 [73,5;80]
ЧСС, уд/мин	73 [66,5;86,1]	78 [62,2;84,8]	77 [60,7;84,3]	67 [63,5;75,1]

#### 3.1.1. Динамика уровня продуктов свободнорадикального окисления

Результаты измерения уровня продуктов свободнорадикального окисления в контрольных точках исследования представлены в Таблице 2. При моделировании гипертермии в течение 30 дней в контролируемых условиях комплекса ИМБП РАН у здоровых добровольцев выявлено прогрессивное

повышение содержания МДА в плазме крови. Уже к 10-м суткам исследования уровень МДА составил 1,88 [1,72;1,88] нмоль/мл, что было достоверно выше исходного уровня (1,36 [1,25;1,54] нмоль/мл), в дальнейшем рост этого показателя продолжился, достигнув 1,94 [1,81;2,07] нмоль/мл к 20-м суткам и 2,15 [2,09;2,36] нмоль/мл к концу эксперимента. Суммарный прирост содержания МДА за время эксперимента составил 61,82% от исходного уровня.

При анализе уровня МДА-ЛПНП в эритроцитах выявлено достоверное снижение этого показателя относительно исходного уровня (55,96 [49,65;61,24] ед/л и 66,95 [62,11;74,76] ед/л соответственно). В дальнейшем было выявлена тенденция к накоплению этого продукта с возвратом к исходному уровню: к 20-м суткам показатель достиг 58,72 [55,20;66,01] ед/л и к концу эксперимента - 62,72 [58,03;79,50] ед/л (достоверного отличия этого показателя от исходного уровня на 20 и 30-е сутки эксперимента не выявлено).

Таблица 2 – Содержание продуктов свободнорадикального окисления в плазме крови здоровых добровольцев при моделируемой гипертермии, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

Параметр	Исходно	10 сутки	20 сутки	30 сутки
МДА, нмоль/мл	1,36 [1,25;1,54]	1,88* [1,72;1,88]	1,94* [1,81;2,07]	2,15* [2,09;2,36]
МДА-ЛПНП, ед/л	66,95 [62,11;74,76]	55,96* [49,65;61,24]	58,72 [55,20;66,01]	62,72 [58,03;79,50]

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

В процентном отношении относительно исходного уровня динамика содержания продуктов свободнорадикального окисления составила: для МДА +36,33% – к 10-м суткам, +40,28% – к 20-м суткам и + 61,82% – к концу эксперимента; для МДА- ЛПНП: -10,16% – к 10-м суткам, -5,52% – к 20-м суткам и +3,03% – к концу эксперимента (Рисунок 3).

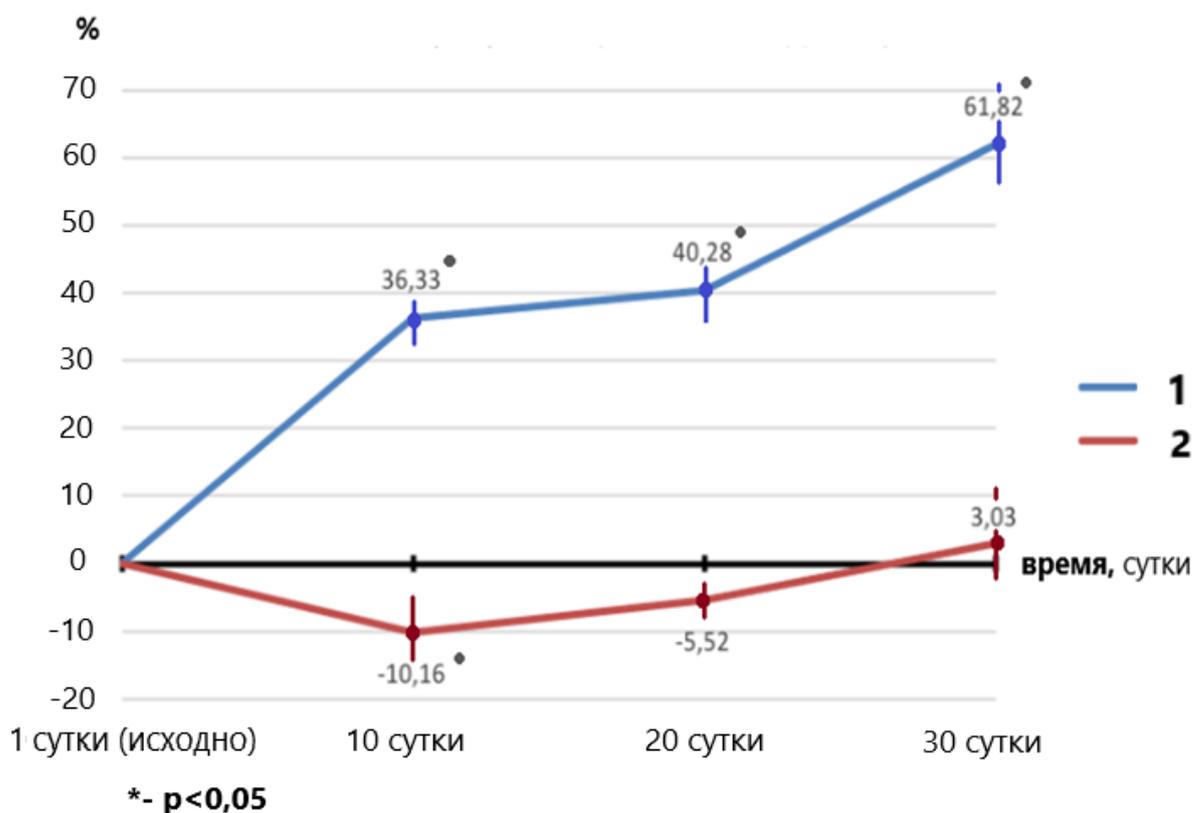


Рисунок 3 – Динамика содержания продуктов свободно-радикального окисления: МДА (1) и МДА-модифицированных ЛПНП (2) в плазме крови здоровых добровольцев в условиях моделируемой гипертермии (в % от исходного)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

### 3.1.2. Динамика активности антиоксидантных ферментов

При анализе активности каталазы в условиях длительной моделируемой гипертермии у здоровых добровольцев выявлено достоверное снижение активности к 10-м суткам эксперимента (397,99 [385,87;406,93] ед/г Нб против 495,43 [467,16;517,89] ед/г Нб исходно), к 20-м суткам активность фермента демонстрировала увеличение до 430,25 [392,50;462,16] ед/г Нб и достигла 458,29 [417,52;461,16] ед/г Нб к 30-м суткам, что тем не менее оставалось достоверно ниже исходного уровня активности этого фермента (Таблица 3).

При анализе активности глутатионпероксидазы было выявлено статистически значимое прогрессивное снижение активности этого фермента к 10-м и 20-м суткам (3,34 [2,84;3,74] и 2,81 [2,68;3,34] ед/г Нб к 10-м и 20-м суткам соответственно против 3,77 [3,57;4,10] ед/г Нб исходно). К концу эксперимента наблюдалось некоторое восстановление активности фермента до 3,14 [2,67;3,58] ед/г Нб, что, тем не менее, оставалось достоверно ниже исходного уровня.

При анализе активности Cu,Zn-СОД было выявлено недостоверное снижение активности фермента к 10-м суткам (до 951,68 [761,84;969,65] ед/г Нб против 951,68 [761,84;969,65] ед/г Нб исходно), затем наблюдался выраженный статистически значимый рост активности фермента до 1259,03 [1096,11;1320,85] ед/г Нб и 1150,73 [1070,11;1202,00] ед/г Нб к 20-м и 30-м суткам соответственно.

Таблица 3 – Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах здоровых людей при моделируемой гипертермии, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

	Исходно	10 сутки	20 сутки	30 сутки
Каталаза, ед/г Нб	495,43 [467,16;517,89]	397,99* [385,87;406,93]	430,25* [392,50;462,16]	458,29* [417,52;461,16]
ГП, ед/г Нб	3,77 [3,57;4,10]	3,34* [2,84;3,74]	2,81* [2,68;3,34]	3,14* [2,67;3,58]
Cu,Zn- СОД, ед/г Нб	967,65 [838,85;1012,98]	951,68 [761,84;969,65]	1259,03* [1096,11;1320,85]	1150,73* [1070,11;1202,00]

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения.

Таким образом, в течение всего срока эксперимента выявлено изменение активности всех трех основных антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы, каталазы и Cu,Zn-СОД. На 10-е сутки исследования отмечалось снижение активности на 5,05%, 13,35% и 19,82% Cu,Zn-СОД, глутатионпероксидазы и каталазы соответственно. К 20-м суткам отмечен

выраженный рост активности Cu,Zn-СОД, причем значительное повышение активности этого фермента сохранялось до конца эксперимента – на 33,26% от исходного к 20-м суткам (максимум активности) на 22,29% от исходного к концу эксперимента (Рисунок 4). Активность каталазы к 20 суткам демонстрировала повышение после первичного снижения и была на 12,85% ниже исходного уровня к 20-м суткам и на 10,47% ниже исходного уровня к концу эксперимента. Активность глутатионпероксидазы после зарегистрированного на 10-е сутки первичного снижения продолжила снижаться и к 20-м суткам была на 21,16% ниже исходной активности, демонстрируя тенденцию к восстановлению активности только к концу эксперимента – до 18,84% ниже исходного уровня.

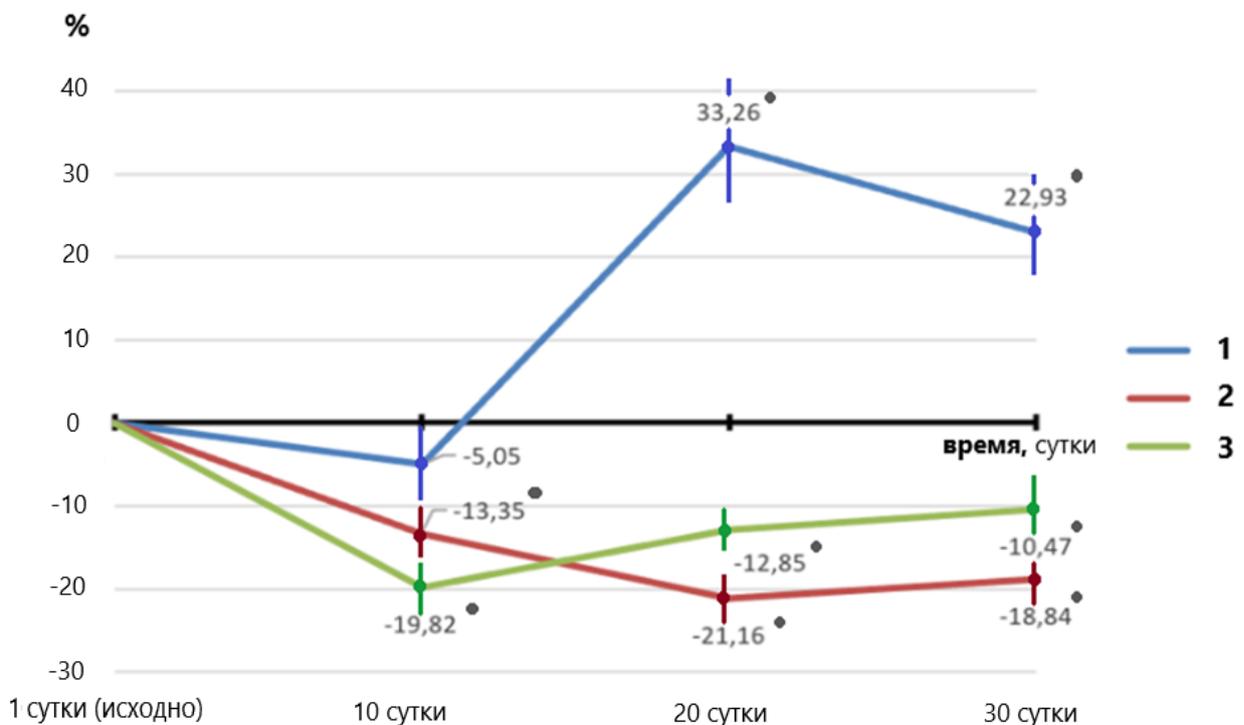


Рисунок 4 – Динамика активности антиоксидантных ферментов: Cu,Zn-СОД (1), ГП (2) и каталазы (3) в эритроцитах здоровых добровольцев при моделируемой гипертермии (в % от исходного)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

### 3.1.3 Изменение относительной длины теломерных повторов хромосом лейкоцитов

(Результаты получены в соавторстве с Ланкиным В.З., Постновым А.Ю., Родненковым О.В., Коноваловой Г.Г., Дорощук Н.А., Тихазе А.К., Дорощук А.Д., Хесуани Ю.Д., Чазовой И.Е.)

В лейкоцитах периферической крови всех участников эксперимента было отмечено значительное укорочение теломерных повторов в лейкоцитах крови (на 16,5%,  $p < 0,02$ ) (Рисунок 5).

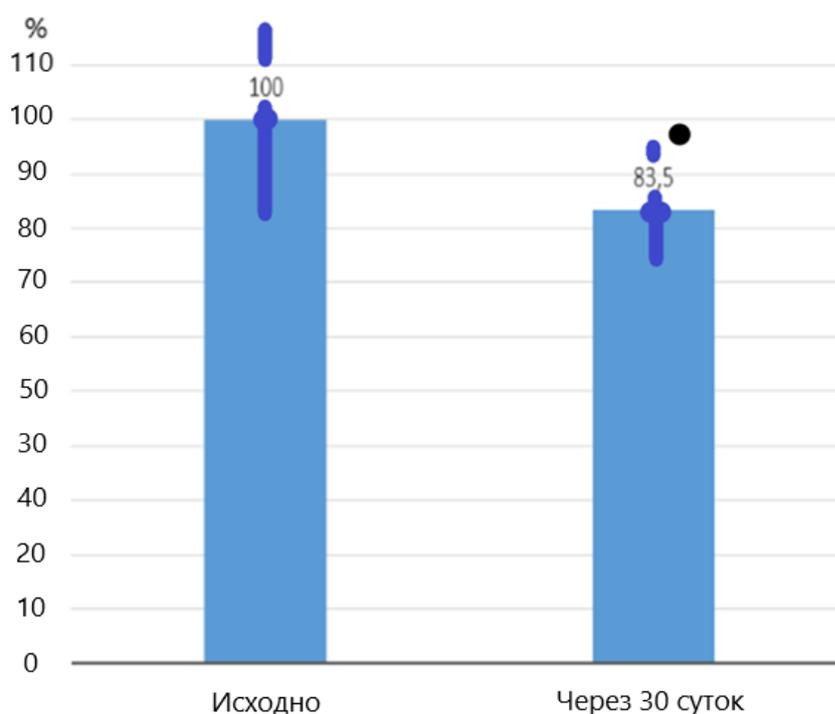


Рисунок 5 – Изменение относительной длины теломеров в лейкоцитах крови здоровых добровольцев при моделируемой гипертермии (в % от исходного)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

Полученные данные свидетельствуют о наличии окислительной деструкции ДНК в условиях теплового стресса, приводящего к уменьшению длины теломерных повторов хромосом лейкоцитов крови.

### 3.2. Результаты клинической части исследования

В основную группу исследования было включено 30 мужчин в возрасте  $52 \pm 13$  лет со стабильной стенокардией напряжения при хронической форме ИБС с подтвержденным при КАГ гемодинамически значимом поражении коронарного русла.

У 22 (73,3%) больных группы с ИБС имелись типичные ангинозные боли, у 8 (26,7%) - боли носили атипичный характер. У 24 (80%) имелась одышка, сопровождаемая дискомфортом в груди при физических нагрузках средней и малой интенсивности. У 9 (30%) пациентов в анамнезе отмечен постинфарктный кардиосклероз, 13 (43,3%) пациентов ранее перенесли ЧКВ.

У 26 (86,7%) пациентов ранее был установлен диагноз гипертонической болезни. У всех пациентов на момент включения в исследование ранее была установлена гиперлипидемия, у всех пациентов были достигнуты целевые уровни ХС ЛПНП на терапии статинами либо статинами+фибратами. Курение отмечалось в анамнезе у 23 (76,7%) пациентов, отягощенный сердечно-сосудистый анамнез, семейный анамнез имелся у 28 (93,3%) пациентов, лица с различными видами нарушений углеводного обмена в исследование не включались. Клиническая характеристика больных представлена в Таблице 4.

Таблица 4 – Клиническая характеристика пациентов основной клинической группы исследования

Характеристика	n=30
Средний возраст пациентов (лет)	$52 \pm 13$
Клинические проявления и анамнез заболевания:	
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%)

Продолжение таблицы 4

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%)
30-35 (ожирение Iст.)	7 (23,3%)
35-40 (ожирение IIст.)	1 (10%)
ИМТ Me[Q25;Q75]	25,4 [23,8; 28,6]
Терапия:	
Бета-блокаторы	30 (100%)
Нитраты	26 (8,7%)
ИАПФ	24 (80%)
Статины	30 (100%)
Статины + фибраты	6 (20%)
Антагонисты Са	18 (60%)
БРА	6 (20%)
Дезагрегантная терапия (АСК/клопидогрел)	30 (100%)

Пациенты с ИБС (n=30) были разделены на две группы по степени выраженности атеросклеротического поражения коронарного русла с учетом выраженности экстракардиального атеросклеротического поражения. Оценка тяжести коронарного поражения для разделения групп проводилась на основе шкалы SYNTAX.

В группу 1 вошло 12 человек (62±4 лет) с клинической картиной стенокардии напряжения II-III ф.к. (по данным нагрузочных тестов) у которых по данным коронарографии имелось гемодинамически значимое поражение не более 2 коронарных артерий, по шкале SYNTAX пациенты этой группы имели более 22,

но не более 32 баллов, степень стенозирования брахиоцефальных артерий у всех пациентов данной группы не превышала 30%.

В группу 2 было включено 18 человек ( $54 \pm 12$  лет) с клинической картиной стенокардии напряжения II-III ф.к. (по данным нагрузочного теста), с типичной стенокардией и тяжелым мультифокальным атеросклеротическим поражением. По шкале SYNTAX все пациенты этой группы имели более 32 баллов, у 12 пациентов этой группы (66,6%) имелось многососудистое поражение коронарных артерий (в т.ч. всех трех магистральных коронарных артерий), у всех пациентов данной группы коронарное поражение сочеталось с выраженным атеросклерозом брахиоцефальных артерий (степень стенозирования более 30%), причем у 7 (38,9%) из них степень стенозирования брахиоцефальных артерий являлась гемодинамически значимой (степень стенозирования более 70%). В целом пациентов группы 2 можно охарактеризовать как клинически значительно более тяжелую в сравнении с группой 1 (Таблица 5).

Таблица 5 – Клиническая характеристика групп пациентов с ИБС и различной тяжестью атеросклеротического поражения

Характеристика	Группа 1 (с умеренной тяжестью коронарного поражения), n=12	Группа 2 (с тяжелым коронарным поражением), n=18
Средний возраст пациентов (лет)	64±4	54±12
Функциональный класс 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 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 были включены 10 мужчин в возрасте  $48 \pm 7$  лет с явлениями атипичных болей в грудной клетке, с сомнительными результатами нагрузочного тестирования и интактными коронарными артериями (8 человек) либо минимальной неровностью контуров коронарных артерий при КАГ (2 человека). Все пациенты данной группы по шкале SYNTAX были отнесены к группе низкого риска (не более 22 баллов). В брахиоцефальных артериях у всех включенных имелись минимальные проявления атеросклеротического поражения: начальное утолщение и уплотнение стенок сосудов без формирования типичной структуры атеросклеротической бляшки. У 4 (40%) имелась артериальная гипертензия с уровнем АД в пределах целевых значений на однокомпонентной терапии, у 6 (60%) в анамнезе отмечалось курение, 8 (80%) имели осложненный семейный анамнез по сердечно-сосудистым заболеваниям. У всех пациентов показатели липидного профиля находились в пределах целевых значений (у 2 (20%) целевые уровни были достигнуты на однокомпонентной терапии статинами). Клиническая характеристика контрольной группы представлена в Таблице 6.

Таблица 6 – Клиническая характеристика пациентов контрольной группы

Характеристика	n=10
Демографические характеристики:	
Средний возраст пациентов (лет)	48±7
Клинические проявления и анамнез заболевания:	
Одышка/атипичные боли/ дискомфорт в груди при нагрузках	6
Постинфарктный кардиосклероз	Нет
ЧКВ в прошлом	Нет
Факторы риска ИБС:	
Артериальная гипертензия	4
Гиперлипидемия	2
Отягощенный семейный анамнез по ССЗ	8
Курение	6
ИМТ	
<25 (норма)	6 (60%)
25-30 (избыточная МТ)	3 (30%)
30-35 (ожирение Iст.)	1 (10%)
35-40 (ожирение IIст.)	Нет
ИМТ Me[Q25;Q75]	23,9 [22,1;28,2]
Терапия:	
- ИАПФ	1
- Статины	2
- БРА	5

К моменту включения в исследование все пациенты достигли целевых значений липидного профиля и были клинически компенсированы, основные показатели гемодинамики (АД и частота сердечных сокращений – ЧСС) находились в пределах целевых значений. В контрольной группе по данным

тредмил-теста ожидаемо была значимо выше переносимость физических нагрузок. Результаты обследования пациентов основной группы исследования и контрольной группы представлены в Таблице 7 и Таблице 8.

Таблица 7 – Результаты обследования основной и контрольной группы

	Основная группа, n=30	Контрольная группа, n=10
Липидный профиль (на момент включения в исследование):		
ОХ, ммоль /л Me[Q25;Q75]	4,74 [4,66; 5,04]	4,12 [3,95; 4,34]
ЛПНП, ммоль/л Me[Q25;Q75]	1,46 [1,3;1,52]	1,73 [1,46;1,82]
ТГ, ммоль/л Me[Q25;Q75]	1,18 [1,02;1,44]	1,23 [1,08;1,37]
Инструментальное обследование:		
Значимые нарушения ритма и проводимости (ЭКГ+ХМ ЭКГ):	Нет	Нет
САД \ ДАД мм рт.ст. Me[Q25;Q75]	130 [122;134] \ 78 [74;80,5]	126 [121,5;138] \ 80 [74;83,5]
ЧСС, уд/мин Me[Q25;Q75]	74 [66,4;78,2]	68 [57,8; 82,2]
ЭхоКГ: ФВ ЛЖ >60% 40-60%	28 (93,3%) 2 (6,7%)	10 (100%) Нет
Тредмил-тест (METS): <3.9 (низкая ТФН) 4.0-6.9 (средняя ТФН) 7.0-9.9 (высокая ТФН) >10 (очень высокая ТФН) METS Me[Q25;Q75]	11 (36,7%) 17 (56,7%) 2 (6,7%) Нет 4,4 [3,525; 5,725]	2 (20%) 3 (30%) 5 (50%) Нет 7,05 [5,575; 7,7]*

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

Таблица 8 – Результаты обследования групп с различной тяжестью коронарного поражения на момент включения в исследование

	Группа 1 (с умеренной тяжестью коронарного поражения), n=12	Группа 2 (с тяжелым коронарным поражением), n=18
Липидный профиль (на момент включения в исследование):		
ОХ, ммоль /л Ме[Q25;Q75]	4,14 [4,09;4,26]	4,8 [4,66;5,04]*
ЛПНП, ммоль /л Ме[Q25;Q75]	1,33 [1,3;1,42]	1,63 [1,36;1,77]*
ТГ, ммоль /л Ме[Q25;Q75]	1,58 [1,47;1,83]	1,56 [1,32;1,87]
Инструментальное обследование:		
ЧСС, уд/мин Ме[Q25;Q75]	66 [62,8;77,9]	74 [66,3;83,4]
САД / ДАД, мм рт.ст. Ме[Q25;Q75]	128 [117,5;132] / 72 [70;84]	110 [108;136] / 76 [70,5;88]
ЭхоКГ: ФВ ЛЖ >60% 40-60%	12 (100%) Нет	16 (88,9%) 2 (11,1%)
Тредмил-тест (METS): <3.9 (низкая ТФН) 4.0-6.9 (средняя ТФН) 7.0-9.9 (высокая ТФН) >10 (очень высокая ТФН) METS Ме[Q25;Q75]	4 (33,3%) 6 (50%) 2 (16,7%) Нет 5,6 [4,325; 5,725]	7 (38,9%) 11 (61,1%) Нет Нет 4,1 [3,525;4,425]*

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

По результатам обследования внутри групп различной тяжести коронарного поражения обращает на себя внимание, что при достижении в целом целевых показателей липидного профиля, показатели в группе 2 (с тяжелым коронарным поражением) были значимо выше, чем в группе 1, также ожидаемо была ниже переносимость физических нагрузок (Таблица 8).

Следует отметить, что за время наблюдения между точкой включения в исследование и точкой наблюдения после прохождения волн жары физикально у пациентов не отмечено клинического ухудшения, показатели липидного профиля оставались стабильны. Клинические показатели групп исследования после прохождения волн жары представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Динамика клинических показателей в группах контроля и различной степени тяжести атеросклеротического коронарного поражения после жары, Me [Q25;Q75]

Группа контроля	ОХ, ммоль/л	4,61 [4,52;4,9]
	ЛПНП, ммоль/л	1,37[1,28;1,61]
	ТГ, ммоль/л	1,24 [1,12;1,47]
	ЧСС, уд/мин	77 [66,1;87,8]
	САД/ДАД, мм рт.ст.	132 [114;137] / 72 [74,5;78]
Группа 1 (с умеренной тяжестью коронарного поражения), n=12	ОХ, ммоль/л	4,18 [4,16;4,22]
	ЛПНП, ммоль/л	1,67 [1,12;2,03]
	ТГ, ммоль/л	1,42 [1,3;1,81]
	САД/ДАД, мм рт.ст.	118 [108;136] / 76 [70,5;88]
	ЧСС, уд/мин	64 [55,3;73,2]
Группа 2 (с тяжелым коронарным поражением), n=18	ОХ, ммоль/л	4,63 [4,02;5,14]
	ЛПНП, ммоль/л	1,72 [1,34;2,09]
	ТГ, ммоль/л	1,3 [0,98;1,9]

	ЧСС, уд/мин	75 [66,8;87,2]
	САД/ДАД, мм рт.ст.	125 [112;138] / 76 [64;75,5]

### 3.2.1. Динамика показателей окислительного стресса исходно и после волн жары в контрольной группе и группе больных ИБС

При изучении уровня продуктов свободнорадикального окисления в контрольной и исследуемой группах на момент включения в исследование при температуре комфорта уровень МДА составил 10,66 [7,9;17,9] нмоль/мл в исследуемой группе и 13,9 [11,9;19,7] нмоль/мл в группе контроля, при этом различия носили статистически незначимый характер. Уровень МДА-модифицированных ЛПНП составил 49,7 [43,1;61,3] ед/л в исследуемой группе и 46,5 [39,1;56,4] ед/л в группе контроля, статистически достоверных различий при этом также не выявлено (Таблица 10).

При изучении активности антиоксидантных ферментов в контрольной и исследуемой группах уровень активности каталазы в исследуемой группе был статистически значимо выше, чем в группе контроля, и составил 371,8 [347,5;422,8] ед/г Нв против 333,2 [303,9;350,7] ед/г Нв соответственно. Активность глутатионпероксидазы также была достоверно выше в исследуемой группе и составила 3,22 [2,62;4,30] ед/г Нв против 2,21 [1,64;2,69] ед/г Нв в группе контроля. Активность Cu,Zn-СОД в исследуемой и контрольной группе составила 192,3 [169,4; 231,4] и 208,6 [172,6; 228,1] ед/г Нв соответственно, при этом достоверных различий не выявлено.

Таблица 10 – Показатели свободнорадикального окисления в группах контроля и ИБС исходно (в период комфортной температуры), Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

	Группа контроля (n=10)	Группа ИБС (n=30)	p
Активность каталазы, ед/г Нв	333,2 [303,9; 350,7]	371,8 [347,5; 422,8]	0,0010*
Активность Cu,Zn- СОД, ед/г Нв	208,6 [172,6; 228,1]	192,3 [169,4; 231,4]	0,8658
Активность ГП, ед/г Нв	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

После прохождения волн жары проводилось повторное измерение всех исследуемых показателей в контрольной и исследуемой группах.

В Таблице 11 представлены результаты измерений активности антиоксидантных ферментов в контрольной группе и группе ИБС после прохождения волн жары. Активность Cu,Zn-СОД после жары статистически значимо увеличивалась как в группе контроля (с 208,6 [172,6; 228,1] ед/г Нв исходно до 445,2 [412,4; 516,3] ед/г Нв после жары), так и в исследуемой группе (с 192,3 [169,4; 231,4] ед/г Нв исходно до 303,1 [208,4; 409,0] ед/г Нв после жары).

Активность каталазы после жары достоверно снижалась по сравнению с исходными значениями как в группе контроля (с 333,2 [303,9; 350,7] ед/г Нв исходно до 262,0 [218,4; 320,3] ед/г Нв после жары), так и в исследуемой группе (с 371,8 [347,5; 422,8] ед/г Нв исходно до 293,6 [246,9; 340,4] ед/г Нв после жары).

Активность ГП после жары была статистически значимо ниже по сравнению с исходными показателями как в группе контроля (с 2,21 [1,64;2,69] ед/г Нв исходно до 1,72 [1,05;2,29] ед/г Нв после жары), так и в исследуемой группе (с 3,22 [2,62;4,30] ед/г Нв исходно до 1,35 [1,16;1,58] ед/г Нв после жары).

При анализе продуктов свободнорадикального окисления после прохождения волн жары получены следующие результаты: уровень МДА после жары статистически значимо повышался как в контрольной группе (с 13,9 [11,9;19,7] нмоль/мл исходно до 26,75 [18,0;36,3] нмоль/мл после жары), так и в исследуемой группе пациентов с ИБС (с 10,66 [7,9;17,9] нмоль/мл исходно до 20,54 [16,5;26,4] нмоль/мл после жары).

Уровень МДА-ЛПНП после жары статистически значимо снижался как в контрольной группе (с 46,5 [39,1; 56,4] ед/л исходно до 37,7 [28,4;49,2] ед/л после жары), так и в исследуемой группе (с 49,7 [43,1; 61,3] ед/л исходно до 39,5 [29,7; 47,5] ед/л после жары).

Таблица 11 – Показатели свободнорадикального окисления в группах контроля и ИБС после волн жары, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

	Группа контроля, n=10	Группа ИБС, n=30	p
Активность каталазы, ед/г Нв	262,0 [218,4; 320,3]	293,6 [246,9; 340,4]	0,2094
Активность Cu,Zn-СОД, ед/г Нв	445,2 [412,4; 516,3]	303,1 [208,4; 409,0]	0,0039*
Активность ГП, ед/г Нв	1,72 [1,05; 2,29]	1,35 [1,16; 1,58]	0,4139
Содержание МДА, нмоль/мл	26,75 [18,0; 36,3]	20,54 [16,5; 26,4]	0,0889
Содержание МДА- ЛПНП, ед/л	37,7 [28,4; 49,2]	39,5 [29,7; 47,5]	0,8177

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

Таким образом, все изучаемые параметры окислительного стресса менялись в ходе исследования, как в группе контроля, так и в группе ИБС.

На Рисунках 6 и 7 представлены сводные данные динамики показателей окислительного стресса в процентах от исходного значения.

Накопление МДА в группе контроля и группе ИБС составило более 71% и 60% соответственно. Снижение уровня МДА-модифицированных ЛПНП составило более 14% в группе контроля и более 25% в группе больных ИБС (Рисунок 6).

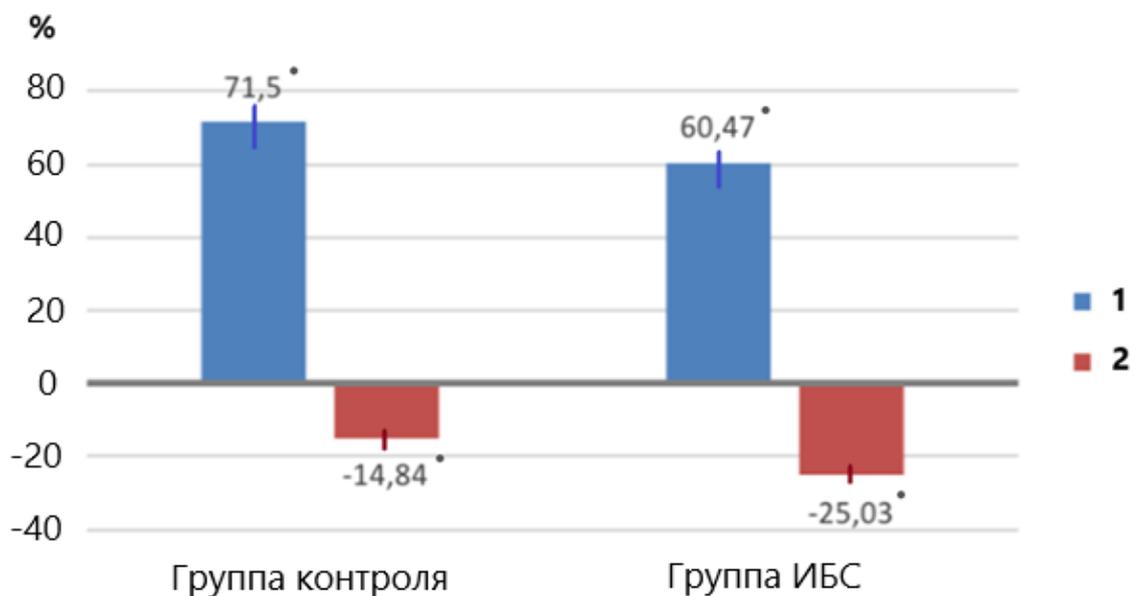


Рисунок 6 – Изменение содержания продуктов свободнорадикального окисления: МДА (1) и МДА-модифицированных ЛПНП (2) в плазме крови пациентов групп контроля и ИБС в ответ на жару (в % от исходного)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

Снижение активности каталазы и ГП составило более 21% и почти 20% соответственно в группе контроля, и более 57% и 24% соответственно в группе ИБС. Активность Cu,Zn-СОД возросла более 139% в группе контроля и 67% в группе ИБС (Рисунок 7).

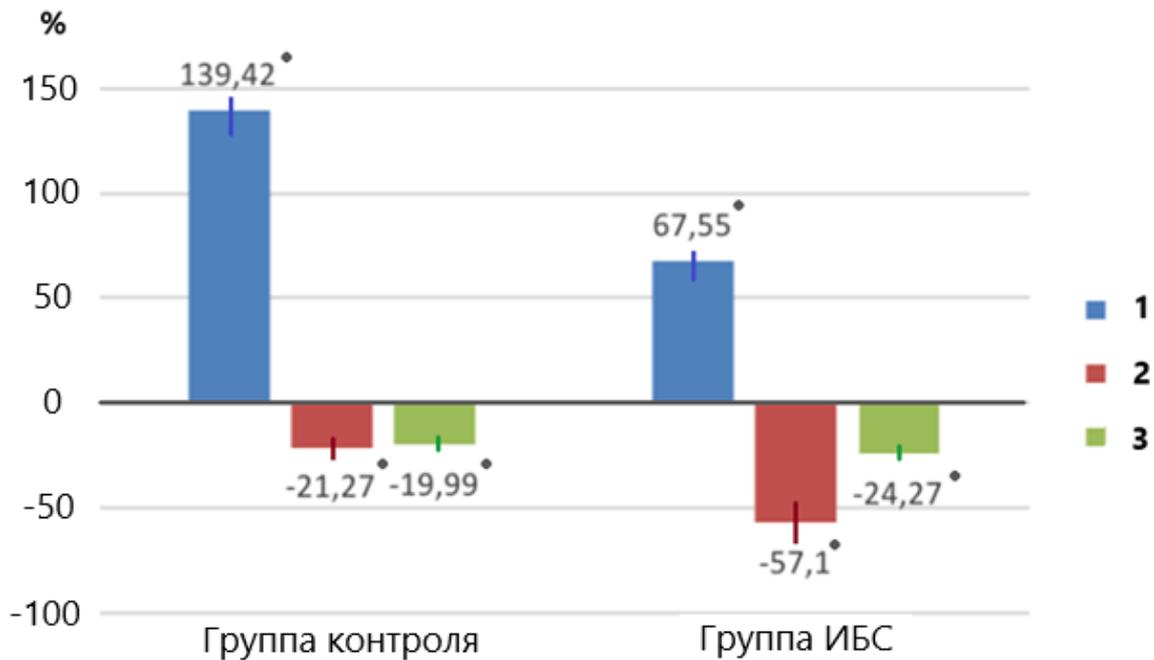


Рисунок 7 – Изменение активности антиоксидантных ферментов: Cu,Zn-СОД (1), ГП (2) и каталазы (3) в эритроцитах пациентов групп контроля и ИБС в ответ на жару (в % от исходного)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

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 большем нарушении регуляции свободнорадикальных процессов у этих пациентов.

Далее приведены результаты анализа показателей окислительного стресса при прохождении волн жары у пациентов с ИБС и различной степенью тяжести атеросклеротического поражения коронарного русла.

### 3.2.2. Динамика показателей окислительного стресса у пациентов с ИБС в зависимости от степени тяжести коронарного и экстракоронарного поражения

При изучении уровня продуктов свободнорадикального окисления на момент включения в исследование при температуре комфорта в группе 1 (больные с ИБС и умеренной тяжестью коронарного поражения) и группе 2 (больные с ИБС и тяжелым коронарным поражением) уровень МДА составил 10,1 [7,9;14,4] нмоль/мл и 12,4 [7,3;22,31] нмоль/мл соответственно, при этом различия носили статистически незначимый характер. Уровень окисленно-модифицированных ЛПНП составил 43,6 [36,3;59,6] ед/л в группе 1 и 51,8 [44,3;61,3] ед/л в группе 2, статистически достоверных различий при этом также не выявлено (Таблица 12).

Таблица 12 – Параметры окислительного стресса у пациентов с различной тяжестью коронарного поражения при температуре комфорта, Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

	Группа 1 (с умеренной тяжестью коронарного поражения), n=12	Группа 2 (с тяжелым коронарным поражением), n=18	p
Активность Cu,Zn-СОД, ед/г Нв	188 [171;206]	196 [169;237]	0,5558
Активность каталазы, ед/г Нв	371,8 [352,8;405,1]	372,4 [343,6;434,1]	0,8324
Активность ГП, ед/г Нв	3,6 [2,8;4,6]	3,2 [2,6;3,4]	0,3740
Содержание МДА, нмоль/мл	10,1 [7,9;14,4]	12,4 [7,3;22,31]	0,4711

Содержание МДА-ЛПНП, ед/л	43,6 [36,3;59,6]	51,8 [44,3;61,3]	0,1501
---------------------------------	---------------------	---------------------	--------

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

При изучении активности антиоксидантных ферментов при температуре комфорта уровень активности каталазы в группе 1 составил 371,8 [352,8;405,1] ед/г Нв и 372,4 [343,6;434,1] ед/г Нв в группе 2, статистически значимых межгрупповых различий не отмечено. Активность глутатионпероксидазы составила 3,6 [2,8;4,6] ед/г Нв в группе 1 и 3,2 [2,6;3,4] ед/г Нв в группе 2, межгрупповых различий так же не выявлено. Активность Cu,Zn-СОД в группах 1 и 2 составила 188 [171;206] ед/г Нв и 196 [169;237] ед/г Нв соответственно, при этом достоверных различий не выявлено.

В Таблице 13 представлены результаты измерений активности антиоксидантных ферментов в группах различной тяжести атеросклеротического коронарного поражения после прохождения волн жары. Уровень МДА после прохождения волн жары статистически значимо повышался как в группе 1 (с умеренной тяжестью коронарного поражения) (с 10,1 [7,9;14,4] нмоль/мл исходно до 21,4 [19,3;24,8] нмоль/мл после жары), так и в группе 2 (с тяжелым коронарным поражением) (с 12,4 [7,3;22,31] нмоль/мл исходно до 19,8 [15,1;26,7] нмоль/мл после жары).

Достоверное снижение уровня МДА-модифицированных ЛПНП после волн жары наблюдалось только в группе 2 (с тяжёлым коронарным поражением) (с 51,8 [44,3;61,3] ед/л исходно до 37,4 [26,7;47,5] ед/л после жары), тогда как в группе 1 (с умеренной тяжестью коронарного поражения) изменение этого показателя (с 43,6 [36,3;59,6] ед/л исходно до 40,9 [32,0;47,0] ед/л после жары) носило недостоверный характер.

При изучении активности антиоксидантных ферментов после прохождения

волн жары получены следующие результаты: повышение активности Cu,Zn-СОД было статистически значимым (с 188 [171; 206] ед/г Нв исходно до 400 [348; 488] ед/г Нв после жары) только в группе 1 (с умеренной тяжестью коронарного поражения), в то время как в группе 2 (с тяжелым коронарным поражением) достоверного повышения активности этого фермента не регистрировалось (196 [169; 237] ед/г Нв исходно и 209 [193; 275] ед/г Нв после жары).

Таблица 13 – Параметры окислительного стресса у пациентов с ИБС и различной тяжестью коронарного поражения после прохождения волн жары, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

	Группа 1 (больные умеренной тяжестью коронарного поражения), n=12	Группа 2 (больные с тяжелым коронарным поражением), n=18	p
Активность Cu,Zn-СОД, ед/г Нв	400 [348;488]	209 [193;275]	0,0001*
Активность каталазы, ед/г Нв	290,4 [214,6;338,7]	296,5 [274,8;354,1]	0,4982
Активность ГП, ед/г Нв	1,4 [1,3;1,6]	1,3 [1,1;1,6]	0,7509
Содержание МДА, нмоль/мл	21,4 [19,3;24,8]	19,8 [15,1;26,7]	0,7110
Содержание МДА- ЛПНП,ед/л	40,9 [32,0;47,0]	37,4 [26,7;47,5]	0,3740

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

У пациентов обеих групп наблюдалось статистически значимое снижение активности каталазы - с 371,8 [352,8; 405,1] ед/г Нв исходно до 290,4 [214,6; 338,7] ед/гНв после жары в группе 1 и с 372,4 [343,6; 434,1] ед/г Нв исходно до 296,5 [274,8; 354,1] ед/г Нв после жары в группе 2.

Схожая динамика статистически значимого снижения уровня активности в обеих группах наблюдалась и при изучении активности глутатионпероксидазы: с 3,6 [2,8; 4,6] ед/г Нв исходно до 1,4 [1,3; 1,6] ед/гНв после жары в группе 1 и с 3,2 [2,6; 3,4] ед/г Нв исходно до 1,3 [1,1; 1,6] ед/г Нв после жары в группе 2.

У пациентов с ИБС и разной степенью тяжести коронарного поражения имелись существенные отличия в динамике показателей окислительного стресса. На Рисунках 7 и 8 представлены сводные данные динамики показателей окислительного стресса в процентах от исходного значения.

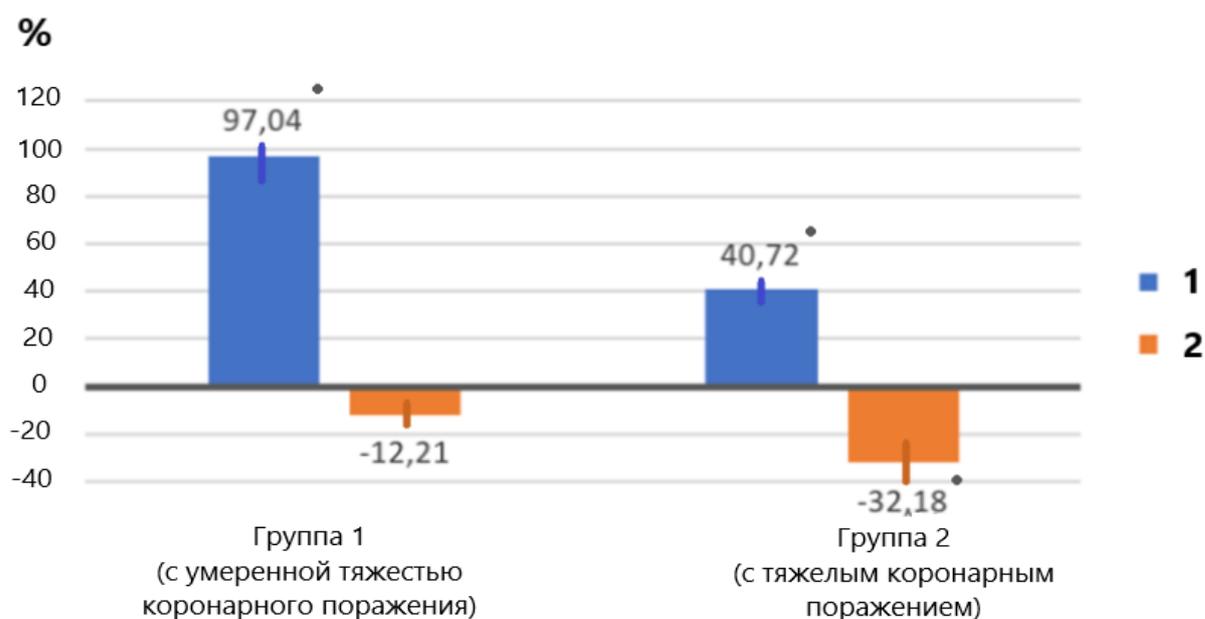


Рисунок 8 – Изменение содержания продуктов свободнорадикального окисления: МДА (1) и МДА-модифицированных ЛПНП (2) в плазме крови пациентов с ИБС и различной тяжестью коронарного поражения в ответ на жару (в % от исходного)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

У пациентов с умеренной тяжестью коронарного поражения (группа 1) было выявлено значительное (на 97,04% 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 (повышение составило 40,72% от исходного уровня). При этом достоверное снижение концентрации МДА-модифицированных ЛПНП в группе 1 не зарегистрировано, в отличие от группы 2, где снижение было статистически значимым и составило 32,18% от исходного (Рисунок 8).

При анализе динамики уровня ферментов обращает на себя внимание значительно более выраженное увеличение активности Cu,Zn-СОД (147,23% от исходного) в группе с умеренной тяжестью коронарного поражения (группа 1) по сравнению с этим показателем в группе с тяжелым коронарным поражением (группа 2), где прирост активности составил 16,02% от исходного, что не являлось статистически значимым по сравнению с исходным параметром (Рисунок 9).

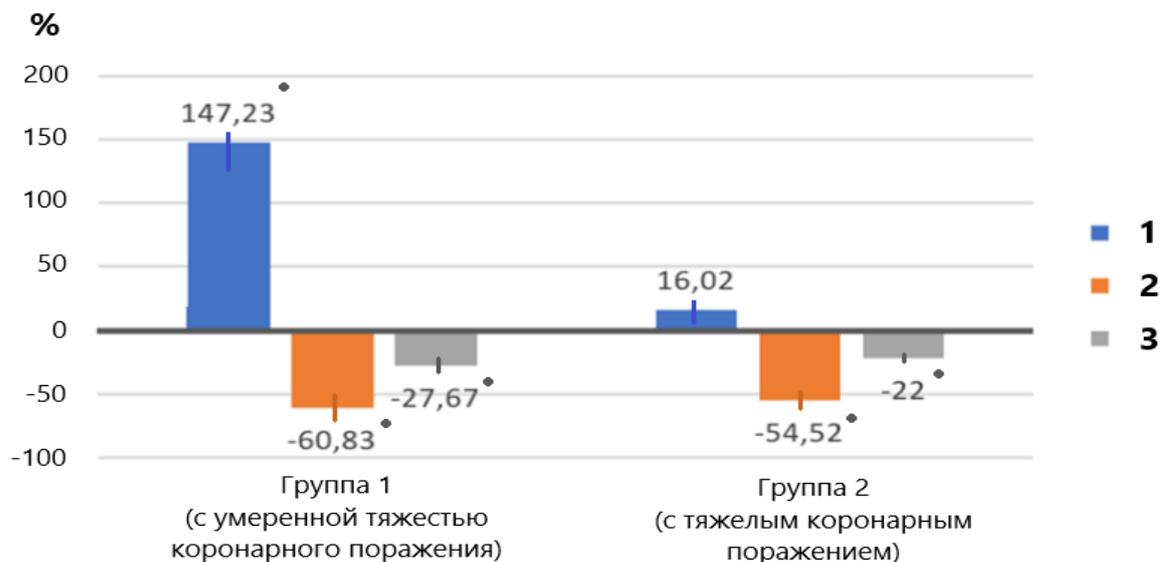


Рисунок 9 – Изменение активности антиоксидантных ферментов: Cu,Zn-СОД (1), ГП (2) и каталазы (3) в эритроцитах пациентов с ИБС и различной тяжестью коронарного поражения в ответ на жару (в % от исходного)

Примечание: \* -  $p < 0,05$  при проверке различий между измерениями с применением непараметрического критерия Вилкоксона относительно исходного значения

При исследовании группы контроля и групп с ИБС и различной тяжестью коронарного поражения была выявлена положительная корреляция между содержанием МДА и активностью Cu,Zn-СОД ( $r=0,50$  и  $r=0,44$  соответственно) во время волн летней жары, тогда как в группе 2 сколько-нибудь значимой корреляции между этими параметрами во время волн летней жары выявлено не было (Рисунок 10).

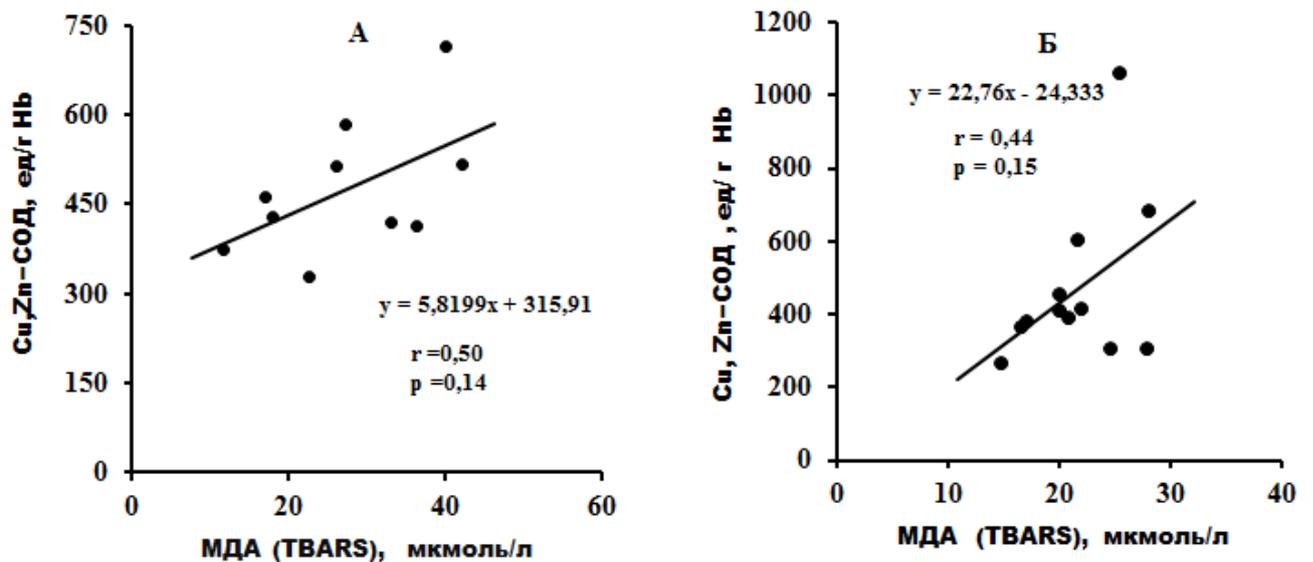


Рисунок 10 – Корреляционная зависимость между уровнем МДА в плазме крови и активностью Cu,Zn-СОД в эритроцитах у пациентов группы контроля (А) и группы с умеренным коронарным поражением (Б) после волн летней жары

Значимых корреляционных зависимостей между остальными параметрами окислительного стресса в исследуемых группах выявлено не было.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В течение последних двух десятилетий проблема заболеваемости и смертности населения от сердечно-сосудистых заболеваний, в частности ИБС, остается одной из ведущих проблем здравоохранения, несмотря на достижения в области фармакотерапии и хирургических методов лечения данной категории пациентов. Одним из важных факторов, влияющих на течение ИБС и потребность пациентов в госпитализации, является воздействие меняющейся внешней среды. Волны летней жары, наблюдающиеся в последние годы, приводят к увеличению частоты госпитализаций и смертности населения, причем значительную часть умерших и госпитализированных составляют пациенты с ИБС.

Исходя из этого, целью нашего исследования явилось изучение особенностей развития окислительного стресса в условиях повышения температуры окружающей среды у практически здоровых людей (экспериментальная часть работы) и у пациентов с ишемической болезнью сердца при коронарном атеросклерозе и атеросклеротическом поражении других локализаций (клиническая часть работы).

На первом, экспериментальном, этапе исследования установлено, что при воздействии длительной моделируемой гипертермии у здоровых людей отмечается характерное для развития окислительного стресса прогрессивное повышение уровня МДА в течение всего срока эксперимента (к концу эксперимента уровень МДА повысился на 61,82% ( $p < 0,05$ ) от исходного уровня). В течение первых 10 суток эксперимента отмечено первоначальное снижение уровня МДА-модифицированных ЛПНП (на 10,16%), в дальнейшем уровень этого параметра повышался и к 20-м и 30-м суткам эксперимента статистически не отличался от исходного уровня.

При этом такая динамика продуктов свободнорадикального окисления в плазме крови сопровождалась существенным уменьшением активностей каталазы и ГП в эритроцитах и выраженным повышением активности Cu,Zn-СОД. Также при воздействии 30 суток жары у здоровых добровольцев отмечено значимое (на

16,5%,  $p < 0,05$ ) уменьшение длины теломеров в лейкоцитах крови.

Таким образом, наряду с типичными проявлениями окислительного стресса (снижением активности ГП и каталазы, уменьшением длины теломеров) мы наблюдали и парадоксальные реакции - увеличение активности СОД и первоначальное снижение МДА-модифицированных ЛПНП.

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 красных кровяных клеток (Рисунок 11) [6]. Частичный гемолиз эритроцитов (гемолитическая анемия) неизбежно должен вызывать ответную стимуляцию гемопоза за счет образования ретикулоцитов [6]. В ядерных клетках происходит экспрессия генов Cu,Zn-СОД и индукция биосинтеза фермента, что приводит к увеличению активности Cu,Zn-СОД в эритроцитах. Увеличение активности Cu,Zn-СОД усиливает утилизацию супероксидных анион-радикалов, препятствуя образованию других АФК и вызывая снижение выраженности окислительного стресса.

Увеличение уровня МДА в плазме крови рассматривается как характерный признак развития окислительного стресса [19, 171, 206, 226]. Следует отметить, что у постоянно работающих в условиях гипертермии (в горячих цехах) также было отмечено увеличение содержания МДА в плазме крови [260].

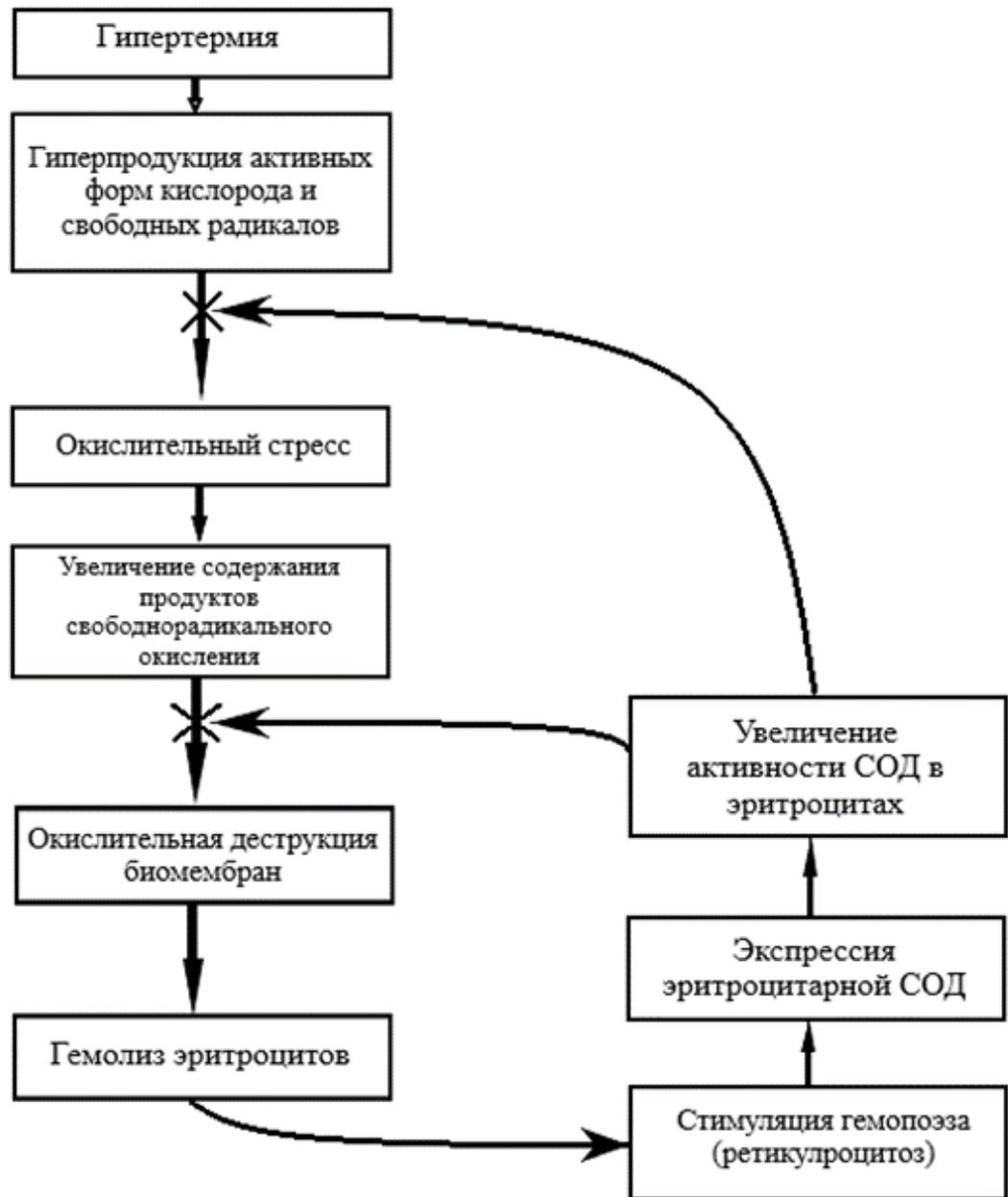


Рисунок 11 – Ферментный механизм регуляции свободнорадикального окисления при гипертермии

Обращает на себя внимание, что увеличение активности Cu,Zn-СОД было отмечено позднее, чем увеличение уровня МДА – на 20-е сутки от начала эксперимента. Очевидно, что накоплению вторичного продукта свободнорадикального окисления – МДА должно предшествовать накопление первичных продуктов – гидропероксидов, образование которых невозможно без повышенного генерирования АФК. В связи со сказанным, «запаздывание» в

увеличении активности Cu,Zn-СОД в нашем исследовании вполне объяснимо тем, что после накопления субстрата Cu,Zn-СОД – супероксидного анион-радикала требуется определенное время для индукции биосинтеза фермента *de novo*. Резкое увеличение активности утилизирующего супероксидные радикалы фермента Cu,Zn-СОД ранее наблюдали в процессе линейно нарастающего уровня кислорода в атмосфере при моделировании окислительного стресса у экспериментальных животных [36]. Нарастание активности Cu,Zn-СОД при этом эксперименте обеспечивало 95%-ное выживание животных в при 100%-ном содержании кислорода (Рисунок 12) [36].

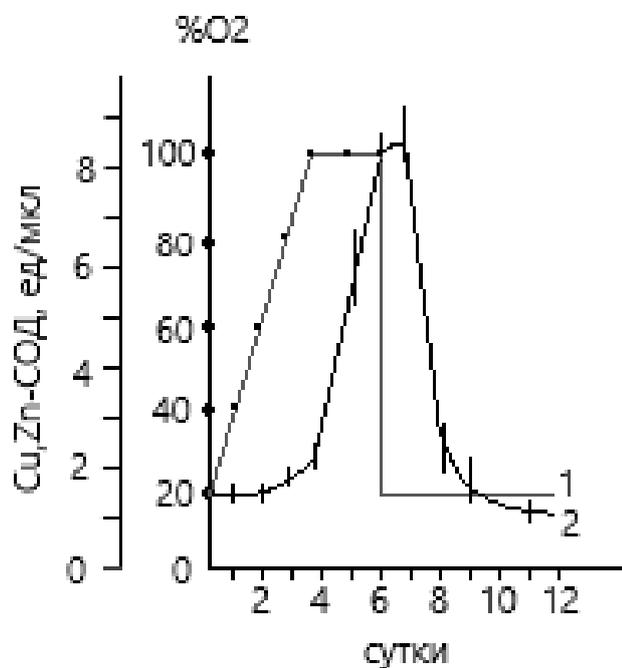
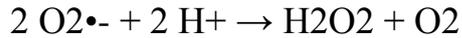


Рисунок 12 – Индуктивный биосинтез СОД в крови мышей при окислительном стрессе, вызванном гипероксией

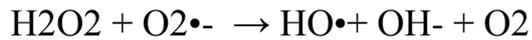
Примечание: Линия 1 – процент содержания кислорода в атмосфере, линия 2 – активность Cu,Zn-СОД, ед/л.

Таким образом, наблюдаемое увеличение активности эритроцитарной Cu,Zn-СОД у испытуемых при гипертермии можно рассматривать в качестве нормальной физиологической реакции, направленной на компенсаторное

подавление образования АФК в процессе эффективной ферментативной дисмутации супероксидного анион-радикала в процессе реакции:



Тем не менее, вследствие неизбежного гомолиза накапливающегося при дисмутации супероксидного анион-радикала ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) пероксида водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) может происходить образование гидроксил-радикала ( $\text{HO}\bullet$ ):



который является мощным ингибитором антиоксидантных ферментов каталазы и ГП [160, 171, 226]. Действительно, подавление активности каталазы и ГП неизменно наблюдается в процессе окислительного стресса *in vitro* и *in vivo* [160, 171, 226], причем наблюдаемое в нашем исследовании уменьшение активности эритроцитарных каталазы и ГП при экспериментальной гипертермии фактически подтверждает возможность осуществления и в данном случае описанных выше последовательностей биохимических реакций.

Таким образом, увеличение активности СОД, как ранее обнаруженное при гипероксии, как и выявленное в нашем исследовании при гипертермии, вероятно, носит компенсаторный характер и, судя по всему, характерно для сравнительно кратковременных экстремальных воздействий на организм, включая волны летней жары [36].

Первичное снижение содержания МДА-модифицированных ЛПНП в плазме крови при экспериментальной гипертермии может быть объяснено их экстремально высоким клиренсом у млекопитающих [45] вследствие активной утилизации сквенджер-рецепторами купферовских клеток печени [43].

Снижение активности гидропероксид-восстанавливающих ферментов в эритроцитах (каталазы и ГП) может быть следствием модификации молекул этих ферментов накапливающимися низкомолекулярными карбонильными соединениями, такими как МДА [45, 58] и его метаболитические предшественники – гидроксиноненали [160, 171, 226].

Фактически данные, полученные при экспериментальной гипертермии, хорошо согласуются с результатами исследования регуляции

свободнорадикальных процессов у пациентов с ИБС при волнах летней жары.

Увеличение содержания МДА в группе контроля и группе ИБС составило более 71% и 60% от исходного уровня соответственно. При этом существенной разницы в исходном содержании МДА до начала волны жары между группами выявлено не было. По содержанию МДА-модифицированных ЛПНП группы контроля и ИБС исходно не отличались. В ранние сроки после жары мы наблюдали снижение содержания МДА-модифицированных ЛПНП как у пациентов контрольной группы, так и у пациентов с ИБС: более 14% от исходного уровня в группе контроля и более 25% от исходного уровня в группе больных ИБС. Мы не наблюдали накопления этого продукта свободнорадикального окисления по мере роста содержания МДА, как это было в экспериментальной части работы, по всей видимости, в связи тем, что длительность температурного воздействия была существенно меньше и измерения проводились в ранний срок после начала и прохождения волны жары, которого оказалось недостаточно для достоверного накопления содержания этого продукта (короткая волна жары и 3-4 суток после прохождения волны в клиническом исследовании и 30 суток непрерывного температурного воздействия в экспериментальном исследовании).

Активность каталазы исходно у пациентов с ИБС была статистически значимо выше, чем в контрольной группе. После прохождения волны жары активность каталазы значимо снизилась как в группе контроля (на более чем 24%), так и в группе больных ИБС (на более чем 19%), что сходно с динамикой данного параметра у здоровых людей в первые 10 суток моделируемой гипертермии.

При анализе активности ГП был выявлен исходный статистически значимо более высокий уровень активности этого фермента у пациентов группы ИБС по сравнению с группой контроля. При этом подавление активности ГП в ответ на жару в группе больных ИБС было более выраженным по сравнению с контрольной группой (снижение активности составило более 57% и 21% соответственно).

При анализе активности Cu,Zn-СОД у пациентов с ИБС и пациентов контрольной группы исходно статистически значимых различий в активности выявлено не было. При этом в обеих группах в ответ на прохождение волн жары не только продемонстрирован статистически значимый рост активности Cu,Zn-СОД, но и выявлен значительно менее выраженный прирост активности данного фермента в группе больных ИБС по сравнению с контрольной группой - более 67% и более 139% от исходного уровня соответственно. Вторичные продукты свободнорадикального окисления полиеновых липидов (4-гидроксиноненаль и МДА), обладающие высокой реакционной способностью, могут вызывать изменения конформации молекул белков за счет реакции альдегидной группы дикарбониллов со свободными аминогруппами протеинов [171]. Результаты модельных экспериментов, в которых внутриэритроцитарную Cu,Zn-СОД модифицировали в присутствии МДА, свидетельствуют, что молекулы МДА легко проникают через богатую холестерином ригидную мембрану эритроцитов и приводят к весьма значительному ингибированию активности внутриэритроцитарной Cu, Zn-СОД [45]. Таким образом, накопление МДА в плазме крови при развитии окислительного стресса может быть причиной карбонилзависимой модификации молекул эритроцитарной Cu,Zn-СОД и снижения активности этого фермента у больных ИБС.

Описанная динамика изучаемых показателей не только указывает на развитие окислительного стресса у больных ИБС и контрольной группы, но и свидетельствует как об исходном нарушении работы механизмов антиоксидантной защиты у пациентов с ИБС, так и о нарушении механизмов ответа антиоксидантной системы на провоцирующее воздействие жары у этих пациентов по сравнению с контрольной группой.

Еще одной задачей нашего исследования являлось изучение динамики параметров окислительного стресса у пациентов с ИБС при различной степени тяжести коронарного поражения и распространенности экстракоронарного атеросклероза.

Достоверных различий в исходном уровне как МДА, так и МДА-ЛПНП у

групп с различной тяжестью коронарного и экстракоронарного поражения в ходе исследования выявлено не было. Не выявлено различий и при исследовании исходной активности всех трех антиоксидантных ферментов. Таким образом, было установлено, что выраженность атеросклеротического поражения не влияет на исходные параметры показателей свободнорадикального окисления.

В то же время в динамике изучаемых параметров в ответ на жару при сравнении групп с различной тяжестью коронарного и экстракоронарного поражения выявлены существенные различия. У пациентов с тяжелым коронарным поражением отмечено снижение уровня МДА-модифицированных ЛПНП (на 32,18%), в то время как достоверного снижения этого параметра в группе с умеренной тяжестью коронарного поражения не выявлено. В группе с тяжелым коронарным поражением выявлено менее выраженное накопление МДА по сравнению с группой пациентов с умеренной тяжестью коронарного поражения (40,72% против 97,04 % соответственно). Подавление активности каталазы и глутатионпероксидазы у групп различной тяжести коронарного поражения было сходным, однако активность Cu,Zn-СОД повышалась (на 147,23%) только в группе с умеренной тяжестью поражения, а в группе с тяжелым поражением достоверного повышения активности этого фермента относительно исходного уровня не было зафиксировано вовсе.

Известно, что хроническое воздействие АФК, наблюдаемое при ряде дегенеративных заболеваний, связанных со старением, приводит к снижению функции митохондрий, накоплению генерируемых в митохондриях АФК и стойкому повреждению митохондриальной ДНК [233, 280]. В нашей работе также наблюдалось значительное укорочение теломерных повторов хромосом лейкоцитов крови здоровых добровольцев при моделируемой гипертермии, что свидетельствует об окислительном повреждении ДНК.

Возможная последовательность событий при окислительном стрессе, вызванном гипертермией или волнами летней жары приведены на нижеследующей схеме (Рисунок 13).

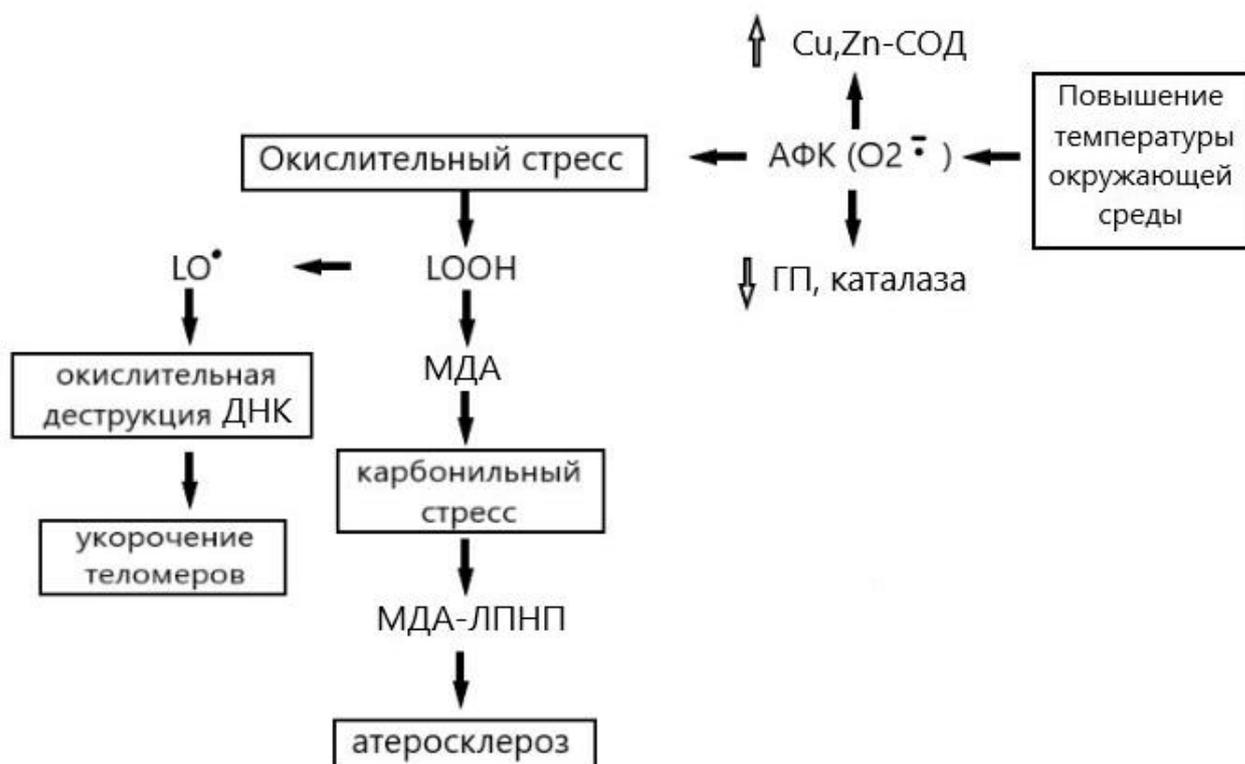


Рисунок 13 – Влияние гипертермии на последовательность свободнорадикальных процессов, приводящих к усугублению атеросклероза

Хорошо известно, что активация процессов свободнорадикального окисления является одним из важнейших факторов ишемического повреждения миокарда, так как при ишемии создаются условия, при которых снижение содержания кислорода приводит к увеличению продукции цитотоксичных супероксидных анион-радикалов и других АФК [15, 53, 176, 257]. Известно, что при ишемии подавляется митохондриальное окисление жирных кислот в цикле Кребса, в связи с этим в митохондриях возрастает содержание восстановленных пиридиннуклеотидов, что в свою очередь вызывает одноэлектронное восстановление кислорода с образованием супероксидного радикала. Также ранее было показано, что в ишемизированных эндотелиоцитах стенки сосуда в результате протеолиза происходит конверсия ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу, увеличение концентрации которой приводит к активации продукции АФК при окислении пуринов, образование которых в процессе

ишемии резко возрастает вследствие усиления катаболизма АТФ. В ряде более ранних исследований было установлено, что в ишемизированной ткани на фоне повышения продукции АФК происходит резкое необратимое ингибирование активности антиоксидантных ферментов [53, 169, 252, 257]. В нашей работе мы также наблюдали снижение активности таких антиоксидантных ферментов, как ГП и каталаза.

Характер изменений ключевых параметров окислительного стресса при гипертермии у здоровых добровольцев и при волнах летней жары у пациентов группы контроля (пациенты без ИБС) по результатам настоящей работы очень схож. В то же время, у больных ИБС в большей степени, чем у лиц без ИБС нарушена регуляция свободнорадикальных процессов. Таким образом, впервые установлено, что у пациентов с ИБС и тяжелым коронарным и экстракоронарным атеросклерозом имеются существенные нарушения в работе механизмов антиоксидантной защиты по сравнению с работой этих механизмов у пациентов с ИБС с умеренной тяжестью коронарного и экстракоронарного атеросклеротического поражения, а также по сравнению со здоровыми людьми.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Окислительный стресс является важным этиологическим и патогенетическим фактором ИБС и атеросклероза [32, 35]. В нашей работе в исследовании, выполненном с участием здоровых добровольцев было установлено, что экспериментальная гипертермия, так же как и воздействие волн летней жары, сопровождается проявлениями окислительного стресса (на основании анализа характерных маркеров) – увеличением содержания МДА, снижением длины теломеров вследствие окислительной деструкции ДНК, а также снижением активности антиоксидантных ферментов вследствие карбонильной модификации их активных центров [26, 75, 171].

В то же время, при экспериментальной гипертермии было выявлено парадоксальное увеличение активности Cu,Zn-СОД. Обнаруженное в более ранних работах увеличение активности СОД при гипероксии у животных [36] и в нашем исследовании при гипертермии (Рисунок 4), вероятно, носит компенсаторный характер и, судя по всему, характерно для сравнительно кратковременных экстремальных воздействий на организм, включая волны летней жары. При окислительном стрессе, носящем хронический, затяжной характер, как, например, при длительно существующем распространенном атеросклерозе, активность Cu,Zn-СОД в эритроцитах, напротив, существенно снижается вследствие ингибирования накапливающимися дикарбонилами [6, 58].

Можно полагать, что образование АФК и, в первую очередь, субстрата Cu,Zn-СОД – супероксидного анион-радикала на ранних стадиях свободнорадикального окисления стимулирует экспрессию фермента, тогда как накопление дикарбонилов на более поздних стадиях окисления вызывает ингибирование активности Cu,Zn-СОД. Увеличение активности Cu,Zn-СОД в эритроцитах при экстремальных воздействиях, таких как гипероксия, гипертермия и волны летней жары, может быть вызвано частичным гемолизом эритроцитов, что неизбежно должно сопровождаться увеличением числа ретикулоцитов, способных к синтезу ферментов.

Фактические данные, полученные при экспериментальной гипертермии, хорошо согласуются с результатами исследования регуляции свободнорадикальных процессов у пациентов с ИБС при волнах летней жары. Действительно, у пациентов контрольной группы (без атеросклероза коронарных артерий) было установлено значительное увеличение активности Cu,Zn-СОД (на 139%) в ответ на развитие окислительного стресса (увеличение уровня МДА на 71,5%) при волнах летней жары. В то же время, у пациентов с ИБС в ответ на волны летней жары подобная реакция была существенно менее выражена: активность Cu,Zn-СОД возрастала всего на 67 %, при схожем увеличении содержания МДА (на 60%).

Особенно четкие различия в реакции на волны летней жары были выявлены при анализе групп пациентов с ИБС при различной степени тяжести коронарного и экстракоронарного атеросклеротического поражения. Показательно, что, казалось бы, при меньшей выраженности окислительного стресса в группе пациентов с тяжелым коронарным поражением (более чем двукратно более низкий уровень накопления МДА - +97% от исходного уровня в группе с умеренной тяжестью поражения и +41% в группе с тяжелым поражением), у пациентов этой группы практически полностью подавлена компенсаторная реакция увеличения активности Cu,Zn-СОД в ответ на волны летней жары, которая сохраняется у пациентов с ИБС и умеренной тяжестью коронарного поражения. Несомненно, снижение активности первичного звена антиоксидантной защиты этом случае также способствует усугублению атерогенного процесса и вносит весомый вклад в создание ситуации, способствующей увеличению числа сердечных осложнений в период волн летней жары.

Нарушения регуляции свободнорадикальных реакций при различных патологических состояниях, включая атеросклероз, в настоящее время интенсивно исследуются ввиду важности вклада этих процессов в молекулярные механизмы атерогенеза [171]. Тем не менее, очевидно, что характер нарушения свободнорадикальных механизмов повреждения стенки сосудов при хроническом

течении заболевания может существенно отличаться от молекулярных механизмов, приводящих к сердечным осложнениям при острых состояниях, вызывающих окислительный стресс, таких как кратковременная гипертермия и эффекты волн летней жары, длящиеся сравнительно непродолжительное время. Так, при выраженном атеросклерозе и декомпенсированном сахарном диабете отмечено не увеличение активности эритроцитарной Cu,Zn-СОД как в нашем исследовании, а напротив, значительное снижение активности этого фермента вследствие модификации активного центра при продолжительном действии накапливающихся продуктов карбонильного стресса - низкомолекулярных дикарбониллов, интенсивно накапливающихся при трансформации окислительного стресса в карбонильный стресс.

Следовательно, полученные в нашем исследовании данные не только обосновывают возможные новые биохимические механизмы негативного действия теплового стресса на организм человека, но и позволяют оценить особенности вклада свободнорадикальных процессов при волнах летней жары в возникновение и развитие опасных осложнений сердечно-сосудистой системы в этот период, что открывает возможность разработки методов коррекции выявленных нарушений и купирования опасных, зачастую, фатальных последствий.

## 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-супероксиддисмутазы в эритроцитах) с целью профилактики возможных осложнений сердечно-сосудистых заболеваний 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 СОКРАЩЕНИЙ**

АКТГ – адренкортикотропный гормон

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфат

АФА – активные формы азота

АФК – активные формы кислорода

БРА – блокаторы рецепторов ангиотензина II

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ГП – глутатионпероксидаза

ГР – глутатионредуктаза

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

КАГ – коронароангиография

ЛПНП - липопротеиды низкой плотности

МДА – малоновый диальдегид

МДА-ЛПНП – модифицированные малоновым диальдегидом липопротеиды  
низкой плотности

мРНК – митохондриальная рибонуклеиновая кислота

мтДНК – митохондриальная дезоксирибонуклеиновая кислота

МТК ИМБП РАН – Институт медико-биологических проблем Российской  
академии наук

НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат

окЛПНП – окисленно модифицированные липопротеиды низкой плотности

ОХ – общий холестерин

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

T3 – трийодтиронин

T4 – тироксин

ТТГ – тиреотропный гормон

УЗДГ – ультразвуковая доплерография

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка

ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

ЭКГ – электрокардиограмма

2-ТБК – 2-тиобарбитуровая кислота

Araf-1 – активирующий фактор апоптотической протеазы 1

cSHMT – цитозольная серингидрокси метилтрансфераза

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

GCPII – глутаматкарбоксипептидаза II

GSH – глутатион

GSHPx – глутатионпероксидаза

Hb – гемоглобин

HIF1 $\alpha$  – индуцируемый гипоксией фактор 1

mPTP – (mitochondrial permeability transition pore) пора перехода

PTP – (permeability transition pore) постоянное открытие пор  
митохондриальной проницаемости

TYMS – тимидилатсинтаза

VDAC – Vax(Vak)/потенциал-зависимые анионные каналы

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абдуллаева, Ч.А. Оценка эффективности омега-3-полиненасыщенных жирных кислот на показатели окислительного стресса у больных хронической сердечной недостаточностью / Ч.А. Абдуллаева, Г.Х. Ярмухамедова, У.К. Камилова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2019. – Т. 18, № S1. – С. 7-8.
2. Активность супероксиддисмутазы при фибрилляции предсердий / О.С. Полунина, М.О. Филиппова, И.В. Севостьянова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 107.
3. Амелина, И.П. Окислительный стресс и воспаление как звенья одной цепи у больных с хроническими цереброваскулярными заболеваниями / И.П. Амелина, Э.Ю. Соловьева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119, № 4. – С. 106-114. DOI 10.17116/jnevro2019119041106.
4. Билирубин как маркер окислительного стресса у мужчин с ишемической болезнью сердца / О.Е. Горбунова, Т.Н. Панова, Е.Н. Чернышева, А.А. Скрицкая. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник молодого ученого. – 2015. – Т. 9, № 2. – С. 24-29.
5. Взаимосвязь окислительного стресса с показателями регионарной жесткости аорты у пациентов с хроническими формами ишемической болезни сердца / Ю.А. Котова, А.А. Зуйкова, О.Н. Красноруцкая, Е.Н. Алферова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы VII Всероссийской конференции «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы» (Самара, 19–20 октября 2018 года). – Самара: Самарский государственный медицинский университет, 2018. – С. 56-57.
6. Влияние дикарбониллов на кинетические характеристики глутатионпероксидазы / В.З. Ланкин, К.В. Шумаев, А.К. Тихазе, Б.И. Курганов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Доклады Академии наук. – 2017. – Т.

475, №1. – С. 287-290.

7. Влияние химиотерапии на длину теломеров у больных раком молочной железы, страдающих артериальной гипертонией / Н.А. Дорощук, А.К. Тихазе, В.З. Ланкин [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиологический вестник. – 2017. – Т. 12, №1. – С. 32-37.

8. Волкова, М.В. Современные биомаркеры окислительного стресса, оцениваемые методом иммуноферментного анализа / М.В. Волкова, Ю.И. Рагино. – Текст (визуальный) : непосредственный // Атеросклероз. – 2021. – Т. 17, № 4. – С. 79-92. DOI 10.52727/2078-256X-2021-17-4-79-92.

9. Выбор метода количественной оценки поражения коронарных артерий на основе сравнительного анализа ангиографических шкал / Н.Е. Гаврилова, В.А. Метельская, Н.В. Перова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2014. – Т. 19, № 6. – С. 24-29.

10. Гавриленко, Т.И. Миелопероксидаза и ее роль в развитии ишемической болезни сердца / Т.И. Гавриленко, Н.А. Рыжкова, А.Н. Пархоменко. – Текст (визуальный) : непосредственный // Украинский кардиологический журнал. – 2014. – № 4. – С. 119-126.

11. Гендерные различия гомоцистеинемии и её влияния на параметры окислительного стресса и функцию эндотелия у больных стабильными формами ишемической болезни сердца / О.Л. Белая, К.Ю. Бондар, Л.И. Маркова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Клиническая медицина. – 2017. – Т. 95, № 8. – С. 705-712.

12. Герасимова, Н.Г. О роли перекисной и антиоксидантной систем в патогенезе бронхиальной обструкции / Н.Г. Герасимова, Т.Б. Ахвердиева, Ю.В. Шувалова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Самарский научный вестник. – 2015. – № 2 (11). – С. 65-68.

13. Документы, регламентирующие деятельность Правительственной комиссии по предупреждению и ликвидации чрезвычайных ситуаций и обеспечению пожарной безопасности. – Текст (визуальный) : электронный. – URL: <https://www.mchs.gov.ru/ministerstvo/komissii/pravitelstvennaya->

komissiya/dokumenty

14. Донцов, А.В. Антиоксидантный эффект даларгина у пациентов с ишемической болезнью сердца и метаболическим синдромом / А.В. Донцов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2015. – Т. 78, № 7. – С. 3-6.

15. Заславская, Р. Окислительный стресс и его корреляция с параметрами гемодинамики при ИБС / Р. Заславская, Э. Щербань, М. Тейблум. – Текст (визуальный) : непосредственный // Journal of Science. Lyon. – 2021. – № 26-1. – С. 19-22.

16. Зенков, Н.К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, Е.Б. Ланкин. – Москва: Наука/Интерпериодика, 2001. – 343 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

17. Зульфугарова, С.Т. Активность антиоксидантных ферментов и термостабильность мембран у генотипов твердой пшеницы при тепловом стрессе / С.Т. Зульфугарова, С.М. Рустамова, И.М. Гусейнова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Аграрная наука. – 2022. – № 2. – С. 56-61. DOI 10.32634/0869-8155-2022-356-2-56-61.

18. Концентрационная инверсия антиоксидантного и прооксидантного действия бета-каротина в тканях *in vivo* / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Г.Г. Коновалова, А.И. Козаченко. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1999. – Т. 128, № 9. – С. 314-316.

19. Ланкин, В.З. Важная роль свободнорадикальных процессов в этиологии и патогенезе атеросклероза и сахарного диабета / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиология. – 2016. – Т. 56, №12. – С. 97-105.

20. Ланкин, В.З. Влияние атерогенных альдегидных соединений на активность антиоксидантных ферментов / В.З. Ланкин, Г.Г. Коновалова, А.К. Тихазе. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиологический вестник. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 26-30.

21. Ланкин, В.З. Ингибирование перекисления липидов и детоксикация

липоперекисей защитными ферментными системами (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза) при экспериментальном злокачественном росте / В.З. Ланкин, С.М. Гуревич. – Текст (визуальный) : непосредственный // Докл. АН СССР. – 1976. – Т. 226, № 3. – С. 705-708.

22. Ланкин, В.З. Итоги изучения патофизиологических последствий нарушения регуляции свободнорадикальных процессов: тупик или новый импульс? / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2016. – Т. 1, № 3-2 (109). – С. 160-167.

23. Ланкин, В.З. Окислительный стресс при атеросклерозе и диабете / В.З. Ланкин, М.О. Лисина, Н.Е. Арзамасцева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 140, № 1. – С. 41–43.

24. Ланкин, В.З. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиология. – 2000. – № 7. – С. 58-71.

25. Маркеры окислительного стресса, воспаления и эндотелиальной дисфункции у больных ишемической болезнью сердца с сопутствующей дислипидемией / Ю.А. Котова, А.А. Зуйкова, О.Н. Красноруцкая, В.И. Шевцова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2021. – Т. 20, № 1. – С. 39-43. DOI 10.36622/VSTU.2021.20.1.005.

26. Механизмы окислительной модификации липопротеидов низкой плотности при окислительном и карбонильном стрессах / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, В.И. Капелько [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Биохимия. – 2007. – Т. 72, № 10. – Р. 1081-1090.

27. Модели взаимосвязи сердечно-сосудистого риска, окислительного стресса и состояния сосудистой стенки: результаты одномоментного исследования пациентов с АГ и с ИБС / Ф.Т. Агеев, А.Г. Плисюк, А.Г. Овчинников [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 5964.

28. Мялина, А.Д. Влияние окислительного стресса на структуру ДНК / А.Д. Мялина, Д.И. Сидоров. – Текст (визуальный) : непосредственный // XLIX Огарёвские чтения: материалы научной конференции : в 3 частях (Саранск, 07–13 декабря 2020 года). – Саранск: Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, 2021. – С. 598-602.

29. Одинокова, О.А. Клиническая значимость исследования параметров окислительного/карбонильного стресса при сахарном диабете 2 типа: дис. ... канд. мед. наук / О.А. Одинокова. – Москва, 2019. – 196 с. – Текст (визуальный) : непосредственный.

30. Окислительный стресс вызывает увеличение жесткости артерий у больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы и сахарным диабетом 2 типа / Е.В. Оскола, А.К. Тихазе, А.Т. Шубина [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Кардиологический вестник. – 2014. – Т. 9, № 1. – С. 58-67.

31. Окислительный стресс и гемореология у больных инфарктом миокарда с сахарным диабетом 2 типа / Е.А. Корниенко, О.Ш. Ойноткинова, Е.И. Гончарова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник новых медицинских технологий // Электронное издание. – 2015. – № 4. – С. 25.

32. 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.

33. Окислительный стресс при старении / Н.К. Зенков, П.М. Кожин, А.В. Чечушков [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Успехи геронтологии. – 2020. – Т. 33, № 1. – С. 10-22. DOI 10.34922/AE. 2020. 33.1.001.

34. Осяева, М.К. Окислительный стресс при гипертермии / М.К. Осяева, А.К. Тихазе, В.З. Ланкин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2016. – Т. 1, № 3-2. – С. 124-127.

35. Плотникова, М.О. Диагностическая значимость показателей окислительного стресса у пациентов с ишемической болезнью сердца / М.О.

Плотникова, И.А. Снимщикова, С.А. Шкодкина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2022. – Т. 24, № 5. – С. 63-67. – DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-5-63-67.

36. Регуляция свободнорадикальных процессов при экспериментальной гипертермии у здоровых добровольцев и больных ишемической болезнью сердца во время волн летней жары / В.З. Ланкин, Д.Б. Вандышев, А.К. Тихазе [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Доклады академии наук СССР. – 1981. – Т. 259, № 1. – С. 229-231.

37. Рекомендации ESC по диагностике и лечению хронического коронарного синдрома. – 2019. – Текст (визуальный) : электронный. – URL: <https://scardio.ru/content/Guidelines/ESC/3757-11929-1-PB.pdf>

38. Роль окислительного стресса в патофизиологии кардиоваскулярной патологии / И.В. Демко, Е.А. Собко, И.А. Соловьева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник современной клинической медицины. – 2022. – Т. 15, № 1. – С. 107-117. DOI 10.20969/VSKM.2022.15(1).107-117.

39. Роль окислительного стресса и реологических свойств крови при остром коронарном синдроме на фоне сахарного диабета у лиц опасных профессий / О.Ш. Ойноткинова, Е.А. Корниенко, М.Р. Цукаева, Б.Л. Шкловский. – Текст (визуальный) : непосредственный // Вестник новых медицинских технологий [Электронное издание]. – 2017. – № 2. – С. 131-138.

40. Роль супероксиддисмутазы в развитии послеоперационной фибрилляции предсердий у пациентов с ишемической болезнью сердца / О.А. Рубаненко, О.В. Фатенков, С.М. Хохлунов [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2017. – Т. 22, № 3. – С. 20-24.

41. Сигнальная роль активных форм кислорода в тромбоцитах / Т.А. Прохорова, О.К. Савушкина, И.С. Бокша [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2022. – Т. 24, № 1. – С. 57-64. DOI 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-1-57-64.

42. Смирнова, М.Д. Особенности терапии сердечно-сосудистых заболеваний во время тепловых волн / М.Д. Смирнова, Ф.Т. Агеев. – Текст

(визуальный) : непосредственный // Consilium Medicum. – 2017. – Т. 19, № 10. – С. 43-48.

43. Снижение уровня окислительно модифицированных липопротеидов низкой плотности ингибитором PCSK9 у больных ишемической болезнью сердца / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, М. Вийгимаа [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Терапевтический архив. – 2018. – Т. 90, № 9. – С. 27-30.

44. Тапбергенов, С.О. Иммунный статус, система антиоксидантной защиты и ферменты метаболизма пуриновых нуклеотидов при симпатической гиперактивации / С.О. Тапбергенов, Б.С. Советов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Наука и здравоохранение. – 2017. – № 2. – С. 80-91.

45. Тихазе, А.К. Кинетика элиминирования карбонил-модифицированных липопротеинов низкой плотности из кровотока / А.К. Тихазе, С.П. Домогацкий, В.З. Ланкин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Биомедицинская химия. – 2020. – Т. 66, № 6. – С. 437-443.

46. Филиппова, М.О. Оксидативный стресс у больных фибрилляцией предсердий с постинфарктным кардиосклерозом / М.О. Филиппова, Е.А. Полунина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 65.

47. Функциональная активность нейтрофилов при сахарном диабете и ишемической болезни сердца: роль миелопероксидазы в развитии окислительного стресса / И.В. Горудко, В.А. Костевич, А.В. Соколов [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 7. – С. 28-32.

48. Фурман, Ю.В. Окислительный стресс и антиоксиданты / Ю.В. Фурман, Е.Б. Артюшкова, А.В. Аниканов. – Текст (визуальный) : непосредственный // Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания. – 2019. – № 1 (17). – С. 1-3.

49. Цейликман, В.Э. Влияние окислительного стресса на организм человека / В.Э. Цейликман, А.А. Лукин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 3-1(117). – С.

206-211. DOI 10.23670/IRJ.2022.117.3.037.

50. Чаулин, А.М. Статины и окислительный стресс при сердечно-сосудистой патологии / А.М. Чаулин, В.А. Ваньков. – Текст (визуальный) : непосредственный // Бюллетень науки и практики. – 2022. – Т. 8, № 6. – С. 398-417. – DOI 10.33619/2414-2948/79/39.

51. Шичкова, Ю.С. Роль путей клеточной сигнализации в развитии последствий окислительного стресса / Ю.С. Шичкова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Научный электронный журнал «Меридиан». – 2020. – № 3(37). – С. 6-8.

52. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G/ T and A/ C substitutions / K.C. Cheng, D.S. Cahill, H. Kasai [et al.]. – Text : visual // J. Biol. Chem. – 1992. – Vol. 267, № 1. – P. 166-172.

53. A family of novel peroxidases, peroxiredoxins / S.G. Rhee, S.W. Kang, L.E. Netto [et al.]. – Text : visual // Biofactors. – 1999. – Vol. 10, № 2-3. – P. 207-209.

54. A Preclinical Model of Exertional Heat Stroke in Mice / M.A. King, J.M. Alzahrani, T.L. Clanton [et al.]. – Text : visual // J. Vis. Exp. – 2021. – Vol. 173.

55. A synthetic cell permeable antioxidant protects neurons against acute oxidative stress / N.J. Drummond, N.O. Davies, J.E. Lovett [et al.]. – Text : visual // Sci. ReP. – 2017. – Vol. 7, № 1. – 11857.

56. Adams L. Reactive nitrogen species in cellular signaling / L. Adams, M.C. Franco, A.G. Estevez. – Text : visual // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2015. – Vol. 240, № 6. – P. 711–717.

57. Aebi, H. Catalase in vitro / H. Aebi. – Text : visual // Methods Enzymol. – 1984. – Vol. 105. – P. 121–126.

58. Aldehyde inhibition of antioxidant enzymes in blood of diabetic patients / V.Z. Lankin, G.G. Konovalova, A.K. Tikhaze [et al.]. – Text : visual // J. Diabetes. – 2016. – Vol. 8, № 3. – P. 398-404.

59. Ambient temperature and added heat wave effects on hospitalizations in California from 1999 to 2009 / T. Sherbakov, B. Malig, K. Guirguis [et al.]. – Text :

visual // Environ. Res. – 2018. – Vol. 160. – P. 83-90.

60. American College of Sports Medicine. ACSM's Guidelines for exercise testing and prescription. – 8th ed. – Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 2009. – P. 10-22. – Text : visual.

61. Analysis of Differentially Expressed Genes in Coronary Artery Disease by Integrated Microarray Analysis / M.V. Balashanmugam, T.B. Shivanandappa, S. Nagarethinam [et al.]. – Text : visual // Biomolecules. – 2019. – Vol. 10, № 1. – P. 35.

62. Antifungal metabolites as food bio-preservative: innovation, outlook, and challenges / B. Mishra, A.K. Mishra, S. Kumar [et al.]. – Text : visual // Metabolites. – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 12.

63. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress / C. Espinosa-Diez, V. Miguel, D. Mennerich [et al.]. – Text : visual // Redox Biol. – 2015. – Vol. 6. – P. 183–197.

64. Apoptosis-promoting effect of rituximab-conjugated magnetic nanoprobe on malignant lymphoma cells with CD20 overexpression / L. Song, W. Zhang, H. Chen [et al.]. – Text : visual // Int. J. Nanomedicine. – 2019. – Vol. 14. – P. 921-936.

65. Association of ESR1 (rs2234693 and rs9340799), CETP (rs708272), MTHFR (rs1801133 and rs2274976) and MS (rs185087) polymorphisms with Coronary Artery Disease (CAD) / J.K. Raina, M. Sharma, R.K. Panjaliya [et al.]. – Text : visual // BMC Cardiovasc. Disord. – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 340.

66. Associations between air temperature and cardio-respiratory mortality in the urban area of Beijing, China: a time-series analysis / L. Liu, S. Breitner, X. Pan [et al.]. – Text : visual // Environ Health. – 2011. – Vol. 10. – P. 51.

67. Autoimmune neuroinflammation triggers mitochondrial oxidation in oligodendrocytes / J. Steudler, T. Ecott, D.C. Ivan [et al.]. – Text : visual // Glia. – 2022. – Vol. 70, № 11. – P. 2045-2061.

68. Awad, M.A. Genetic Alterations in Oxidant and Anti-Oxidant Enzymes in the Vascular System / M.A. Awad, S.R. Aldosari, M.R. Abid. – Text : visual // Front. Cardiovasc. Med. – 2018. – Vol. 5. – P. 107.

69. Awasthi, A. Retrospection of heatwave and heat index / A. Awasthi, K.

Vishwakarma, K.C. Pattanyak. – Text : visual // Theor. Appl. Climatol. – 2022. – Vol. 147, № 1-2. – P. 589-604.

70. Bax and Bak regulation of endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>: A control point for apoptosis / L. Scorrano, S.A. Oakes, J.T. Opferman [et al.]. – Text : visual // Science. – 2003. – Vol. 300. – P. 135–139.

71. Bcl-2/adenovirus E1B 19 kDa-interacting protein 3 (BNIP3) expression is epigenetically regulated by onecarbon metabolism in invasive duct cell carcinoma of breast / S.M. Naushad, A. Prayaga, R.R. Digumarti [et al.]. – Text : visual // Mol. Cell Biochem. – 2012. – Vol. 361, № 1–2. – P. 189–195.

72. Berlett, B.S. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress / B.S. Berlett, E.R. Stadtman. – Text : visual // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272. – P. 20313–20316.

73. BH3-only proteins target BCL-xL/MCL-1, not BAX/BAK, to initiate apoptosis / K. Huang, K. L. O'Neill, J. Li [et al.]. – Text : visual // Cell Res. – 2019. – Vol. 29, № 11. – P. 942-952.

74. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation / R.T. Dean, S. Fu, R. Stocker, M.J. Davies. – Text : visual // Biochem. J. – 1997. – Vol. 324. – P. 1–18.

75. Biochemistry of Diabetes and Atherosclerosis. Developments in Molecular and Cellular Biochemistry / V.Z. Lankin, A.K. Tikhaze, V.V. Kukharchuk [et al.]. – Boston, MA: Springer, 2003. –188 p. – Text : visual.

76. Biomarkers of oxidative stress are associated with frailty: the Framingham Offspring Study / C.K. Liu, A. Lyass, M.G. Larson [et al.]. – Text : visual // Age (Dordr). – 2016. – Vol. 38, № 1. – P. 1.

77. Bnip3 functions as a mitochondrial sensor of oxidative stress during myocardial ischemia and reperfusion / D.A. Kubli, M.N. Quinsay, C. Huang [et al.]. – Text : visual // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2008. – Vol. 295, № 5. – P. 2025-2031.

78. Breton-Romero, R. Hydrogen peroxide signaling in vascular endothelial cells / R. Breton-Romero, S. Lamas. – Text : visual // Redox Biol. – 2014. – Vol. 2. – P. 529-

534.

79. Cardiovascular Mitochondrial Dysfunction Induced by Cocaine: Biomarkers and Possible Beneficial Effects of Modulators of Oxidative Stress / M. Graziani, P. Sarti, M. Arese [et al.]. – Text : visual // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2017. – Vol. 2017. – 3034245.

80. Cawthon, R.M. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method / R.M. Cawthon. – Text : visual // *Nucleic Acids Res.* – 2009. – Vol. 37, № 3. – P. 21.

81. Cellular glutathione, thermal sensitivity, and thermotolerance in Chinese hamster fibroblasts and their heat-resistant variants / D.C. Shrieve, G.C. Li, A. Astromoff, J.W. Harris. – Text : visual // *Cancer Res.* – 1986. – Vol. 46. – P. 1684–1687.

82. Cheng, X. Effects of climatic temperature stress on cardiovascular diseases / X. Cheng, H. Su. – Text : visual // *Eur. J. Intern. Med.* – 2010. – Vol. 21. – P. 164-167.

83. Classic and exertional heat stroke / A. Bouchama, B. Abuyassin, C. Lehe [et al.]. – Text : visual // *Nat. Rev. Dis. Primers.* – 2022. – Vol. 8, № 1. – P. 8.

84. Climatic influences on cardiovascular diseases / M.G. Abrignani, A. Lombardo, A. Braschi [et al.]. – Text : visual // *World J. Cardiol.* – 2022. – Vol. 14, № 3. – P. 152-169.

85. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress / J. Frijhoff, P. G. Winyard, N. Zarkovic [et al.]. – Text : visual // *Antioxid Redox Signal.* – 2015. – Vol. 23, № 14. – P. 1144–1170.

86. Cold and heat waves in the United States / A.G. Barnett, S. Hajat, A. Gasparri, J. Rocklöv. – Text : visual // *Environ. Res.* – 2012. – Vol. 112. – P. 218–224.

87. Comparison of oxidative stress biomarkers in hypertensive patients with or without hyperhomocysteinemia / G. Guo, W. Sun, G. Liu [et al.]. – Text : visual // *Clin. Exp. Hypertens.* – 2018. – Vol. 40, № 3. – P. 262-266.

88. Copper induces oxidative stress and apoptosis through mitochondria-mediated pathway in chicken hepatocytes / F. Yang, R. Pei, Z. Zhang [et al.]. – Text : visual //

Toxicol. In Vitro. – 2019. – Vol. 54. – P. 310-316.

89. Cross-talk between one-carbon metabolism and xenobiotic metabolism: implications on oxidative DNA damage and susceptibility to breast cancer / S.M. Naushad, C.A. Reddy, Y. Rupasree [et al.]. – Text : visual // Cell Biochem Biophys. – 2011. – Vol. 61, № 3. – P. 715–723.

90. Determinants and clinical significance of plasma oxidized LDLs in older individuals. A 9 years follow-up study / G. Zuliani, M.L. Morieri, S. Volpato [et al.]. – Text : visual // Atherosclerosis. – 2013. – Vol. 226, № 1. – P. 201–207.

91. Dietary folate intake and metabolic syndrome in participants of PREDIMED-Plus study: a cross-sectional study / E.M. Navarrete-Muñoz, J. Vioque, E. Toledo [et al.]. – Text : visual // Eur. J. Nutr. – 2021. – Vol. 60, № 2. – P. 1125-1136.

92. Direct control of store-operated calcium channels by ultrafast laser / P. Cheng, X. Tian, W. Tang [et al.]. – Text : visual // Cell Res. – 2021. – Vol. 31, № 7. – P. 758-772.

93. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endotheliumdependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB / A.J. Donato, I. Eskurza, A.E. Silver [et al.]. – Text : visual // Circ Res. – 2007. – Vol. 100, № 11. – P. 1659–1666.

94. Does particulate matter modify the short-term association between heat waves and hospital admissions for cardiovascular diseases in Greater Sydney, Australia? / M. Parry, D. Green, Y. Zhang [et al.]. – Text : visual // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2019. – Vol. 16, № 18. – P. 3270.

95. Droge, W. Free radicals in the physiological control of cell function / W. Droge. – Text : visual // Physiol Rev. – 2002. – Vol. 82. – P. 47–95.

96. Effect of dietary 4-phenylbutyric acid supplementation on acute heat-stress-induced hyperthermia in broiler chickens / Y. Tokutake, R. Takanashi, M. Kikusato [et al.]. – Text : visual // Animals (Basel). – 2022. – Vol. 12, № 16. – P. 2056.

97. Effect of physical exercise under different intensity and antioxidative supplementation for plasma superoxide dismutase in healthy adults: systematic review and network meta-analysis / Y. Xu, M. Liang, U.C. Ugbolue [et al.]. – Text : visual //

Front. Physiol. – 2022. – Vol. 13. – P. 707176.

98. Effects of different types of chronic training on bioenergetic profile and reactive oxygen species production in LHCN-M2 human myoblast cells / A. Mancini, D. Vitucci, G. Labruna [et al.]. – Text : visual // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, № 14. – P. 7491.

99. Effects of extreme temperatures on years of life lost for cardiovascular deaths: a time series study in Brisbane, Australia / C. Huang, A.G. Barnett, X. Wang, S. Tong. – Text : visual // Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes. – 2012. – Vol. 5. – P. 609–614.

100. Effects of heat stress on animal physiology, metabolism, and meat quality: A review / P.A. Gonzalez-Rivas, S.S. Chauhan, M. Ha [et al.]. – Text : visual // Meat Sci. – 2020. – Vol. 162. – P. 108025.

101. Effects of Hyperthermia on TRPV1 and TRPV4 Channels Expression and Oxidative Markers in Mouse Brain / A. Aghazadeh, M.A.H. Feizi, L.M. Fanid [et al.]. – Text : visual // Cell Mol. Neurobiol. – 2021. – Vol. 41, № 7. – P. 1453-1465.

102. Effects of short-term heat acclimation on whole-body heat exchange and local nitric oxide synthase- and cyclooxygenase-dependent heat loss responses in exercising older men / N. Fujii, G.W. McGarr, S.R. Notley [et al.]. – Text : visual // Exp. Physiol. – 2021. – Vol. 106, № 2. – P. 450-462.

103. Electron transport chain in a thermotolerant yeast / J.A. Mejía-Barajas, J.A. Martínez-Mora, R. Salgado-Garciglia [et al.]. – Text : visual // J. Bioenerg. Biomembr. – 2017. – Vol. 49, № 2. – P. 195-203.

104. Elevated serum levels of advanced glycation end products and their monocyte receptors in patients with type 2 diabetes / X.D. Su, S.S. Li, Y.Q. Tian [et al.]. – Text : visual // Arch. Med. Res. – 2011. – Vol. 42, № 7. – P. 596–601.

105. Embryonic thermal manipulation impacts the postnatal transcriptome response of heat-challenged Japanese quails / A. Vitorino Carvalho, C. Hennequet-Antier, A. Brionne [et al.]. – Text : visual // BMC Genomics. – 2021. – Vol. 22, № 1. – P. 488.

106. Emergency ambulance dispatches and apparent temperature: a time series analysis in Emilia-Romagna, Italy / E. Alessandrini, S. Zauli Sajani, F. Scotto [et al.]. –

Text : visual // Environ. Res. – 2011. – Vol. 111. – P. 1192– 1200.

107. Emergency department visits, ambulance calls, and mortality associated with an exceptional heat wave in Sydney, Australia, 2011: a time-series analysis / A. Schaffer, D. Muscatello, R. Broome [et al.]. – Text : visual // Environ. Health. – 2012. – Vol. 11, № 1. – P. 3.

108. Energy substrate metabolism and mitochondrial oxidative stress in cardiac ischemia/reperfusion injury / M. Dambrova, C.J. Zuurbier, V. Borutaite [et al.]. – Text : visual // Free Radic. Biol. Med. – 2021. – Vol. 165. – P. 24-37.

109. England, K. Carbonylation of glycolytic proteins is a key response to drug-induced oxidative stress and apoptosis / K. England, C. O’Driscoll, T.G. Cotter. – Text : visual // Cell Death Differ. – 2004. – Vol. 11. – P. 252–260.

110. Environmental temperature and exercise-induced blood oxidative stress / J. Quindry, L. Miller, G. McGinnis [et al.]. – Text : visual // Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. – 2013. – Vol. 23, № 2. – P. 128-136.

111. Enzymatic detoxication of superoxide anion-radical and lipoperoxides in intima and media of atherosclerotic aorta / V.Z. Lankin, A.M. Vikhert, V.A. Kosykh [et al.]. – Text : visual // Biomed. Biochim. Acta. – 1984. – Vol. 43, № 6. – P. 797-802.

112. Epidemiology of Coronary Artery Disease / J.P. Duggan, A.S. Peters, G.D. Trachiotis [et al.]. – Text : visual // Surg. Clin. North. Am. – 2022. – Vol. 102, № 3. – P. 499-516.

113. Epidemiology of peripheral artery disease in Europe: VAS Educational Paper / D.M. Olinic, M. Spinu, M. Olinic [et al.]. – Text : visual // Int. Angiol. – 2018. – Vol. 37, № 4. – P. 327-334.

114. Epistatic interactions between loci of one-carbon metabolism modulate susceptibility to breast cancer / S.M. Naushad, A. Pavani, R.R. Digumarti [et al.]. – Text : visual // Mol. Biol. Rep. – 2011. – Vol. 38, № 8. – P. 4893–4901.

115. Excess cardiovascular mortality associated with cold spells in the Czech Republic / J. Kysely, L. Pokorna, J. Kyncl, B. Kriz. – Text : visual // BMC Public Health. - 2009. – Vol. 9. – P. 19.

116. Exercise-induced dehydration with and without environmental heat stress

results in increased oxidative stress / A.R. Hillman, R.V. Vince, L. Taylor [et al.]. – Text : visual // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* – 2011. – Vol. 36, № 5. – P. 698-706.

117. Extreme high temperatures and hospital admissions for respiratory and cardiovascular diseases / S. Lin, M. Luo, R.J. Walker [et al.]. – Text : visual // *Epidemiology.* – 2009. – Vol. 20. – P. 738–746.

118. Flanagan, S.W. Increased flux of free radicals in cells subjected to hyperthermia: Detection by electron paramagnetic resonance spin trapping / S.W. Flanagan, P. L. Moseley, G.R. Buttner. – Text : visual // *FEBS Lett.* – 1998. – Vol. 431. – P. 285–286.

119. Flores-Romero, H. Pore formation in regulated cell death / H. Flores-Romero, U. Ros, A.J. Garcia-Saez. – Text : visual // *EMBO J.* – 2020. – Vol. 39, № 23. – P. e105753.

120. Folic acid or combination of folic acid and vitamin B (12) prevents short-term arsenic trioxide-induced systemic and mitochondrial dysfunction and DNA damage / S. Majumdar, S. Mukherjee, A. Maiti [et al.]. – Text : visual // *Environ. Toxicol.* – 2009. – Vol. 24, № 4. – P. 377–387.

121. Fontana, J. Biological Markers of Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: After so Many Studies, What do We Know? / J. Fontana, M. Zima, V. Vetvicka. – Text : visual // *Immunol. Invest.* – 2018. – Vol. 47, № 8. – P. 823-843.

122. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer / M. Valko, C. Rhodes, J. Moncol [et al.]. – Text : visual // *Chem. Biol. Interact.* – 2006. – Vol. 160. – P. 1–40.

123. Functional complementation in yeast reveals a protective role of chloroplast 2-Cys peroxiredoxin against reactive nitrogen species / A. Sakamoto, S. Tsukamoto, H. Yamamoto [et al.]. – Text : visual // *Plant J.* – 2003. – Vol. 33. – P. 841–851.

124. Genes associated with inflammation may serve as biomarkers for the diagnosis of coronary artery disease and ischaemic stroke / P.F. Zheng, F.J. Liao, R.X. Yin [et al.]. – Text : visual // *Lipids. Health Dis.* – 2020. – Vol. 19, № 1. – P. 37.

125. Genestra, M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and

antioxidants / M. Genestra. – Text : visual // *Cell Signal.* – 2007. – Vol. 19, № 9. – P. 1807–1819.

126. Genetic and environmental influences on total plasma homocysteine and its role in coronary artery disease risk / M. Ghassibe-Sabbagh, D.E. Platt, S. Youhanna [et al.]. – Text : visual // *Atherosclerosis.* – 2012. – Vol. 222, № 1. – P. 180–186.

127. Girotti, A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems / A.W. Girotti. – Text : visual // *J. Lipid Res.* – 1998. – Vol. 39. – P. 1529–1542.

128. Goel, A. Heat stress management in poultry / A. Goel. – Text : visual // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl).* – 2021. – Vol. 105, № 6. – P. 1136-1145.

129. Green, D.R. The pathophysiology of mitochondrial cell death / D.R. Green, G. Kroemer. – Text : visual // *Science.* – 2004. – Vol. 305. – P. 626–629.

130. Guo, Y. Effects of temperature on mortality in Chiang Mai city, Thailand: a time series study / Y. Guo, K. Punnasiri, S. Tong. – Text : visual // *Environ. Health.* – 2012. – Vol. 11. – P. 36.

131. Hata, J. Epidemiology of stroke and coronary artery disease in Asia / J. Hata, Y. Kiyohara. – Text : visual // *Circ. J.* – 2013. – Vol. 77, № 8. – P. 1923-32.

132. He, L. Regulated and unregulated mitochondrial permeability transition pores: A new paradigm of pore structure and function / L. He, J.J. Lemasters. – Text : visual // *FEBS Lett.* – 2002. – Vol. 512. – P. 1–7.

133. Health impacts of the July 2010 heat wave in Québec, Canada / R. Bustinza, G. Lebel, P. Gosselin [et al.]. – Text : visual // *BMC Public Health.* – 2013. – Vol. 13. – P. 56.

134. Heat stress aggravates oxidative stress, apoptosis, and endoplasmic reticulum stress in the cerebellum of male C57 mice / H. Oghbaei, L. Hosseini, F. Farajdokht [et al.]. – Text : visual // *Mol. Biol. Rep.* – 2021. – Vol. 48, № 8. – P. 5881-5887.

135. Heat stress as an innovative approach to enhance the antioxidant production in *Pseudoaerobicola* and *Bacillus* isolates / A.H.A. Hassan, W.N. Hozzein, A.S.M. Mousa [et al.]. – Text : visual // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 15076.

136. Heat stress causes dysfunctional autophagy in oxidative skeletal muscle / A.J. Brownstein, S. Ganesan, C.M. Summers [et al.]. – Text : visual // *Physiol. Rep.* – 2017. – Vol. 5, № 12. – P. e13317.

137. Heat wave characteristics, mortality and effect modification by temperature zones: a time-series study in 130 counties of China / Z. Sun, C. Chen, M. Yan [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Epidemiol.* – 2021. – Vol. 49, № 6. – P. 1813-1822.

138. Heat wave intensity and daily mortality in four of the largest cities of Spain / D. Royé, R. Codesido, A. Tobías [et al.]. – Text : visual // *Environ. Res.* – 2020. – Vol. 182. – P. 109027.

139. Heme biosynthesis depends on previously unrecognized acquisition of iron-sulfur cofactors in human amino-levulinic acid dehydratase / G. Liu, D. Sil, N. Maio [et al.]. – Text : visual // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 6310.

140. High ambient temperature exposure during late gestation disrupts glycolipid metabolism and hepatic mitochondrial function tightly related to gut microbial dysbiosis in pregnant mice / J. He, R. Liu, W. Zheng [et al.]. – Text : visual // *Microb. Biotechnol.* – 2021. – Vol. 14, № 5. – P. 2116-2129.

141. Highly oxidized low-density lipoprotein mediates activation of monocytes but does not confer interleukin-1 $\beta$  secretion nor interleukin-15 transpresentation function / S.F. Sieg, D.A. Bazdar, D. Zidar [et al.]. – Text : visual // *Immunology.* – 2020. – Vol. 159, № 2. – P. 221-230.

142. Hirsch, G.E. Inflammation, oxidative stress and altered heat shock response in type 2 diabetes: the basis for new pharmacological and non-pharmacological interventions / G.E. Hirsch, T.G. Heck. – Text : visual // *Arch. Physiol. Biochem.* – 2022. – Vol. 128, № 2. – P. 411-425.

143. HO-1 reduces heat stress-induced apoptosis in bovine granulosa cells by suppressing oxidative stress / Y. Wang, C. Yang, N.A.H. Elsheikh [et al.]. – Text : visual // *Aging (Albany NY).* – 2019. – Vol. 11, № 15. – P. 5535-5547.

144. Homocysteine Is Associated With Future Venous Thromboembolism in 2 Prospective Cohorts of Women / A.W. Aday, E.K. Duran, M. Van Denburgh [et al.]. – Text : visual // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2021. – Vol. 41, № 7. – P. 2215-

2224.

145. Huang, J. The lag effects and vulnerabilities of temperature effects on cardiovascular disease mortality in a subtropical climate zone in China / J. Huang, J. Wang, W. Yu. – Text : visual // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2014. – Vol. 11. – P. 3982–3994.

146. Hyperthermia increases HSP production in human PDMCs by stimulating ROS formation, p38 MAPK and Akt signaling, and increasing HSF1 activity / J.F. Liu, P.C. Chen, T.Y. Ling [et al.]. – Text : visual // *Stem. Cell. Res. Ther.* – 2022. – Vol. 13, № 1. – P. 236.

147. Hyperthermia induces injury to the intestinal mucosa in the mouse: evidence for an oxidative stress mechanism / S.R. Oliver, N.A. Phillips, V.L. Novosad [et al.]. – Text : visual // *Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2012. – Vol. 302, № 7. – P. 845-853.

148. Hyperthermia stimulates nitric oxide formation: Electron paramagnetic resonance detection of .NO-heme in blood / D.M. Hall, G.R. Buettner, R.D. Matthes, C.V. Gisolfi. – Text : visual // *J. Appl. Physiol.* – 1994. – Vol. 77. – P. 548–553.

149. Impact of heat on mortality in 15 European cities: attributable deaths under different weather scenarios M. / Baccini, T. Kosatsky, A. Analitis [et al.]. – Text : visual // *J. Epidemiol. Community Health*. – 2011. – Vol. 65. – P. 64–70.

150. Impacts of heat stress on immune responses and oxidative stress in farm animals and nutritional strategies for amelioration / S.S. Chauhan, V.P. Rashamol, M. Bagath [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Biometeorol.* – 2021. – Vol. 65, № 7. – P. 1231-1244.

151. Impacts of hot and cold spells differ for acute and chronic ischaemic heart diseases / H. Davidkovova, E. Plavcova, J. Kyncl, J. Kysely. – Text : visual // *BMC Public Health*. – 2014. – Vol. 14. – P. 480.

152. Improving public health responses to extreme weather/heat-waves – EuroHEAT Technical summary / World Health Organization. – 2009. – Text : electronic. – URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/107935>

153. Inhibition of peroxidases and oxidoreductases is crucial for avoiding false-

positive reactions in the localization of reactive oxygen species in intact barley root tips / V. Kalentovičová, L. Demecsová, Ľ. Liptáková [et al.]. – Text : visual // *Planta*. – 2022. – Vol. 255, № 3. – P. 69.

154. Iñiguez, C. Data supporting the short-term health effects of temperature and air pollution in Valencia, Spain / C. Iñiguez, F. Ballester, A. Tobias. – Text : visual // *Data Brief*. – 2022. – Vol. 44. – P. 108518.

155. Innate immune receptors, key actors in cardiovascular diseases / R.I. Jaén, A. Val-Blasco, P. Prieto [et al.]. – Text : visual // *JACC Basic Transl. Sci*. – 2020. – Vol. 5, № 7. – P. 735-749.

156. Interactions of 50-UTR thymidylate synthase polymorphism with 677C/T methylene tetrahydrofolate reductase and 66A/G methyltetrahydrofolate homocysteine methyl-transferase reductase polymorphisms determine susceptibility to coronary artery disease / S.V. Lakshmi, S.M. Naushad, Y. Rupasree [et al.]. – Text : visual // *J. Atheroscler. Thromb*. – 2011. – Vol. 18, № 1. – P. 56–64.

157. Involvement of oxidative stress and mitogen-activated protein kinase signaling pathways in heat stress-induced injury in the rat small intestine / J. Yu, F. Liu, P. Yin [et al.]. – Text : visual // *Stress*. – 2013. – Vol. 16, № 1. – P. 99-113.

158. Ion transport mechanisms for smoke inhalation-injured airway epithelial barrier / J. Chang, Z. Chen, R. Zhao [et al.]. – Text : visual // *Cell Biol. Toxicol*. – 2020. – Vol. 36, № 6. – P. 571-589.

159. Ischiropoulos, H. Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications / H. Ischiropoulos, A.B. Al Mehdi. – Text : visual // *FEBS Lett*. – 1995. – Vol. 364. – P. 279–282.

160. Jacobs, P.J. Heat and dehydration induced oxidative damage and antioxidant defenses following incubator heat stress and a simulated heat wave in wild caught four-striped field mice *Rhabdomys dilectus* / P.J. Jacobs, M.K. Oosthuizen, C. Mitchell [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2020. – Vol. 15, № 11. – e0242279.

161. Jedelská, T. Thioredoxins: Emerging Players in the Regulation of Protein S-Nitrosation in Plants / T. Jedelská, L. Luhová, M. Petřivalský. – Text : visual // *Plants (Basel)*. – 2020. – Vol. 9, № 11. – P. 1426.

162. Karolczak, K. Melatonin as a Reducer of Neuro- and Vasculotoxic Oxidative Stress Induced by Homocysteine / K. Karolczak, C. Watala. – Text : visual // Antioxidants (Basel). – 2021. – Vol. 10, № 8. – P. 1178.

163. Kikusato, M. Crucial role of membrane potential in heat stress-induced overproduction of reactive oxygen species in avian skeletal muscle mitochondria / M. Kikusato, M. Toyomizu. – Text : visual // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – P. e64412.

164. Kim, C.H. Control of lymphocyte functions by gut microbiota-derived short-chain fatty acids / C.H. Kim. – Text : visual // Cell Mol. Immunol. – 2021. – Vol. 18, № 5. – P. 1161-1171.

165. Kirkinezos, I.G. Reactive oxygen species and mitochondrial diseases / I.G. Kirkinezos, T. Moraes. – Text : visual // Cell Dev Biol. – 2001. – Vol. 12. – P. 449–457.

166. Kroemer, G. Mitochondrial control of cell death / G. Kroemer, J.C. Reed. – Text : visual // Nat. Med. – 2000. – Vol. 6. – P. 513–519.

167. Lankin, V.Z. Free radical lipoperoxidation during atherosclerosis and antioxidative therapy of this disease / V.Z. Lankin, A.K. Tikhaze. – Text : visual // Free Radicals, Nitric Oxide and Inflammation: Molecular, Biochemical and Clinical Aspects / eds.: T. Özben, A. Tomasi, V.P. Skulachev. – Amsterdam: IOS Press, 2003. – P. 344.

168. Lankin, V.Z. Free radicals, nitric oxide, and inflammation: molecular, biochemical, and clinical aspects / V.Z. Lankin, A.K. Tikhaze. – Text : visual // Free Radicals, Nitric Oxide and Inflammation: Molecular, Biochemical and Clinical Aspects / eds.: T. Özben, A. Tomasi, V.P. Skulachev. – Amsterdam: IOS Press, NATO Science Series, 2003. – Vol. 344. – P. 264.

169. Lankin, V.Z. Hydroperoxy- and hydroxyderivatives of free unsaturated fatty acids and phospholipids as modifiers of liposomal membrane structure / V.Z. Lankin, I.G. Osis, A.K. Tikhaze. – Text : visual // Dokl. Biochem. – 1996. – Vol. 351, № 2. – P. 269-271.

170. Lankin, V.Z. Modeling the cascade of enzymatic reactions in liposomes including successive free radical peroxidation, reduction and hydrolysis of phospholipid polyenoic acyls for studying the effect of these processes on the structuraldynamic parameters of the membranes / V.Z. Lankin, A.K. Tikhaze, Y.G. Osis. – Text : visual //

Biochemistry (Moscow). – 2002. – Vol. 67, № 5. – P. 566-574.

171. Lankin, V.Z. Role of Oxidative Stress in the Genesis of Atherosclerosis and Diabetes Mellitus: A Personal Look Back on 50 Years of Research / V.Z. Lankin, A.K. Tikhaze. – Text : visual // *Curr. Aging Sci.* – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 18-25.

172. Lankin, V.Z. The important role of free radical processes in the ethology and pathogenesis of atherosclerosis and diabetes mellitus / V.Z. Lankin, A.K. Tikhaze. – Text : visual // *Kardiologija*. – 2016. – Vol. 56, № 12. – P. 97-105.

173. Leyane, T.S. Oxidative stress in ageing and chronic degenerative pathologies: molecular mechanisms involved in counteracting oxidative stress and chronic inflammation / T.S. Leyane, S.W. Jere, N.N. Houreld. – Text : visual // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, № 13. – P. 7273.

174. Li, J.J. Overexpression of manganese-containing superoxide dismutase confers resistance to the cytotoxicity of tumor necrosis factor alpha and/or hyperthermia / J.J. Li, L.W. Oberley. – Text : visual // *Cancer Res.* – 1997. – Vol. 57. – P. 1991–1998.

175. Lin, H.C. S-Adenosylhomocysteine enhances DNA damage through increased b-amyloid formation and inhibition of the DNA-repair enzyme OGG1b in microglial BV-2 cells / H.C. Lin, T.Y. Song, M.L. Hu. – Text : visual // *Toxicology*. – 2011. – Vol. 290, № 2–3. – P. 342–349.

176. Localization of 28-kDa peroxiredoxin in rat epithelial tissues and its antioxidant properties / S.V. Novoselov, I.V. Peshenko, V.I. Popov [et al.]. – Text : visual // *Cell Tissue Res.* – 1999. – Vol. 298, № 3. – P. 471-480.

177. Long-Term Association of Low-Density Lipoprotein Cholesterol With Cardiovascular Mortality in Individuals at Low 10-Year Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease / S.M. Abdullah, L.F. Defina, D. Leonard [et al.]. – Text : visual // *Circulation*. – 2018. – Vol. 138, № 21. – P. 2315-2325.

178. Majeed, H. Warmer summer nocturnal surface air temperatures and cardiovascular disease death risk: a population-based study / H. Majeed, J.S. Floras. – Text : visual // *BMJ Open*. – 2022. – Vol. 12, № 3. – P. e056806.

179. Marelli-Berg, F.M. Immunometabolic cross-talk in the inflamed heart / F.M. Marelli-Berg, D. Aksentijevic. – Text : visual // *Cell Stress*. – 2019. – Vol. 3, № 8.

– P. 240-266.

180. Markers of oxidative stress in dogs with heart failure / B. Verk, A. Nemec Svete, J. Salobir [et al.]. – Text : visual // J. Vet. Diagn. Invest. – 2017. – Vol. 29, № 5. – P. 636-644.

181. Marrocco, I. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans / I. Marrocco, F. Altieri, I. Peluso. – Text : visual // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2017. – Vol. 2017. – P. 6501046.

182. Martinaitiene, D. Effects of changes in seasonal weather patterns on the subjective well-being in patients with CAD enrolled in cardiac rehabilitation / D. Martinaitiene, N. Raskauskiene. – Text : visual // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2022. – Vol. 19, № 9. – P. 4997.

183. McGeehin, M.A. The potential impacts of climate variability and change on temperature-related morbidity and mortality in the United States / M.A. McGeehin, M. Mirabelli. – Text : visual // Environmental Health Perspectives. – 2001. – Vol. 109, № 2. – P. 185-189.

184. Mechanisms and consequences of endothelial cell senescence / S.I. Bloom, M.T. Islam, L.A. Lesniewski [et al.]. – Text : visual // Nat. Rev. Cardiol. – 2022.

185. Mechanoresponsive diselenide-crosslinked microgels with programmed ultrasound-triggered degradation and radical scavenging ability for protein protection / T. Kharandiuk, K.H. Tan, W. Xu [et al.]. – Text : visual // Chem. Sci. – 2022. – Vol. 13, № 38. – P. 11304-11311.

186. Meehl, G.A. More intense, more frequent and longer lasting heat waves in the 21st century / G.A. Meehl, C. Tebaldi. – Text : visual // Science. – 2004. – Vol. 305. – P. 994–997.

187. Metformin improved oxidized low-density lipoprotein-impaired mitochondrial function and increased glucose uptake involving Akt-AS160 pathway in raw264.7 macrophages / X. He, L. Wang, X.F. Chen [et al.]. – Text : visual // Chin. Med. J. (Engl). – 2019. – Vol. 132, № 14. – P. 1713-1722.

188. Methylation of BNIP3 in pancreatic cancer inhibits the induction of mitochondrial-mediated tumor cell apoptosis / Y. Li, X. Zhang, J. Yang [et al.]. – Text :

visual // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 38. – P. 63208-63222.

189. Mikami, T. Preconditioning with whole-body or regional hyperthermia attenuates exercise-induced muscle damage in rodents / T. Mikami, H. Yamauchi. – Text : visual // *Physiol. Res.* – 2022. – Vol. 71, № 1. – P. 125-134.

190. Mitochondrial oxidative damage in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress / A. Mujahid, N.R. Pumford, W. Bottje [et al.]. – Text : visual // *J. Poult. Sci.* – 2007. – Vol. 44. – P. 439-445.

191. Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling / D.M. Rhoads, A.L. Umbach, C.C. Subbiah, J.N. Siedow. – Text : visual // *Plant. Physiol.* – 2006. – Vol. 141. – P. 357–366.

192. Mitochondrial-targeted antioxidant supplementation for improving age-related vascular dysfunction in humans: A study protocol / K.O. Murray, M. Berryman-Maciel, S. Darvish [et al.]. – Text : visual // *Front. Physiol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 980783.

193. Mitochondria-mediated pathway regulates C2C12 cell apoptosis induced by fluoride / P.P. Tan, B.H. Zhou, W.P. Zhao [et al.]. – Text : visual // *Biol. Trace. Elem. Res.* – 2018. – Vol. 185, № 2. – P. 440-447.

194. Modulation of reactive oxygen species homeostasis as a pleiotropic effect of commonly used drugs / C. Thomas, L. Wurzer, E. Malle [et al.]. – Text : visual // *Front. Aging.* – 2022. – Vol. 3. – P. 905261.

195. NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species production activates hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) via the ERK pathway after hyperthermia treatment / E.J. Moon, P. Sonveaux, P.E. Porporato [et al.]. – Text : visual // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 107. – P. 20477–20482.

196. Nitric oxide contributes to protein homeostasis by S-nitrosylations of the chaperone HSPA8 and the ubiquitin ligase UBE2D / L. Valek, J. Heidler, R. Scheving [et al.]. – Text : visual // *Redox. Biol.* – 2019. – Vol. 20. – P. 217-235.

197. Nitric oxide inhibits electron transfer and increases superoxide radical production in rat heart mitochondria and submitochondrial particles / J.J. Poderoso, M.C. Carreras, C. Lisdero [et al.]. – Text : visual // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1996. –

Vol. 328. – P. 85–92.

198. Non-optimum temperature increases risk and burden of acute myocardial infarction onset: A nationwide case-crossover study at hourly level in 324 Chinese cities / Y. Jiang, J. Hu, L. Peng [et al.]. – Text : visual // E. Clinical. Medicine. – 2022. – Vol. 50. – P. 101501.

199. Novel biomarkers for cardiovascular risk prediction / J. Wang, G.J. Tan, L.N. Han [et al.]. – Text : visual // J. Geriatr. Cardiol. – 2017. – Vol. 14, № 2. – P. 135–150.

200. Oncogenic Ras upregulates NADPH oxidase 1 gene expression through MEK-ERK-dependent phosphorylation of GATA-6 / Y. Adachi, Y. Shibai, J. Mitsushita [et al.]. – Text : visual // Oncogene. – 2008. – Vol. 27. – P. 4921–4932.

201. Oxidant-induced Interprotein Disulfide Formation in Cardiac Protein DJ-1 Occurs via an Interaction with Peroxiredoxin 2 / M. Fernandez-Caggiano, E. Schroder, H.J. Cho [et al.]. – Text : visual // J. Biol. Chem. – 2016. – Vol. 291, № 19. – P. 10399–10410.

202. Oxidation of cardiac myofilament proteins: Priming for dysfunction? / F. Cuello, I. Wittig, K. Lorenz, P. Eaton. – Text : visual // Mol. Aspects. Med. – 2018. – Vol. 63. – P. 47–58.

203. Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U.M. Sahiner, C. Sackesen [et al.]. – Text : visual // World Allergy Organ J. – 2012. – Vol. 5, № 1. – P. 9–19.

204. Oxidative Stress in Atherosclerosis / A.J. Kattoor, N.V.K. Pothineni, D. Palagiri, J.L. Mehta. – Text : visual // Curr. Atheroscler. ReP. – 2017. – Vol. 19, № 11. – P. 42.

205. Oxidative stress in coronary artery disease: epigenetic perspective / S.V. Lakshmi, S.M. Naushad, C.A. Reddy [et al.]. – Text : visual // Mol Cell Biochem. – 2013. – Vol. 374, № 1–2. – P. 203–211.

206. Oxidative stress in response to heat stress in wild caught Namaqua rock mice, *Micaelamys namaquensis* / P.J. Jacobs, M.K. Oosthuizen, C. Mitchell [et al.]. – Text : visual // J. Therm. Biol. – 2021. – Vol. 98. – P. 102958.

207. Oxidative stress is associated with genetic polymorphisms in one-carbon metabolism in coronary artery disease / V.S.V. Lakshmi, S.M. Naushad, D. Seshagiri Rao, V.K. Kutala. – Text : visual // *Cell Biochem. Biophys.* – 2011. – Vol. 67, № 2. – P. 353-361.

208. Oxidative stress, aging, and diseases / I. Liguori, G. Russo, F. Curcio [et al.]. – Text : visual // *Clin Interv Aging.* – 2018. – Vol. 26. – P. 757-772.

209. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases / A. Trpkovic, I. Resanovic, J. Stanimirovic [et al.]. – Text : visual // *Crit Rev Clin Lab Sci.* – 2015. – Vol. 52, № 2. – P. 70–85.

210. Paglia, D.E. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase / D.E. Paglia, W.N. Valentine. – Text : visual // *J. Lab. Clin. Med.* – 1967. – Vol. 70, № 1. – P. 158-167.

211. Panda, P. Biomarkers of oxidative stress tethered to cardiovascular diseases / P. Panda, H.K. Verma, S. Lakkakula. – Text : visual // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2022. – Vol. 2022. – P. 9154295.

212. Paradoxical role of C1561T glutamate carboxypeptidase II (GCPII) genetic polymorphism in altering disease susceptibility / S. Divyaya, S.M. Naushad, A. Addlagatta [et al.]. – Text : visual // *Gene.* – 2012. – Vol. 497, № 2. – P. 273–279.

213. Peroxiredoxins-The Underrated Actors during Virus-Induced Oxidative Stress / I.L. Karpenko, V.T. Valuev-Elliston, O.N. Ivanova [et al.]. – Text : visual // *Antioxidants (Basel).* – 2021. – Vol. 10, № 6. – P. 977.

214. Phaniendra, A. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases / A. Phaniendra, D.B. Jestadi, L. Periyasamy. – Text : visual // *Indian J. Clin. Biochem.* – 2015. – Vol. 30, № 1. – P. 11–26.

215. Physicochemical and biological impact of metal-catalyzed oxidation of IgG1 monoclonal antibodies and antibody-drug conjugates via reactive oxygen species / Z.K. Glover, A. Wecksler, B. Aryal [et al.]. – Text : visual // *MAbs.* – 2022. – Vol. 14, № 1. – P. 2122957.

216. Pisoschi, A.M. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review / A.M. Pisoschi, A. Pop. – Text : visual // *Eur. J. Med. Chem.* – 2015. – Vol.

97. – P. 55–74.

217. Pivotal role of reactive oxygen species as intracellular mediators of hyperthermia-induced apoptosis / D. Katschinski, K. Boos, S. Schindler, J. Fandrey. – Text : visual // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 28. – P. 21094–21098.

218. Plasma oxidized low-density lipoprotein levels and arterial stiffness in older adults: the health, aging, and body composition study / T.E. Brinkley, B.J. Nicklas, A.M. Kanaya [et al.]. – Text : visual // *Hypertension.* – 2009. – Vol. 53, № 5. – P. 846-852.

219. Pobezhimova, T. Inactivation of complex I of the respiratory chain of maize mitochondria incubated in vitro by elevated temperature / T. Pobezhimova, V. Voinikov, N. Varakina. – Text : visual // *J. Therm. Biol.* – 1996. – Vol. 5. – P. 283–288.

220. Pogribny, I.P. Molecular alterations in hepatocarcinogenesis induced by dietary methyl deficiency / I.P. Pogribny, S.J. James, F.A. Beland. – Text : visual // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2012. – Vol. 56, № 1. – P. 116–125.

221. Poppek, D. Proteosomal defense of oxidative protein modifications / D. Poppek, T. Grune. – Text : visual // *Antioxid. Redox Signal.* – 2006. – Vol. 8. – P. 173–184.

222. Potential risk modifications of GSTT1, GSTM1 and GSTP1 (glutathione-S-transferases) variants and their association to CAD in patients with type-2 diabetes / T. Ramprasath, P. Senthil Murugan, A.D. Prabakaran. – Text : visual // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2011. – Vol. 407, № 1. – P. 49–53.

223. Radical oxygen species, exercise and aging: an update / M.A. Bouzid, E. Filaire, A. McCall, C. Fabre. – Text : visual // *Sports Med.* – 2015. – Vol. 45, № 9. – P. 1245–1261.

224. Ralapanawa, U. Epidemiology and the magnitude of coronary artery disease and acute coronary syndrome: a narrative review / U. Ralapanawa, R. Sivakanesan. – Text : visual // *J. Epidemiol. Glob. Health.* – 2021. – Vol. 11, № 2. – P. 169-177.

225. Ramzan, F. Epigenetics, microRNA and metabolic syndrome: a comprehensive review / F. Ramzan, M.H. Vickers, R.F. Mithen. – Text : visual // *Int. J.*

Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, № 9. – P. 5047.

226. Reactive oxygen species differentially modulate the metabolic and transcriptomic response of endothelial cells / N. Müller, T. Warwick, K. Noack [et al.]. – Text : visual // Antioxidants (Basel). – 2022. – Vol. 11, № 2. – P. 434.

227. Reactive oxygen species mediate heat stress-induced apoptosis via ERK dephosphorylation and Bcl-2 ubiquitination in human umbilical vein endothelial cells / L. Li, H. Tan, H. Yang [et al.]. – Text : visual // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, № 8. – P. 12902-12916.

228. Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review / I.B. Slimen, T. Najar, A. Ghram [et al.]. – Text : visual // Int. J. Hyperthermia. – 2014. – Vol. 30, № 7. – P. 513-23.

229. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle / S.K. Powers, L.L. Ji, A.N. Kavazis, M.J. Jackson. – Text : visual // Compr. Physiol. – 2011. – Vol. 1, № 2. – P. 941–969.

230. Redox control of chondrocyte differentiation and chondrogenesis / Y. Bai, X. Gong, C. Dou [et al.]. – Text : visual // Free Radic. Biol. Med. – 2019. – Vol. 132. – P. 83-89.

231. Redox regulation of cell survival / D. Trachootham, W. Lu, M.A. Ogasawara [et al.]. – Text : visual // Antioxid Redox Signal. – 2008. – Vol. 10. – P. 1343–1374.

232. Reid, M.B. Redox implications of extreme task performance: the case in driver athletes / M.B. Reid. – Text : visual // Cells. – 2022. – Vol. 11, № 5. – P. 899.

233. Repair of alkylation and oxidative damage in mitochondrial DNA / S.P. LeDoux, W.J. Driggers, B.S. Hollensworth, G.L. Wilson. – Text : visual // Mutat. Res. – 1999. – Vol. 434. – P. 149–159.

234. Roberts, R. The genetics of coronary artery disease / R. Roberts, A.F. Stewart. – Text : visual // Curr. Opin. Cardiol. – 2012. – Vol. 27, № 3. – P. 221–227.

235. Robine, J.M. Excess male mortality and age-specific mortality trajectories under different mortality conditions: a lesson from the heat wave of summer 2003 / J.M. Robine, J.P. Michel, F.R. Herrmann. – Text : visual // Mech. Ageing. Dev. – 2012.

– Vol. 133, № 6. – P. 378-386.

236. Robinson, B.H. Diagnosis of mitochondrial energy metabolism defects in tissue culture. Induction of MnSOD and Bcl-2 in mitochondria from patients with complex I (NADH-CoQ reductase) deficiency / B.H. Robinson. – Text : visual // Biofactors. – 1998. – Vol. 7. – P. 229–230.

237. Ruan, Y. Age-related macular degeneration: role of oxidative stress and blood vessels / Y. Ruan, S. Jiang, A. Gericke. – Text : visual // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, № 3. – P. 1296.

238. Salisbury, D. Reactive oxygen and nitrogen species: impact on endothelial dysfunction / D. Salisbury, U. Bronas. – Text : visual // Nurs Res. – 2015. – Vol. 64, № 1. – P. 53–66.

239. Salvatore, S.S. Age-related changes in skeletal muscle oxygen utilization / S.S. Salvatore, K.N. Zelenski, R.K. Perkins. – Text : visual // J. Funct. Morphol. Kinesiol.- 2022. – Vol. 7, № 4. – P. 87.

240. Schlader, Z.J. Biomarkers of heatstroke-induced organ injury and repair / Z.J. Schlader, M.S. Davis, A. Bouchama. – Text : visual // Exp. Physiol. – 2022. – Vol. 107, № 10. – P. 1159-1171.

241. Se improves GPX4 expression and SOD activity to alleviate heat-stress-induced ferroptosis-like death in goat mammary epithelial cells / L. Liu, M. Wang, N. Gong [et al.]. – Text : visual // Anim. Cells Syst. (Seoul). – 2021. – Vol. 25, № 5. – P. 283-295.

242. Separate and combined effects of heat stress and exercise on circulatory markers of oxidative stress in euhydrated humans / O. Laitano, K.K. Kalsi, M. Pook [et al.]. – Text : visual // Eur. J. Appl. Physiol. – 2010. – Vol. 110, № 5. – P. 953-960.

243. Severe heat stress modulated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 and macrophage migration inhibitory factor pathway in rat liver / A. Gupta, D. Sharma, H. Gupta [et al.]. – Text : visual // J. Cell Commun. Signal. – 2022.

244. Sinning, C. Oxidative stress in ischemia and reperfusion: current concepts, novel ideas and future perspectives / C. Sinning, D. Westermann, P. Clemmensen. – Text : visual // Biomark. Med. – 2017. – Vol. 11, № 11. – P. 11031-1040.

245. Siow, Y.L. Homocysteine stimulates phosphorylation of NADPH oxidase p47phox and p67phox subunits in monocytes via protein kinase C-beta activation / Y.L. Siow, K.K. Au-Yeung, C.W. Woo. – Text : visual // *Biochem J.* – 2006. – Vol. 398, № 1. – P. 73–82.

246. Siti, H.N. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review) / H.N. Siti, Y. Kamisah, J. Kamsiah. – Text : visual // *Vascul Pharmacol.* – 2015. – Vol. 71. – P. 40–56.

247. Son, J.Y. The impact of heat, cold, and heat waves on hospital admissions in eight cities in Korea / J.Y. Son, M.L. Bell, J.T. Lee. – Text : visual // *Int. J. Biometeorol.* – 2014. – Vol. 58. – P. 1893– 1903.

248. Specific modification of mitochondrial protein thiols in response to oxidative stress: A proteomics approach / T.K. Lin, G. Hughes, A. Muratovska [et al.]. – Text : visual // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 17048–17056.

249. Stadtman, E.R. Protein oxidation / E.R. Stadtman, R.L. Levine. – Text : visual // *Ann N Y Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 899. – P. 191–208.

250. Stadtman, E.R. Role of oxidant species in aging / E.R. Stadtman. – Text : visual // *Curr. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 11. – P. 1105–1112.

251. Structure elucidation of oxygenated lipids in human atherosclerotic lesions / H. Kuhn, J. Belkner, R. Wiesner [et al.]. – Text : visual // *Eicosanoids.* – 1992. – Vol. 5, №1. – P. 17-22.

252. Studies on the role of lipid peroxides in human pathology / J. Glavind, S. Hartmann, J. Clemmensen [et al.]. – Text : visual // *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* – 1952. – Vol. 30, № 1. – P. 1-6.

253. Targeted silver nanoparticles for rheumatoid arthritis therapy via macrophage apoptosis and Re-polarization / Y. Yang, L. Guo, Z. Wang [et al.]. – Text : visual // *Biomaterials.* – 2021. – Vol. 264. – P. 120390.

254. Temperature and daily mortality in Suzhou, China: a time series analysis / C. Wang, R. Chen, X. Kuang [et al.]. – Text : visual // *Sci Total Environ.* – 2014. – Vol. 38. – P. 466–467.

255. Temperature and mortality on the roof of the world: a time-series analysis

in three Tibetan counties, China / L. Bai, A. Cirendunzhu Woodward, D. Xiraoruodeng, Q. Liu. – Text : visual // *Sci Total Environ.* – 2014. – Vol. 41. – P. 485–486.

256. The 2003 heat wave in France: dangerous climate change here and now / M. Poumadère, C. Mays, S. Le Mer, R. Blong. – Text : visual // *Risk Anal.* – 2005. – Vol.25, № 6. – P.1483–1494.

257. The artificial nature of lipid peroxides detected in extracts of human aorta / F.P. Woodford, C.J. Bottcher, K. Oette, E.H. Anrens. – Text : visual // *J. Atheroscer. Res.* – 1965. – Vol. 5, № 3. – P. 311-316.

258. The association between GSTT1, M1, and P1 polymorphisms with coronary artery disease in Western Iran / H. Nomani, H. Mozafari, S.M. Ghobadloo [et al.]. – Text : visual // *Mol. Cell Biochem.* – 2011. – Vol. 354, № 1–2. – P. 181–187.

259. The Complex Interplay between Mitochondria, ROS and Entire Cellular Metabolism / A.V. Kuznetsov, R. Margreiter, M.J. Ausserlechner [et al.]. – Text : visual // *Antioxidants (Basel)*. – 2022. – Vol. 11, №10. – P. 1995.

260. The effect of heat stress on hematological parameters and oxidative stress among bakery workers / V. Gharibi, N. Khanjani, H. Heidari [et al.]. – Text : visual // *Toxicol. Ind. Health.* – 2020. – Vol. 36, № 1. – P. 1-10.

261. The effect of high temperatures on cause-specific mortality in England and Wales / A. Gasparrini, B. Armstrong, S. Kovats, P. Wilkinson. – Text : visual // *OccuP. Environ. Med.* – 2012. – Vol. 69. – P. 56–61.

262. The health impacts of 2003 summer heat-waves, briefing notes for the delegations of the fifty-third session of the WHO (World Health Organization) regional committee for Europe. – Geneva, 2003. –12 p. – Text : visual.

263. The Impact of Dehydration and Hyperthermia on Circulatory Glutathione Metabolism after Exercise in the Heat with Insights into the Role of Erythrocytes / D. De Melo-Marins, J.B. Farinha, F.P. Boeno [et al.]. – Text : visual // *Life (Basel)*. – 2021. – Vol. 11, № 11. – P. 1144.

264. The impact of heat waves on mortality in 9 European cities: results from the EuroHEAT project / D. D’Ippoliti, P. Michelozzi, C. Marino [et al.]. – Text : visual // *Environ. Health.* – 2010. – Vol. 9. – P. 9–37.

265. The impact of temperature on mortality in Tianjin, China: a case-crossover design with a distributed lag nonlinear model / Y. Guo, A.G. Barnett, X. Pan [et al.]. – Text : visual // *Environ. Health Perspect.* – 2011. – Vol. 119. – P. 1719–1725.

266. The mitochondrial permeability transition, release of cytochrome c and cell death. Correlation with the duration of pore openings in situ / V. Petronilli, D. Penzo, L. Scorrano [et al.]. – Text : visual // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 12030–12034.

267. The opposing roles of NO and oxidative stress in cardiovascular disease / R.H. Ritchie, G.R. Drummond, C.G. Sobey [et al.]. – Text : visual // *Pharmacological Research.* – 2017. – Vol. 116. – P. 57–69.

268. The PHEWE project – assessment and prevention of acute health effects of weather conditions in Europe / P. Michelozzi, U. Kirchmayer, K. Katsouyanni [et al.]. – Text : visual // *Environ Health.* – 2004. – Vol. 15, № 4. – P. 102-103.

269. The Relationship between Oxidative Stress and Subjective Sleep Quality in People with Coronary Artery Disease / V. Feng, S. Tumati, R. Wang [et al.]. – Text : visual // *Brain Sci.* – 2022. – Vol. 12, № 8. – P. 1070.

270. Thomas, S.R. Redox control of endothelial function and dysfunction: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities / S.R. Thomas, P.K. Witting, G.R. Drummond. – Text : visual // *Antioxid. Redox Signal.* – 2008. – Vol. 10. – P. 1713–1765.

271. Time course of temperature effects on cardiovascular mortality in Brisbane, Australia / W. Yu, W. Hu, K. Mengersen [et al.]. – Text : visual // *Heart.* – 2011. – Vol. 97. – P. 1089–1093.

272. Today's oxidative stress markers / M. Czerska, K. Mikołajewska, M. Zieliński [et al.]. – Text : visual // *Med. Pr.* – 2015. – Vol. 66, № 3. – P. 393-405.

273. Towner, R.A. In vivo and in situ detection of macromolecular free radicals using immuno-spin trapping and molecular magnetic resonance imaging / R.A. Towner, N. Smith. – Text : visual // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2018. – Vol. 28, № 15. – P. 1404-1415.

274. Tran, M.T. Overview of Ca<sup>2+</sup> signaling in lung cancer progression and metastatic lung cancer with bone metastasis / M.T. Tran. – Text : visual // *Explor.*

Target. Antitumor. Ther. – 2021. – Vol. 2, № 3. – P. 249-265.

275. Vaneckova, P. Cause-specific hospital admissions on hot days in Sydney, Australia / P. Vaneckova, H. Bambrick. – Text : visual // PloS One. – 2013. – Vol. 8. – P. e55459.

276. Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase / A.J. Donato, L.B. Gano, I. Eskurza [et al.]. – Text : visual // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2009. – Vol. 297, № 1. – P. 425–432.

277. VDAC2 and the BCL-2 family of proteins / Z. Yuan, G. Dewson, P.E. Czabotar [et al.]. – Text : visual // Biochem. Soc. Trans. – 2021. – Vol. 49, № 6. – P. 2787-2795.

278. Veal, E.A. Hydrogen peroxide sensing and signaling / E.A. Veal, A.M. Day, B.A. Morgan. – Text : visual // Mol. Cell. – 2007. – Vol. 26. – P. 1–14.

279. Wu, J.Q. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia / J.Q. Wu, T.R. Kosten, X.Y. Zhang. – Text : visual // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2013. – Vol. 46. – P. 200–206.

280. Yakes, F.M. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress / F.M. Yakes, B. Van Houten. – Text : visual // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – Vol. 94. – P. 514–519.

281. Yu, H. Reactive species-induced microvascular dysfunction in ischemia/reperfusion / H. Yu, T. Kalogeris, R.J. Korthuis. – Text : visual // Free Radic. Biol. Med. – 2019. – Vol. 135. – P. 182-197.

282. Zhao, Q.L. Mechanism of cell death induced by nitroxide and hyperthermia / Q.L. Zhao, Y. Fujiwara, T. Kondo. – Text : visual // Free Radic. Biol. Med. – 2006. – Vol. 40. – P. 1131–1143.

283. Zhou, H. Pathological roles of mitochondrial oxidative stress and mitochondrial dynamics in cardiac microvascular ischemia/reperfusion injury / H. Zhou, S. Toan. – Text : visual // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 85.