

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра фізіології, імунології і біохімії
з курсом цивільного захисту та медицини

Кваліфікаційна робота

магістра

на тему **ВПЛИВ ОКИСЛЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ**
НА СЕРЦЕВО-СУДИННУ СИСТЕМУ

Виконала: студентка 2 курсу, групи 8.0911-б-з
спеціальності 091 Біологія
(код і назва спеціальності)

освітньої програми 091 Біологія
(код і назва освітньої програми)

Тітова І. С.

(ініціали та прізвище)

Керівник доцент, доцент, к.б.н., Копійка В. В.
(посада, вчене звання, науковий ступінь, підпис, ініціали та прізвище)

Рецензент доцент, доцент, к.б.н., Малько М. М.
(посада, вчене звання, науковий ступінь, підпис, ініціали та прізвище)

Запоріжжя

2020

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Біологічний факультет

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Рівень вищої освіти магістр

Спеціальність 091 біологія

Освітня програма 091 біологія

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач

кафедри

Куш О. Г.

«29» вересня 2021 р.

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ**

Тітовій Ірині Сергіївні

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Вплив окислювального стресу на серцево-судинну систему
Theeffectofoxidativestressonthecardiovascularsystem

керівник роботи Копійка Віра Вікторівна, к.б.н., доцент

затверджена наказом ЗНУ від «12» липня 2022 р. №835-с

2. Строк подання студентом роботи грудень 2022 року

3. Вихідні дані до роботи Курсова робота за фахом на тему «Ендокринні механізми регуляції гомеостазу. Цукровий діабет та коморбідна патологія»

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1)дослідити процеси перекисного окислення ліпідів у хворих на COVID-19 з супутніми серцево-судинними захворюваннями; 2) проаналізувати стан ферментативних систем захисту клітин від вільнорадикального пошкодження у хворих на COVID-19 з такими супутніми серцево-судинними захворюваннями, як гіпертонія та ішемічна хвороба серця.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) рисунків: рис. 2.1, табл. 3.1–3.3,

6. Консультанти роботи з вказівкою розділу

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 4	Гороховський Є. Ю., к.б.н., доцент		

7. Дата видачі завдання 29.09.2021 р.**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів проекту	Примітка
1	Пошук джерел літератури до теми кваліфікаційної роботи	Вересень - листопад 2021	Виконано
2	Оформлення розділу з огляду літератури	Грудень 2021	Виконано
3	Формування розділу «Матеріали та методи дослідження»	Січень 2022	Виконано
4	Формування бази експериментальних даних	Вересень 2021 – вересень 2022	Виконано
5	Статистична обробка експериментальних даних	жовтень 2022	Виконано
6	Формування дипломної роботи	Листопад 2022	Виконано
7	Оформлення матеріалів до захисту	Грудень 2022	Виконано
8	Попередній захист дипломної роботи	Грудень 2022	Виконано

Студентка _____ І. С. Тітова
(підпис) (ініціали та прізвище)Керівник роботи (проекту) _____ В. В. Копійка
(підпис) (ініціали та прізвище)**Нормоконтроль пройдено**Нормоконтролер _____ Є. Ю. Гороховський
(підпис) (ініціали та прізвище)

РЕФЕРАТ

Магістерська робота викладена на 57 сторінках, містить 1 рисунок, 3 таблиці, 51 джерело літератури.

Метою дослідження було вивчення стану вільнорадикального окислення ліпідів, а також стану ферментативних систем захисту клітин від вільнорадикального пошкодження у хворих з COVID-19 та супутньо мають такі серцево-судинні захворювання, як гіпертонічна хвороба та ішемічна хвороба серця.

Обстежено 61 хворий на гіпертонічну хворобу та стенокардію на фоні інфекції COVID-19. Дослідження проведено на базі КНП «Міська лікарня №6» Запорізької міської ради. Аналіз біохімічних показників крові проводили у 3-х дослідних групах: 1) 22 пацієнта з гіпертонічною хворобою (11 осіб з гіпертонічною хворобою I стадії та 11 – з гіпертонічною хворобою II стадії); 2) 26 хворих на ішемічну хворобу серця (15 пацієнтів з стенокардією напруги та 11 пацієнтів зі стенокардією спокою); 3) 13 осіб, які мали ішемічну хворобу серця у комбінації з гіпертонічною хворобою.

У групах хворих на гіпертонічну хворобу, на стенокардію з супутнім діагнозом COVID-19 виявлено підвищення маркерів вільнорадикального окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду) та зниження антиоксидантної активності (ферменту супероксиддисмутази). Рівень відхилень залежав від стадії гіпертонічної хвороби. У хворих на стенокардію спокою ці процеси були більш виражені в порівнянні з хворими на стенокардію напруги. При наявності у пацієнтів одночасно гіпертонічної хвороби та стенокардії спостерігається значне погіршення основних індикаторів вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту.

ГІПЕРТОНІЧНА ХВОРОБА, СТЕНОКАРДІЯ, COVID-19, ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ.

ABSTRACT

The master's thesis is laid out on 59 pages, contains 1 figure, 6 tables, 51 sources of literature, appendices.

The purpose of the study was to study the state of free radical oxidation of lipids, as well as the state of enzymatic systems of cell protection against free radical damage in patients with COVID-19 and concomitant cardiovascular diseases such as hypertension and coronary heart disease.

61 patients with hypertension and angina pectoris against the background of COVID-19 infection were examined. The study was conducted on the basis of the "City Hospital No. 6" of the Zaporizhzhia City Council. The analysis of biochemical blood parameters was carried out in 3 research groups: 1) 22 patients with hypertension (11 with stage I hypertension and 11 with stage II hypertension); 2) 26 patients with coronary heart disease (15 patients with angina pectoris and 11 patients with angina pectoris at rest); 3) 13 people who had coronary heart disease in combination with hypertension.

In groups of patients with hypertension and angina pectoris with a concomitant diagnosis of COVID-19, an increase in markers of free radical oxidation of lipids (diene conjugates, malondialdehyde) and a decrease in antioxidant activity (superoxide dismutase enzyme) were found. The level of deviations depended on the stage of hypertension. In patients with angina pectoris at rest, these processes were more pronounced compared to patients with angina pectoris during tension. When patients have hypertension and angina at the same time, there is a significant deterioration of the main indicators of free radical processes and antioxidant protection.

HYPERTENSION DISEASE, ANGINA, COVID-19, LIPID PEROXIDATION, ANTIOXIDANT PROTECTION.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	8
ВСТУП.....	9
ПОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	13
1.1 Вільнорадикальні процеси та їх роль у життєдіяльності організму людини.....	13
1.2 Стан вільнорадикальних процесів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою.....	19
1.3 Стан вільнорадикальних процесів у пацієнтів, які страждають на атеросклероз.....	21
1.4 Стан вільнорадикальних процесів у пацієнтів, які страждають на ішемічну хворобу серця.....	27
2МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	31
2.1 Матеріал та схема дослідження.....	31
2.2 Методи дослідження	32
2.2.1 Визначення вмісту малонового діальдегіду.....	32
2.2.2Визначення рівня дієнових кон`югатів	33
2.2.3Визначення супероксидисмутази в еритроцитах.....	35
2.2.4Статистична обробка отриманих результатів	36
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	37
3.1 Дослідження стану оксидативних процесів та активності антиоксидантного захисту у хворих, які страждають на гіпертонію.....	37
3.2 Стан перекисних процесів та активності антиоксидантного захисту у хворих, що страждають на ішемічну хворобу	38
3.3 Стан перекисних процесів та активності антиоксидантного захисту у хворих, що страждають на ішемічну хворобу серця у комбінації з гіпертонічною хворобою.....	40

4 ОХОРОНА ПРАЦІ	42
ВИСНОВКИ.....	49
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	50
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	51

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АГ – артеріальна гіпертензія

АОС – антиоксидантна система

ГР – глутатіонредуктаза

ГХ – гіпертонічна хвороба

ДК – дієнові кон'югати

ІХС – ішемічна хвороба серця

ЛП – ліпопротеїди

МДА – малоновий діальдегід

НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид

НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

СОД – супероксидисмутаза

ФМС - феназінметансульфат

ХС – холестерин

ЦО – циклооксигеназа

ВСТУП

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я в останні роки має місце значне підвищення захворюваності на серцево-судинні захворювання, зокрема на гіпертонічну хворобу та стенокардію. Крім того загальновідомим є те, що зазначені патології ведуть до підвищення рівня смертності. Так згідно з інформаційним бюлетенем Всесвітньої організації з охорони здоров'я №317 від 9 березня 2019 р. [1] серцево-судинні захворювання є основною причиною смертей у всьому світі. В 2019 р. в Україні частка захворювань системи кровообігу серед причин смертності населення становила 64,3%. Найбільш розповсюдженими серед них є ішемічна хвороба серця та артеріальна гіпертензія. Доведено, що ця категорія хворих має найвищий ризик розвитку серцево-судинних ускладнень та інвалідизації населення. Питома вага цих хвороб у структурі смертності внаслідок захворювань системи кровообігу становить 72,5% [2].

Можна стверджувати, що будь-які дослідження, спрямовані на корекцію процесів, які призводять до виникнення та прогресування серцево-судинної патології, є актуальним завданням медичної та біологічної наук.

Ще в середині 19 сторіччя відомий німецький вчений Рудольф Вірхов сформулював положення згідно якому будь-яка патологія організму є наслідком клітинної патології. Тому механізми формування патологічних процесів в організмі на всіх рівнях є об'єктами досліджень численних наукових груп у всьому світі.

Все, що ми знаємо сьогодні про клітинну патологію дає можливість стверджувати, що їй належить провідна роль у виникненні різноманітних відхилень від нормальних біологічних процесів. Саме тому можна зробити висновок, що порушення функціонування клітини або її окремих компонентів (мембрани, органели, ядра) викликають різноманітні патології, зокрема атеросклероз, стенокардію та гіпертонічну хворобу. Одним з

найважливіших процесів, пов'язаних з клітиною та клітинними мембранами є перекисне окислення ліпідів. Утворення перекисних сполук ліпідів обумовлене вільнорадикальними процесами, які регулюються клітинними речовинами, які відомі як антиоксиданти.

Дослідження, які були проведені в останні десятиріччя показали тісний зв'язок між станом перекисних процесів та патологічних процесів, які мають місце при захворюваннях серцево-судинної системи, зокрема гіпертонічної хвороби. Відомо, що основою такої системної хвороби як гіпертонія є не лише патологічні зміни у стінках судин, захворювання нирок та порушення у роботі периферійної нервової системи, а і порушення функціонування іон-транспортуючих систем клітинних мембран, що в свою чергу може бути обумовлено мембрандестабілізуючою дією вільних радикалів.

Відомо, що у хворих на зазначену патологію значною мірою активуються процеси перекисного окислення. Продукти перекисного окислення можуть бути використанні як маркери патологічного процесу, що в деяких випадках може бути використано в діагностичних цілях.

Сьогодні можна вважати встановленим фактом участь процесів вільнорадикального окислення в ішемічному пошкодженні міокарду. При стенокардії першопричиною виникаючих порушень є гіпоксія. Окислювальний стрес, що приводить до інтенсифікації вільноокислювальних процесів в організмі є наслідком посиленого утворення активних форм кисню, а також потенційних ендогенних прооксидантів (перш за все радикалів ненасичених жирних кислот). Необхідно зазначити, що будь які порушення у системі трансформації продуктів вільнорадикальних реакцій можуть привести до незворотніх змін у тканинах та органах.

Особливу увагу привертає до себе проблема стану перекисних процесів у хворих на COVID-19, які страждають комплексом серцево-судинних захворювань, що є вкрай частим явищем. З'ясування стану перекисного окислення в зазначених випадках є актуальною проблемою сучасної науки, адже одержана інформація дозволить як більш детально сформулювати

уявлення про патогенез зазначених захворювань, так і запропонувати ефективні методи корекції.

Серцево-судинні ускладнення COVID-19 описані досить добре, але постгострі серцево-судинні прояви COVID-19 визначені недостатньо. Для аналізу ми використали національні бази даних міністерства охорони здоров'я США [3]. Було виявлено, що після перших 30 днів після інфікування люди з COVID-19 мають підвищений ризик розвитку серцево-судинних захворювань, які охоплюють кілька категорій, включаючи цереброваскулярні розлади, аритмії, ішемічну та неішемічну хворобу серця, перикардит, міокардит, серцеву недостатність і тромбоемболічні захворювання. Ці ризики та навантаження були наявними навіть серед осіб, які не були госпіталізовані під час гострої фази інфекції. Вплив вірусу зростав поступово відповідно до умов надання допомоги під час гострої фази (не госпіталізовані, госпіталізовані та госпіталізовані до реанімації). Результати, представлені для ознайомлення, свідчать про значний ризик виникнення серцево-судинних захворювань у тих, хто переніс COVID-19. Догляд за тими, хто пережив гострий епізод COVID-19, повинен включати в себе догляд та моніторинг стану серцево-судинної системи.

Мета дослідження: для поглиблення уявлень про патологічні процеси, які відбуваються в організмі хворих, що уражені COVID-19 та супутньо хворіють на такі серцево-судинні захворювання, як гіпертонічна хвороба та ішемічна хвороба серця, вивчити стан вільнорадикальних процесів, процесів перекисного окислення ліпідів, а також стану ферментативних систем захисту клітин від вільнорадикального пошкодження.

Об'єкт дослідження: оксидативний стрес і системи захисту від його пошкоджуючої дії, антиоксидантна система, ферментативна система захисту (супероксиддисмутаза).

Предмет дослідження – біохімічні показники периферичної крові у хворих, що уражені COVID-19, та супутньо мають гіпертонічну хворобу та стенокардію.

Вказана мета реалізовувалась через вирішення таких завдань:

- 1) дослідити процеси перекисного окислення ліпідів у хворих на COVID-19 з супутніми серцево-судинними захворюваннями;
- 2) проаналізувати стан ферментативних систем захисту клітин від вільнорадикального пошкодження у хворих на COVID-19 з такими супутніми серцево-судинними захворюваннями, як гіпертонія та ішемічна хвороба серця.

Значущість роботи: розширення знань щодо особливостей біохімічних показників перекисного окислення ліпідів та стану ферментативних систем захисту клітин від вільнорадикального пошкодження у хворих на COVID-19 з такими супутніми серцево-судинними захворюваннями, як гіпертонія та ішемічна хвороба серця.

Новизна дослідження: вперше комплексно досліджено стан перекисних процесів та стан антиокислювальної системи у хворих на гіпертонічну хворобу та стенокардію, обтяжених інфікуванням COVID-19.

Практичне значення: таке ґрунтовне та системне дослідження ролі вільнорадикальних процесів у формуванні патогенезу захворювань дасть змогу в подальшому розробити схему по діагностиці, профілактиці та лікуванню ускладнень при COVID-інфекції у таких хворих, пов'язаних з корекцією стану антиоксидантної системи організму.

Автор роботи виражає подяку д. б. н., професору кафедри біологічної хімії Запорізького державного медичного університету Швецю В. М. на надану консультативну допомогу при проведенні експериментальних досліджень кваліфікаційної роботи.

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Вільнорадикальні процеси та їх роль у життєдіяльності організму людини

На сьогодні не викликає сумнівів величезне значення вільнорадикальних процесів у життєдіяльності будь-якого організму. Безперервне радикалоутворення в організмі людини відбувається в нормі в результаті впливу факторів зовнішнього середовища або нормального метаболізму. Стрес виступає в якості важливого етіологічного фактору багатьох внутрішніх захворювань, до яких також відносять і захворювання серцево-судинної системи [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. В умовах хронічного впливу стресових факторів на організм відбувається обмеження величини коронарного кровотоку, наслідком якого стає виникання в міокарді тканинної гіпоксії. Останнє формує передумови для глибокого порушення серцевої недостатності і порушення ритму серця [12, 13].

Роль вільнорадикальних окислювальних процесів у патології, уперше постульована в працях 50-60-х років Б.М. Тарусова і Н.М. Емануеля, є загальноновизнаною в усьому світі.

Вільнорадикальне окислення – важливий і багатогранний біохімічний процес перетворень кисню, ліпідів, нуклеїнових кислот, білків та інших сполук під дією вільних радикалів, а перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) – один з його наслідків [14,15]. Сутність вільнорадикального окислення полягає в безпосередньому включенні молекулярного кисню до молекул органічних сполук. Ці реакції каталізуються моно- і діоксигеназами і приводять до фіксації одного атома або цілої молекули кисню в молекулі органічної сполуки. При цьому утворюються ліпідні радикали – «уламки» збуджених молекул, які характеризуються винятково високою реакційною здатністю [16,17]. Вільними радикалами називаються молекули або структурні фрагменти молекул, що мають на зовнішній орбіталі неспарений

електрон. Оскільки для стійкого стану молекула має містити на зовнішній орбіталі два електрони, вільні радикали активно прагнуть відняти відсутній електрон від інших молекул, що додає їм підвищеної реакційної здатності [18]. До активних форм кисню зараховують кисневмісні радикали – супероксидний аніон-радикал (O_2^-), гідропероксидний радикал (HO_2) і гідроксил-радикал (HO). Крім того, разом з ними, як правило, розглядаються перекис водню (H_2O_2) і гіпохлорна кислота ($HOCl$). Перший може розкладатися до гідроксид радикалу в реакції Фентона, а остання може перетворюватися у присутності супероксид-аніону в реакції Хабера- Вайса. Маючи вкрай низьку тривалість життя внаслідок своєї високої реакційної здатності, кисневмісні вільні радикали ініціюють утворення вільних радикалів - похідних ліпідів: алкільних радикалів, гідропероксидних радикалів, ліпідних гідроперекисів, алоксильних радикалів [19,20].

В організмі відбувається постійна генерація вільних радикалів, що виконують найважливіші внутрішньоклітинні функції – такі, як процеси міжклітинної і внутрішньоклітинної передачі сигналів, резорбції відпрацьованих макромолекул.

Вільнорадикальне окислення необхідне для нормального функціонування організму. Про це свідчить, зокрема, використання більш ніж 5% кисню на утворення супероксидного аніон-радикалу. Вільнорадикальне окислення сприяє знищенню відпрацьованих клітин, елімінації ксенобіотиків, попереджає злякисну трансформацію клітин, моделює енергетичні процеси за рахунок активності дихального ланцюга в мітохондріях, забезпечує проліферацію і диференціацію клітин, синтез простагландинів і лейкотриєнів, фагоцитоз, метаболізм катехоламінів, транспорт іонів, бере участь у регуляції складу і проникності клітинних мембран, у руйнуванні ушкоджених хромосом, у забезпеченні дії інсуліну. Вільнорадикальне окислення генерує внутрішньоклітинні бактерицидні і вірусцидні фактори, особливо в клітинному ядрі.

У онтогенезі з вільними радикалами пов'язані регуляція активності ферментів, продукція біологічно активних речовин (простагландини, тромбоксани, простацикліни, лейкотриєни), регуляція проліферативних і трофічних процесів на тканинному і клітинному рівнях, реалізація діяльності контролюючих систем організму.

Молекулярний кисень є невід'ємною частиною всіх вільнорадикальних процесів, які протікають у живих організмах. При цьому в нормі в ряді реакцій утворюються активні інтермедіати O_2 , що за певних умов стають токсичними. До них належать супероксидний аніон-радикал (O_2^-), гідроксильний радикал (ОН), пероксид водню (H_2O_2), синглетний кисень (O_2). За даними ряду авторів [21,22,23], ступінь і характер тканинних ушкоджень, порушень біохімічних процесів залежать від вираженості порушень вільнорадикального окислення. При одному її рівні вільнорадикальне окислення забезпечує нормальний перебіг біохімічних процесів, функцію тканинних структур, але його зміни здійснюють пошкоджуючий вплив. Регулюючі функції активного кисню у здорової людини можуть трансформуватися в їх пошкоджуючий вплив. Він виявляється у істотній дії вільних радикалів на конформацію структурних і функціональних білків, на процеси утворення біологічно активних сполук, у тому числі й гормонів.

Гіпотеза про токсичну дію вільнорадикальних метаболітів кисню була висловлена R. Gerschman та D. Gilbert у 1954 р. L. Mc Cord та I. Fridovich відкрили у 1970 р. реакцію дисмутації за участю ферменту супероксиддисмутази та створили супероксидну теорію токсичності O_2 [21].

Висока реакційна здатність активних інтермедіатів кисню робить їх високотоксичними для біотичних систем на всіх рівнях – від молекулярного до організмового основними джерелами утворення O_2^- і H_2O_2 є ферментні системи: ксантинооксидаза, мітохондріальна цитохром с-оксидаза і мікосомальні монооксигенази (система цитохрома Р-450) [20,21]. Утворення ОН у біологічних системах відбувається в ході реакції Фентона за участю

металів змінної валентності, головним чином Fe^{2+} . Синглетний кисень O_2 виникає як супутній метаболіт у багатьох ферментативних реакціях за участю супероксиддисмутази, каталази, пероксидаз, а також у різних фотоіндукованих процесах [24].

Особливе місце посідає вільнорадикальна сполука NO , утворення якої відбувається при окислюванні L-аргініну за участю NO-синтази. NO не належить до дійсних інтермедіатів O_2 , але його дія тісно пов'язана з ними [25].

Функціонування аеробних живих організмів неможливе у зв'язку з токсичністю O_2 без існування захисних систем, до яких належить ферментативні і неферментативні антиоксиданти.

Постійне утворення прооксидантів урівноважене однаковою швидкістю їх дезактивації антиоксидантами. Різке посилення окислювальних процесів при недостатності систем антиоксидантного захисту призводить до розвитку «оксидантного стресу», що на сьогодні розглядається як один із загальних механізмів ушкодження тканин організму [26, 27, 28].

До ферментативних антиоксидантів належать супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, а також Se-фосфоліпід-гідропероксид-GSH-пероксидаза [29,30,31,32].

Ферментативні антиоксиданти є засобом внутрішньоклітинного захисту. Разом з тим, у всіх водних і ліпідних середовищах організму протікають радикальні окислювальні процеси, у захисті від яких важливу роль відіграють водо- і жиророзчинні неферментативні антиоксиданти – вітаміни E і K, убіхінони, триптофан і фенілаланін, аскорбінова кислота, іони селену, тіолові сполуки (амінокислоти – цистеїн, цистин, метіонін і трипептид глутатіон), гістидовмісні дипептиди (карнозин, анзерин, гомокарнозин) [33,34]. Дефіцит селену, наприклад, призводить до зниження активності глутатіонпероксидази, стимулює ПОЛ у мікросомах, викликає накопичення малонового діальдегіду. При глибокому дефіциті селену різко зростає утворення вільних радикалів кисню і рівень пероксидів жирних

кислот у плазмі і міокарді. Токоферол, завдяки мембраностабілізуючій дії, запобігає утворенню продуктів ПОЛ і захищає ненасичені тканинні ліпіди як основний антиоксидант ліпопротеїнів низької щільності [34]. Захист від гідроксильного радикалу, найбільш активного і короткоживучого з ініціаторів ПОЛ, забезпечується наявністю в ліпідному шарі, насамперед α -токоферолу, котрий взаємодіє з алокси- і пероксирадикалами ліпідів і, таким чином, перериває ланцюги окислення. Ретинол регулює проникність мембранних структур [33]. Антиоксидантний захист позаклітинної речовини є менш надійним, ніж усередині клітини, тому що не дублюється пероксидазами й більшою мірою залежить від надходження екзогенних антиоксидантів. Хелатні сполуки, що зв'язують іони металів, також характеризуються антиоксидантними властивостями. Це ферменти, гемосидерин, трансферин, церулоплазмін. Новий механізм антиоксидантного захисту у вигляді надлишкової експресії протоонкогена виявлений у нейронах. Вважається, що цей протоонкоген може бути металовмісним білком, що зв'язує вільні радикали, або інгібітором ферментів дихального ланцюга [35].

Виділяють три ступені антиоксидантної системи захисту: антикисневий, антирадикальний, й антиперекисний. Першою лінією захисту є супероксиддисмутаза і каталаза, що запобігають утворенню гідроксил радикала. Якщо ж відбулося його утворення і цей радикал індукував окислення полієнових ліпідів, утворені радикали на своєрідній другій лінії захисту можуть бути знешкоджені α -токоферолом. Надалі відбувається відновлення окисленого токоферолу за участю інших антиоксидантів – аскорбінової кислоти й убіхінону, крім того, у реанімації токоферолу також певну роль відіграє бета-каротин [34]. Вторинні радикали, що утворюються при ПОЛ, зазнають впливу третьої лінії захисту – глутатіонзалежними ферментами і системами біорегенерації окисленого глутатіону [36].

Внутрішньоклітинно існує тонкий баланс між процесами генерації і знешкодження вільних радикалів, котрий регулюється дуже тонко і

багатоступенево, тому порушення якої-небудь ланки цієї системи спричиняє зсув своєрідного внутрішньоклітинного оксидативного реостата, призводячи до драматичних наслідків.

Порушення стабільного рівня ПОЛ можливе з трьох основних причин: первинне надмірне надходження продуктів ПОЛ, що перевищує фізіологічні можливості антиокислювальної системи; зниження потужності антиокислювальної системи; поєднання зазначених факторів. У будь-якому з цих варіантів наявна абсолютна або відносна антиоксидантна недостатність [20].

Пошкоджувальна дія інтермедіатів O_2 пов'язана з блоком SH-груп ферментів і їх інактивацією, гідроксилюванням основ дезоксирибонуклеїнової кислоти, її фрагментацією і розвитком різних мутацій, розвитком реакцій ПОЛ і відповідною дестабілізацією мембран, роз'єднанням окислювального фосфорилування, підвищенням проникності клітинних мембран, а також деполіаризацією полісахаридів і порушенням структури міжклітинного матрикса. У клітині накопичуються вторинні продукти: малоновий альдегід, ненасичені альдегіди, які є мутагенами і мають виражену цитотоксичність [37].

Таким чином, вільнорадикальне окислення визначає рівень діяльності функціональної системи регуляції клітинного гомеостазу. У здорової людини воно необхідне для збереження оптимальної клітинної маси як важливої умови нормального функціонування органів і систем організму. При патологічних станах вільнорадикальне окислення впливає на діяльність організму, змінює структуру і функцію тканинних структур, активність функціональних систем. Клінічне тестування фізіологічного і патологічного вільнорадикального окислення відкриває можливості виявлення цього важливого фактора формування патологічного процесу.

1.2 Стан вільнорадикальних процесів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою

Проведений аналіз літературних відомостей виявив наявність вкрай обмеженої кількості ґрунтовних досліджень, об'єктом яких є стан процесів вільнорадикального окислення у людей які страждають на підвищення артеріального тиску. Як правило, та інформація, яку нам вдалося знайти, стосувалася вивчення особливостей перебігу вільнорадикальних процесів у пацієнтів, що страждають на гіпертонію у поєднанні з іншими захворюваннями, наприклад, з цукровим діабетом. Також окремі дослідження були присвячені вивченню особливостей процесів вільнорадикального окислення при використанні гіпотензивних препаратів.

Дані численних досліджень останніх років указують на те, що неконтрольована фізіологічними антиоксидантними ферментами продукція супероксидних радикалів та інших активних форм кисню може розглядатися як потенційне джерело порушення функцій судин, окремим проявом якого є гіпертонічна хвороба.

Однією з патогенетичних ланок гіпертонічної хвороби є активація симпатико-адреналової системи. Накопичення катехоламінів потенціює процеси ПОЛ за рахунок утворення активних форм кисню і приводить до пригнічення антиоксидантних ферментів.

Ряд авторів висловлюють припущення про активацію перекисного окислення ліпідів, зумовлену метаболізмом арахідонової кислоти і біосинтезом простаноїдів, у результаті чого відбувається утворення активних форм кисню. Продукти метаболізму впливають на рецептори клітини, активація яких приводить до збільшення вмісту внутрішньоклітинного кальцію. Це сприяє посиленню гідролізу аденозиндифосфату до ксантину, з переходом його в сечову кислоту, внаслідок чого утворюються активні форми кисню й активуються процеси перекисного окислення ліпідів.

У пацієнтів спостерігається виражений оксидативний стрес як наслідок дисбалансу між адаптивними можливостями внутрішньоклітинного ферментативного антиоксидантного захисту й активністю вільнорадикальних процесів. Клінічно ефективна терапія базисними препаратами не усуває відносну ферментну недостатність, що й визначає хронізацію гіпертонічної хвороби.

Різні автори [36] простежили взаємозв'язок процесів перекисного окислення ліпідів клітинних мембран, плазми й антиоксидантної активності плазми крові хворих на гіпертонічну хворобу у різні періоди захворювання. Результати дослідження показали, що при загостренні гіпертонічної хвороби та ініціації перекисного окислення ліпідів клітинних мембран підвищення антиоксидантної активності може бути спричинене іншими антиоксидантними механізмами, зумовленими змінами ліпідного спектра плазми крові, що створюють виражений антиоксидантний фон. Встановлено [37], що інтенсифікація перекисного окислення ліпідів клітинних мембран при розвитку гіпертонічного кризу приводить до подальшого накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів у плазмі крові, зміни кількості й складу її ліпідів, що розглядається як прояв механізмів адаптації при гіпертонічній хворобі. Доведено [38], що в плазмі крові хворих на гіпертонічну хворобу відбувається активація перекисного окислення ліпідів, яка нормалізується у позакризовий період.

Був встановлений взаємозв'язок рівня нітратів у плазмі та цільній крові в залежності від стадії захворювання. Необхідно відзначити, що назване дослідження проводилось у пацієнтів виключно жіночої статі. При артеріальній гіпертензії першої або другої стадії під час загострення в осіб з неускладненою артеріальною гіпертензією визначалося підвищення вмісту метаболітів окису азоту у порівнянні з практично здоровими людьми. Найбільш низькі показники нітратів плазми крові визначалися у здорових людей, а найбільш високий у жінок з артеріальною гіпертензією першої стадії.

Автор наголошує, що одержані результати дозволяють стверджувати, що активність вільнорадикальних процесів зростає при прогресуванні артеріальної гіпертензії. Також у піддослідних проводилася оцінка загальної антиокислювальної активності сироватки крові. Найнижчий рівень антиокислювальної активності спостерігався у хворих з другою стадією артеріальної гіпертонії, він був достовірно нижчим, ніж в групі з першою стадією артеріальної гіпертензії та групі контролю. Підвищення загальної антиокислювальної активності при артеріальній гіпертензії першої стадії автор визначає як захисну реакцію на посилення перекісного окислення ліпідів[38].

1.3 Стан вільнорадикальних процесів у пацієнтів, які страждають на атеросклероз

Атеросклероз розглядають як хронічну запальну патологію в організмі людини [39]. В розвитку та прогресуванні даної патології значна роль належить внутрішньосудинному запаленні, яке викликає ряд факторів, у тому числі, і хронічні системні інфекції. Запалення – одне з основних патофізіологічних моментів, що лежать в основі розвитку ішемічних порушень [40].

Можна виділити дві основні теорії етіології атеросклерозу.

Згідно з першою атеросклероз розвивається внаслідок відкладення ліпідів на стінці судин в результаті збільшення абсолютного вмісту ліпідів крові або порушення метаболізму ліпопротеїнів.

Друга теорія заснована на тому, що для виникнення хвороби необхідно ушкодження стінки судини (механічне, хімічне або імунологічне), причому відкладення ліпідів хоча і відіграє важливу роль в прогресуванні ушкодження але є вторинним. Накопичення холестерину в зонах атеросклеротичного

ураження стінки судини було відзначено ще в кінці минулого століття , однак особливе значення цей факт набув після дослідів Н. Н. Анічкова і С. С. Халатова , в яких додавання ХС в раціон кроликів призводило до утворення пошкоджень аорти , що нагадують атеросклеротичні ушкодження судин людини.

У останні роки в літературі широко обговорюється питання про роль перекисного окислення ліпідів в етіології і патогенезі атеросклерозу. Дійсно, мембрани клітин і субклітинних органел , а також ЛП плазми крові містять фосфоліпіди , в яких локалізовані поліненасичені жирні кислоти, що легко схильні до вільнорадикальному перекисного окислення в присутності кисню з утворенням відповідних перекисів ліпідів. Індукція перекисного окислення ліпідів в біомембранах може здійснюватися в супероксидних аніонах - радикалом кисню і іншими активними формами кисню, що утворюються в процесі функціонування ферментних систем мітохондріальних і мікросомальних ланцюгів перенесення електронів , при окисленні пуринів ксантинооксидазою в фагоцитуючих лейкоцитах

Крім того, в ряді клітин і тканин виявлені спеціалізовані ферменти - циклооксигенази і ліпоксигенази, що каталізують вільнорадикальне перекисне окислення арахідоната та інших поліненасичених жирних кислот з утворенням циклічних ендоперекисей та аліфатичних гідроперекисей відповідно.

Циклічні ендогенні перекисні сполуки є інтермедіатами ферментативного синтезу простагландинів, тромбоксанів та простацикліну - внутрішньоклітинних медіаторів , що беруть участь у регуляції цілого ряду найважливіших біохімічних процесів. Так , нестабільний метаболіт , що синтезується тромбоцитарной ЦО, - тромбоксан А₂ є досить активним контрактантом і агрегуються тромбоцитним агентом. У мікросомах ендотелію судин циклічні ендоперекисі зазнають ферментативну трансформацію в простациклін, який на противагу тромбоксану володіє

вираженою антиагрегаційною здатністю і викликає розслаблення гладкої мускулатури стінки судин.

Цитозольні ліпооксигенази здійснюють біосинтез аліфатичних моно - і дігідроперекисів та їх похідних - лейкотрієнів і ліпоксинів - фізіологічно активних ейкозаноїдів , відповідальних за імунні і запальні реакції організму, а також хемотаксис, хемокінез та інші клітинні реакції. Утворені ліпооксигеназою гідроперекиси поліненасичених жирних кислот та продукти їх відновлення також мають високу біологічну активність 5 - , 12 - і 15-гідроперекиси арахідоната є вазодилататорами , а 13-гідроксілінолеат , що синтезується за участю ліпооксигеназ ендотелію стінки судини, перешкоджає адгезії та агрегації тромбоцитів. Оскільки ліпоперокси вельми нестійкі і можуть піддаватися подальшій окисній деструкції , в процесі перекисного окислення ліпідів, крім первинних продуктів ,накопичується велика кількість вторинних продуктів. Найбільш важливими з них є ненасичені альдегіди , малоновий діальдегід і продукти його взаємодії з аміновмісними сполуками - флюоресцируючими основами Шиффа , а також компонентами, що утворюються при полімеризації окислених ліпідів і білків - віковими пігментами та ліпофусцином. Утворені в процесі перекисного окислення ліпідів і гідроперекисей ненасичені альдегіди і малондіальдегід є мутагенами і володіють вираженою цитотоксичністю: пригнічують активність гліколізу і окисного фосфорилування, інгібують синтез білків і нуклеїнових кислот, окислюють білкові тіоли і дисульфіди , порушують секрецію тригліцеридів гепатоцитами, викликають конверсію мікосомального цитохрому P450 в неактивну форму P420 , інгібують різні мембранно-зв'язані ферменти , у тому числі глюкозо-6-фосфатазу в мікосомах, а також аденілатциклазу і 5- нуклеотидази в плазматичних мембранах печінки.

Оскільки первинні та вторинні продукти перекисного окислення ліпідів мають виражену шкідливу дію , в організмі повинні існувати регуляторні механізми, що обмежують накопичення високотоксичних продуктів. Реакції

автоокислення поліненасичених жирних кислот в біомембранах можуть пригнічувати природні антиоксиданти, найважливішим з яких є токоферол. Провідну роль у регуляції процесів перекисного окислення ліпідів в організмі грають "антиоксидантні" ферменти, здатні утилізувати аніони-радикали кисню (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза та глутатіон-S-трансфераза) [41].

Виходячи з вищевикладеного, збільшення вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів в крові хворих на атеросклероз може бути пояснено збільшенням секреції окислених ліпопротеїдів гепатоцитами внаслідок інтенсифікації процесів перекисного окислення ліпідів в печінці, хоча не можна виключити можливість активації окислення поліненасичених жирних кислот - містять ліпопротеїди в процесі їх циркуляції в кров'яному руслі. Дійсно, атерогенні ліпопротеїди низької щільності вельми схильні до перекисного окислення, тоді як антиатерогенні ліпопротеїди високої щільності не тільки резистентні до окислення, а й здатні пригнічувати перекисне окислення ліпопротеїдів низької щільності в модельних системах.

Окислення ліпопротеїдів низької щільності супроводжується зміною конформації апопротеїну В і видаленням його частини з гідрофобною зоною у водну фазу, що в свою чергу повинно сприяти збільшенню не рецепторного захоплення атерогенних ліпопротеїдів низької щільності клітинами стінки судини. Накопичення малонодіальдегіду і ненасичених альдегідів при деструкції ПЛ може призводити до модифікації ліпопротеїдів низької щільності і збільшувати їх поглинання макрофагами - моноцитами або ендотеліальними клітинами, внаслідок чого вони перетворюються на пінисті клітини [42].

Виявлено, що в процесі модифікації ліпопротеїдів низької щільності ендотеліальними клітинами стінки судини відбувається індукція їх окислення, а інгібітори ліпооксигенази знижують накопичення ефірів холестерину в культивованих моноцитах людини, запобігаючи утворенню пінистих клітин. Посиленому окисленню ліпопротеїдів низької щільності при

гіперхолестеринемії і атеросклерозі , ймовірно, сприяє зниження активності глутатіонпероксидази в крові. В крові хворих на атеросклероз виявлена сильна зворотна кореляція між вмістом перекисей ліпідів та активністю глутатіонпероксидази. У резистентних до розвитку атеросклерозу щурів активність ліпопротеїдів низької щільності в крові значно вище , ніж у сприйнятливих до розвитку цієї патології кроликів і міні- свиней , причому при експериментальній гіперхолестеринемії активність ліпопротеїдів низької щільності в крові кроликів і свиней істотно знижується , але не змінється в крові щурів.

Оскільки гідроперекиси поліненасичених жирних кислот є потужними інгібіторами біосинтезу природного антітромбогенного фактора - простацикліну , зниження його вмісту в аорті при атеросклерозі може бути пов'язано з різким накопиченням перекисей ліпідів в крові в процесі атерогенезу . Зокрема, виявлено, що здатність ліпопротеїдів низької щільності хворих на атеросклероз інгібувати біосинтез простацикліну в ендотеліальних клітинах аорти може бути пояснена високим вмістом перекисей ліпідів в цих ліпопротеїдах. Оскільки глутатіонпероксидаза контролює швидкість біосинтезу тромбоксанів в тромбоцитах, можна вважати, що зниження активності цього ферменту в кров'яних пластинках при атерогенезі сприяє збільшенню вмісту тромбоксанів в крові.

Таким чином, накопичення перекисей ліпідів в плазмі крові та зниження активності глутатіонпероксидази в клітинах крові при атерогенезі може призводити до збільшення тромбоксан-простациклінового співвідношення, підвищується небезпека виникнення тромбозів.

У зонах атеросклеротичного ураження аорти відзначено збільшення вмісту фосфоліпідів, тригліцеридів , вільного і особливо естерифікованого холестерину, тобто ліпідних фракцій, які є потенційними субстратами перекисного окислення ліпідів. Незважаючи на те, що рівень активності антиоксидантних ферментів у клітинах з неураженої ділянок аорти вельми високий і часто перевищує рівень в клітинах з високою активністю цих

ферментів , таких як тромбоцити , активність супероксидисмутази та глутатіонпероксидази різко знижується в зонах атеросклеротичного ураження аорти , причому це зниження прогресує зі збільшенням ступеня атеросклеротичного ураження. Отже , надмірне надходження окислених ліпопротеїдів в аорту в процесі атерогенезу може створювати умови для різкої інтенсифікації процесів перекисного окислення в стінці судини *in situ* . Це твердження тим більш імовірно , що в аорті та інших судинах людини і тварин виявлені активні ліпооксигенази, причому є дані про збільшення ферментативного генерування перекисей ліпідів при атеросклерозі.

У атеросклеротично пошкодженій аорті з використанням різноманітних методів ідентифіковані гідроперекисні групи в ацильованих поліненасичених жирних кислотах, кількість яких, як показано, зростає із збільшенням ступеня атеросклеротичного ураження. Введення гідроперекисів або ендоперекисей поліненасичених жирних кислот інтактним тваринам викликає порушення ендотелію та інтими судин.

У процесі атерогенезу клітини гладеньких м'язів аорти мігрують з медії в інтиму, де починають активно проліферувати, створюючи клітинну основу атеросклеротичної бляшки. Посилення проліферації може бути обумовлено порушенням активності простагладинсинтетази в аорті, які накопичувались при атерогенезе ліпогідроперекисами і зниженням в результаті цього рівня природного інгібітора проліферації гладком'язових клітин - простагліну. Крім того , виявлено, що відновлені продукти ліпооксигеназного окислення арахідоната збільшують стимульовану тромбоцитарним ріст-фактором рухливість гладком'язових клітин у культурі, тобто накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів в аорті при атеросклерозі може бути одним з найважливіших факторів, що визначають посилення міграції і проліферації гладком'язових клітин аорти.

Як видно з викладених вище даних , у більшості робіт про роль перекисного окислення ліпідів в атерогенезі в якості ангіотоксичних продуктів розглядаються гідроперекиси поліненасичених жирних кислот,

фосфоліпідів та інших ацилвмісних ліпідів. Проте в останні роки встановлено, що холестерин, основний нейтральний ліпід біомембран, також може піддаватися автоокисленню з утворенням гідроперекисів, епоксидів, кетонів та інших полярних продуктів.

1.4 Стан вільнорадикальних процесів у пацієнтів, які страждають на ішемічну хворобу серця

З метою виявлення ролі процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту у розвитку ішемічної хвороби серця проведено комплексне вивчення рівня продуктів перекисного окислення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів у хворих на ішемічну хворобу серця з різним перебігом стабільної стенокардії та визначено їх взаємозв'язок з клініко-гемодинамічними параметрами. Встановлено, що концентрація первинних продуктів перекисного окислення ліпідів – ацилгідроперекисів ліпідів в еритроцитах хворих на ішемічну хворобу серця зі стабільною стенокардією була достовірно збільшена на 54,5% в порівнянні з даними здорових осіб. Виражена інтенсифікація процесів перекисного окислення ліпідів в крові хворих на стабільну стенокардію підтверджується істотним зростанням в еритроцитах і вмісту вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів – основ Шиффа, що виявляється при спектрофлуориметрії.

При оцінці вмісту первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації в еритроцитах хворих на ішемічну хворобу серця встановлено, що зміни рівнів ліпоперекисів взаємопов'язані з клінічним варіантом стенокардії. Концентрація первинних продуктів перекисного окислення ліпідів – ацилгідроперекисів ліпідів в еритроцитах хворих на стенокардію I – II функціонального класу мала тенденцію до підвищення в порівнянні з контролем, а в міру зростання тяжкості стенокардії їх рівень прогресивно

збільшувався. При стенокардії III функціонального класу вміст первинних продуктів перекисного окислення ліпідів значно перевищував дані здорових і хворих на стенокардію I - II функціонального класу (у 1,6). Максимальні показники ацилгідроперекисів ліпідів зареєстровані у хворих на стенокардію IV функціонального класу, їх значення були істотно вище контрольних величин та стенокардії I - II функціонального класу. По мірі підвищення функціонального класу стенокардії відзначено неухильне підвищення в еритроцитах пацієнтів і параметрів вторинних продуктів ліпопероксидації. При стенокардії I - II функціонального класу рівень флуоресціюючих продуктів перекисного окислення ліпідів був порівняний з контролем, а у хворих на стенокардію високих функціональних класів їх вміст значно збільшувався, досягаючи найбільших значень при стенокардії IV функціонального класу.

Таким чином, у хворих на ішемічну хворобу серця вже на етапі стабільної стенокардії відзначена інтенсифікація процесів перекисного окислення ліпідів в еритроцитах, найбільш високий рівень первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації зареєстрований при важкому перебігу і високому функціональному класі стенокардії. Результати дослідження свідчать, що ступінь ліпопероксидації знаходиться в прямій залежності від тяжкості перебігу ішемічної хвороби серця та адекватно відображає вираженість ішемії міокарда. Факт про наявність чіткого взаємозв'язку між показниками перекисного окислення ліпідів та клініко - функціональними параметрами, що відображають ступінь ішемії міокарда, імовірно, вказує на те, що продукти перекисного окислення ліпідів, володіючи вазоконстрикторними властивостями і здатністю пригнічувати ендотелійзалежну вазодилатацію судин, здатні в певних умовах посилювати ішемію міокарда та змінювати клінічний перебіг ішемічної хвороби серця. Кореляційні взаємовідносини виявлені у хворих на ішемічну хворобу серця між параметрами перекисного окислення ліпідів і показниками внутрішньосерцевої гемодинаміки. Ці результати узгоджуються з даними

експериментальних робіт, згідно з якими активація перекисного окислення ліпідів передує порушенням скоротливості міокарду, сприяючи виникненню надлишку Ca^{2+} в кардіоміоцитах. Виявлення чітких кореляційних зв'язків між показниками перекисного окислення ліпідів і параметрами внутрішньосерцевої гемодинаміки дозволяє вважати, що токсичні ліпоперекиси здійснюють шкідливу дію на міокард і провокують його ішемію, сприяють дестабілізації перебігу ішемічної хвороби серця.

Активність супероксидисмутази при стенокардії I - II функціонального класу мала тенденцію до підвищення, а у хворих на стенокардію III функціонального класу значно знижувалася в порівнянні з даними стенокардії I - II функціонального класу, наближаючись до контрольних величин. При важкому перебігу стенокардії IV функціонального класу концентрація супероксидисмутази зменшилася, її значення були достовірно нижче показників здорових людей і пацієнтів зі стенокардією I - II і III функціонального класу. Кореляційний аналіз виявив взаємозв'язок між активністю супероксидисмутази та клініко - функціональними параметрами. Отримані результати вказують на важливу роль змін активності антиоксидантних ферментів в інтенсифікації процесів перекисного окислення ліпідів і дестабілізації перебігу ішемічної хвороби серця і дозволяють рекомендувати визначення показників супероксидисмутази в якості додаткових діагностичних тестів, а також маркерів оцінки тяжкості перебігу ішемічної хвороби серця. Таким чином, зміни активності антиоксидантних ферментів сполучені з важкістю перебігу ішемічної хвороби серця: їх активація при нормальному рівні продуктів перекисного окислення ліпідів характеризує легкий і стабільний перебіг стенокардії, а падіння їх концентрації на тлі інтенсифікації перекисного окислення ліпідів пов'язане з важким і прогресуючим перебігом стенокардії.

Слід зважати, що при стабільній стенокардії легкого перебігу (I - II функціонального класу) є зростання антиоксидантного статусу, що мабуть, є захисною реакцією організму, спрямованою на придушення

ліпопероксидації . У той же час при стенокардії IV функціонального класу відзначено падіння активності антиоксидантних ферментів, що свідчить про виснаження компенсаторних можливостей антиоксидантної системи, нездатною стримувати надмірну інтенсифікацію процесів перекисного окислення ліпідів .

Вивчення характеру кореляційного зв'язку у хворих на ішемічну хворобу серця між показниками перекисного окислення ліпідів і антиоксидантних ферментів встановило залежності між активністю супероксидисмутази та рівнем первинних продуктів перекисного окислення ліпідів в еритроцитах ($r = -0,5$; $r = -0,45$; $p < 0,01$). Результати дослідження , що вказують на існування зворотного взаємозв'язку між активністю АОС і вмістом продуктів перекисного окислення ліпідів , свідчать про регулюючу роль антиоксидантних ферментів у метаболізмі ліпоперекисів при ІХС.

Отже, авторами встановлено тісний взаємозв'язок між параметрами перекисного окислення ліпідів і антиоксидантними ферментами , виявлено їх залежність з клініко - гемодинамічними параметрами. Характерною особливістю кореляційних взаємин є наявність виразного зв'язку між вираженістю процесів ремоделювання міокарду, інтенсивністю ліпопероксидації і активністю антиокислювальних ферментів.

2МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріал та схема дослідження

Дослідження проведено на базі Комунального некомерційного підприємства «Міська лікарня №6» Запорізької міської ради (автор конкурсної роботи має вищу медичну освіту, є практикуючим лікарем-кардіологом кардіологічного відділення вказаної комунальної установи).

Для комплексного дослідження біохімічних показників з числа хворих на гіпертонічну хворобу та стенокардію на фоні інфекції COVID-19 були сформовані 3 дослідні групи обстежених.

Першу дослідну групу склали 22 пацієнта з гіпертонічною хворобою, яких розподілили на дві підгрупи: 1) 11 пацієнтів у віці від 38 до 59 років (5 чоловіків, 6 жінок) з гіпертонічною хворобою I стадії; 2) 11 пацієнтів у віці від 42 до 63 років (6 чоловіків, 5 жінок) з гіпертонічною хворобою II стадії.

Другу дослідну групу склали 26 хворих на ішемічну хворобу серця, яких також розподілили на дві підгрупи згідно з існуючою класифікацією ВОЗ та наявності порушень ліпідного обміну: 1) 15 пацієнтів (9 чоловіків та 6 жінок) з стенокардією напруги; 2) 11 пацієнтів (5 чоловіків та 6 жінок) зі стенокардією спокою.

Третю дослідну групу склали 13 пацієнтів (8 чоловік та 5 жінок), які страждають на ішемічну хворобу серця у комбінації з гіпертонічною хворобою. Беручи до уваги досить невелику кількість осіб третьої дослідної групи, розподіл їх на підгрупи в залежності від перебігу захворювання не проводився.

Контрольну групу для всіх трьох дослідних груп склали 14 осіб без супутніх захворювань, відповідного з пацієнтами дослідних груп віку (7 чоловіків, 7 жінок), у яких було лабораторно підтверджене інфікування COVID-19.

У зразках венозної крові пацієнтів всіх груп визначали: 1) рівень маркерів вільнорадикального окислення ліпідів – вміст дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду; 2) рівень ферменту першої лінії антиоксидантного захисту: супероксиддисмутази.

Забір крові для біохімічних досліджень проводився вранці натще з вени хворого, що знаходився в горизонтальному положенні, широкою голкою, вкритою силіконом, в охолодженій шприц ємністю 10 мл. Кров негайно переносилася в крижані пробірки, оброблені розчином трилону Б (200 мл на 100 мл ізотонічного розчину хлориду натрію). Після цього проби центрифугували на холоді при 3000 об/хв. Отримана плазма забиралася на дослідження.

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Методика визначення рівня дієнових кон'югатів

Принцип методу. У процесі перекисного окислення ліпідів, в молекулах вищих жирних кислот утворюється система сполучення подвійних зв'язків, що супроводжується появою максимуму в спектрі поглинання при довжині хвилі 232 нм.

Реактиви:

Н- гептан ;

Ізопропанол .

Хід визначення .

Гептановий екстракт тканини, отриманий за методом Кейтса, кількісно переносили в кювету спектрофотометра і спектрофотометрували при довжині хвилі 232 нм з використанням в якості фонового розчину н-гептана . Розрахунок вмісту кон'югатів проводили з урахуванням коефіцієнта молярної екстинції , рівного

$2.2 \cdot 10^4 \text{ м} - 1 \cdot \text{см} - 1$ за формулою:

$$C = (E \cdot Y \cdot N) / (2,2 \cdot [10]^4 \cdot a),$$

де E – екстинція дослідної проби, K/S

V – обсяг гептанового екстракту,

a – обсяг біологічного матеріалу,

N – фактор кінцевого розведення.

Вміст дієнових кон'югатів виражали в мкм / мл плазми

мкм / мгНв .

2.2.2 Визначення вмісту малонового диальдегіда

Малоновий диальдегід (часто скорочено МДА) – сполука яка утворюється внаслідок окислювальної деградації поліненасичених жирів активними формами кисню.

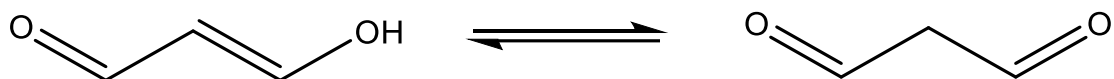


Рис. 2.1 – Структура малонового диальдегіду (представлено у вигляді таутомерів).

Малоновий диальдегід широко використовується як маркер перекисного окислення ліпідів (в тому числі при дії ультрафіолетового опромінення) та оксидативного стресу. Показано, що малоновий диальдегід здатний взаємодіяти з ДНК з утворенням відповідних аддуктів. Малоновий диальдегід відноситься до так званих «тіобарбітуратреактивних сполук», вступає у взаємодію з тіобарбітровою кислотою, утворюючи червоний флуоресцентний продукт. Зазначена реакція покладена в основу

спектрофотометричного визначення малонового диальдегіду. Більш селективним реагентом для визначення малонового диальдегіду є 1-метил-2-феніл-індол.

Даний метод визначався при кип'ятінні в кислому середовищі як і ряд інших ТБК – залежних продуктів реагує з тіобарбітурової кислотою, утворюючи забарвлений комплекс з максимумом поглинання при 532 нм , оптична щільність прямо пропорційна змісту МДА [45].

Реактиви:1) 1 % розчин ортофосфорної кислоти;2) 0.6 % розчин тіобарбітурової кислоти (ТБК);3) у- бутанол.

Хід визначення/. До 0,5 мл біоматеріалу додають 3,0 мл 1 % розчину ортофосфорної кислоти і 1,0 мл 0,6 % розчину ТБК . Пробірки поміщають у водяну баню на 1 годину. Потім пробірки охолоджували в холодній воді , додавали 4,0 мл н-бутанола , ретельно перемішували і центрифугували при 10 хвилин при 3000С об./ хв . Вимірювали оптичну щільність верхньої фази при довжині повні 535 нм проти н- бутанолу . Коефіцієнт молярної екстинції МДА дорівнює $1,56 \cdot 10^5 \text{ м}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Вміст малонового диальдегіду розраховували за формулою:

$$A = (10 \cdot V \cdot Y) / (1,56 \cdot [10]^{(4)}) \cdot N, (2.15)$$

У – обсяг н- бутанолового екстракту ;

Е – екстинція проби;

а – мл плазми , еритроцитарної маси ;

N – показник розведення.

Вміст малонового диальдигіду виражали в мм / мл плазми або мм / мг еритроцитарної маси.

2.2.3 Методика визначення супероксиддисмутази в еритроцитах

Супероксиддисмутаза є складовою частиною ферментної системи антиоксидантного захисту організму.

Методика визначення активності супероксиддисмутази в еритроцитах була описана описаною Чеварі С. і співавторами [43]

Принцип методу. Супероксиддисмутаза конкурує з тетразолієм нітросинім (НСТ) за супероксидрадикалами, що утворюються в результаті аеробної взаємодії відновленої форми нікотиаміддинуклеотиду (НАДН) і феназінметансульфата (ФМС). У результаті цієї реакції НСТ відновлюється до гідразінтетразолія. У присутності супероксиддисмутази відсоток відновлення НСТ змінюється .

Реактиви: 1) 0,15 М фосфатний буфер, рН 7,8 ; 2) 0,05 М трис - НСІ - буфер, рН 8,0 ;

Реагент I (6,2 мг трилону Б ; 50,0 мг НСТ , 9,2 мг ФМС , розчинених у 100,0 мл фосфатного буфера, рН 7,8) ;

Реагент II (76,7 мг НАД -Н , розчиненого в 100,0 мл трис - НСІ - буфера, рН 8,0).

Хід визначення.

До 0,03 мл еритроцитів додавали 2,0 мл реагенту 1 , після ретельного перемішування додавали 0,1 мл реагенту II , через 10 хв. фотометрувати при довжині хвилі 540 нм. Паралельно ставили контрольну пробу з еритроцитами. Реакцію проводили при 37 ° С. Нуль виставляли по реагенту

Для розрахунку активності обчислювали відсоток гальмування відновлення НСТ за формулою:

$$T \% = (E_{\text{к}} - E_{\text{о}}) / E_{\text{о}} \cdot 100 \% , (2.9)$$

де $E_{\text{к}}$ -оптична щільність контрольної проби ,

$E_{\text{о}}$ -оптична щільність дослідної проби .

Активність СОД розраховували за формулою:

$$A = T_{\%} / (100 - T_{\%}) \cdot 2N / a, \quad (2.10)$$

де $T_{\%}$ - відсоток гальмування відновлення НСТ,

N - фактор кінцевого розведення ,

a - кількість гемоглобіну в пробі.

Активність СОД (супероксидисмутази) виражали в умовних одиницях (мкат / (мгНв / хв)).

2.2.4 Статистична обробка отриманих результатів

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням параметричних методів обрахунку. Спочатку проводили перевірку гіпотези про нормальне поширення даних по кожному показнику (побудова гістограм з накладанням кривої нормального розподілу). Практично всі фактори підкорялися параметричному розподілу. За програмою загальної статистики здійснювали розрахунок частоти досліджуваних показників, обчислення середньої арифметичної (M) і помилки середньої арифметичної (m) кожного досліджуваного показника. Для визначення достовірності відмінності між досліджуваними показниками по групах застосовувався критерій Стюдента. Значущими вважали ті показники, у яких рівень відмінностей становив $p \leq 0,05$.

ЗЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Дослідження стану оксидативних процесів та активності антиоксидантного захисту у хворих, які страждають на гіпертонію

Показники стану оксидативних процесів та активності антиоксидантного захисту у хворих, які страждають на гіпертонію (перша дослідна група), представлені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Стан оксидативних процесів та активність антиоксидантного захисту у хворих на гіпертонічну хворобу.

Показники	Групи обстежених осіб		
	Контрольна група, n=14	Хворі ГХ I стадії, n=11	Хворі ГХ II стадії, n=11
ДК в плазмі (Мкм / мл плазми)	3,70±0,15	6,12±0,13*	7,04±0,12*
МДА в плазмі (Мм / мл плазми)	0,63±0,05	1,33±0,05*	1,61±0,03*
СОД (мкат / (мг Нв / хв))	150,42±5,1	89,88±2,57*	68,91±2,79*

Примітка.* - показники, що статистично значимо відрізняються від даних групи контролю ($p \leq 0,05$).

Одержані дані (таблиця 3.1) свідчать про значну інтенсифікацію вільнорадикальних процесів у осіб з артеріальною гіпертензією. Так, рівень дієнових кон'югатів (ДК) у хворих на гіпертонічну хворобу I стадії відносно показників контрольної групи підвищився в середньому на 60,6 %, а малонового діальдегіду (МДА) – на 99,1 %.

При цьому у хворих на гіпертонічну хворобу II стадії рівень дієнових кон'югатів підвищився на 80,4 %, а малонового діальдегіду — на 134,8 %.

Рівень майже всіх показників свідчить про достовірно вищу активність вільнорадикальних процесів у хворих на артеріальну гіпертензію, ніж у групі порівняння.

Виражені зміни спостерігаються також у ферментній системі антиоксидантного захисту організму. Рівень активності супероксиддисмутази (СОД) при гіпертонічній хворобі I та II стадії знизився на 37,2 % та 51,1 % відповідно. За даними експерименту активність концентрації супероксиддисмутази статистично значимо знижується порівняно з контрольною групою. У хворих на COVID-19 спостерігається виражений оксидативний стрес внаслідок дисбалансу між адаптаційними можливостями внутрішньоклітинного ферментативного антиоксидантного захисту та активністю вільнорадикальних процесів. Можна стверджувати, що з прогресуванням захворювання відбувається й інтенсифікація вільнорадикальних процесів.

3.2 Стан оксидативних процесів та активності антиоксидантного захисту у хворих, що страждають на ішемічну хворобу серця

Ішемічні процеси будь-якої етіології завжди супроводжуються підвищенням вільнорадикальних процесів. Перш за все це пов'язано з розвитком альтернативних окислювальних шляхів. Найбільш детально зазначені процеси описані на прикладі ішемії головного мозку. Висока інтенсивність перекисних процесів в даному випадку пов'язана з тим, що більш ніж 50% сухої речовини головного мозку - ліпіди, які містять ненасичені жирні кислоти (основний субстрат для перекисного окислення). Однак і при інших ішемічних ураженнях вільнорадикальні процеси є однією з основних складових ланок патогенезу. Аналіз стану перекисного окислення ліпідів при ішемічній хворобі серця додатково ускладнюється тим, що часто

етіологією ішемічної хвороби серця є порушення ліпідного спектру крові, що також може стати причиною інтенсифікації перекисного окислення.

Показники вмісту продуктів вільнорадикального окислення ліпідів у плазмі крові та стан антиоксидантного захисту хворих на ішемічну хворобу серця (друга дослідна група) представлені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Вміст продуктів вільнорадикального окислення ліпідів у плазмі крові та стан антиоксидантного захисту хворих на ішемічну хворобу серця.

Показники	Групи обстежених осіб		
	Контрольна група, n=14	Хворі на стенокардію напруги, n=15	Хворі на стенокардію спокою, n=11
ДКв плазмі (Мкм / мл плазми)	3,70±0,15	7,53±0,13*	8,43±0,12*
МДА в плазмі (Мм / мл плазми)	0,63±0,05	1,44±0,05*	1,88±0,03*
СОД (мкат / (мг Нв / хв))	150,42±5,1	93,48±2,57*	72,22±2,60*

Примітка.* - показники, що статистично значимо відрізняються від даних групи контролю ($p \leq 0,05$).

Ішемічні процеси будь-якої етіології завжди супроводжуються активацією вільнорадикального окиснення ліпідів, окисної модифікації білків, нуклеїнових кислот, окисного пошкодження клітинних мембран, що призводить до порушення серцевої діяльності та є основним чинником формування окисного стресу. Аналіз стану перекисного окислення ліпідів при ішемічній хворобі серця додатково ускладнюється тим, що часто етіологією ішемічної хвороби серця є порушення ліпідного спектру крові, що також може стати причиною інтенсифікації перекисного окислення.

Результати дослідження (таблиця 3.2) показали, що при ураженні COVID-19 у пацієнтів, які страждають на стенокардію, відбувається посилення процесів вільнорадикального окислення. Так, рівень дієнових кон'югатів у хворих на стенокардію напруги підвищувався в середньому на 77,2%, а малонового діальдегіду - на 121,6%. Водночас у хворих на стенокардію спокою рівень дієнових кон'югатів підвищувався на 98,0%, а малонового діальдегіду – на 189,5%.

Антиоксидантна активність СОД у хворих на стенокардію напруги та спокою знизилась на 37,8% та 51,9% відповідно. Ці результати свідчать про часткове виснаження супероксиддисмутази та підтверджують виникнення оксидативного стресу та пошкодження кардіоміоцитів, що свідчить про можливість поглиблення патологічних змін у міокарді.

3.3 Стан оксидативних процесів та активності антиоксидантного захисту у хворих, що страждають на ішемічну хворобу серця у комбінації з гіпертонічною хворобою

Враховуючи одержані дані (таблиця 3.1 та 3.2), які свідчать про значне порушення процесів перекисного окислення як у пацієнтів, які страждають на гіпертонічну хворобу, так і стенокардію, було вирішено провести визначення рівня відповідних маркерів у пацієнтів, які страждають на ішемічну хворобу серця у комбінації з гіпертонічною хворобою (третя дослідна група). Отримані біохімічні показники таких хворих наведені у таблиці 3.3.

Як видно з приведених даних таблиці 3.3 рівні показників, як і у попередніх випадках (таблиця 3.1 та 3.2) свідчать про значну інтенсифікацію перекисних процесів. Рівень дієнових кон'югатів у досліджуваній групі осіб, хворих на ішемічну хворобу серця у комбінації з гіпертонічною хворобою, в середньому підвищився на 213,2%, а рівень малонового діальдегіду – на

219,0%. Необхідно відзначити, що рівні продуктів знаходяться на рівні, подібному до того, який спостерігався у пацієнтів, які страждають на стенокардію спокою, що може свідчити про основний вклад зазначеної патології у формуванні вільнорадикальних та перекисних процесів.

Таблиця 3.3 –Стан оксидативних процесів та активності антиоксидантного захисту у хворих, що страждають на ішемічну хворобу серця у комбінації з гіпертонічною хворобою.

Показники	Групи обстежених осіб	
	Контрольна група, n=14	Хворі на стенокардію у поєднанні з гіпертонічною хворобою, n=13
ДКв плазмі (Мкм / мл плазми)	3,70±0,15	7,89±0,14*
МДА в плазмі (Мм / мл плазми)	0,63±0,05	2,01±0,05*
СОД (мкат / (мг Нв / хв))	150,42±5,1	69,03±2,9*

Примітка.* - показники, що статистично значимо відрізняються від даних групи контролю ($p \leq 0,05$).

Дослідження стану системи антиоксидантного захисту у хворих на ішемічну хворобу серця у комбінації з гіпертонічною хворобою вказали на значне виснаження компенсаторних систем організму, завданням яких є протидія оксидативному стресу. Рівень супероксиддисмутази у таких пацієнтів знизився у 2,2 рази.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ

У процесі проведення біохімічних досліджень приходиться мати справу з біологічно активними речовинами, електроприладами і лабораторним посудом. Необережність у звертанні з хімікатами і приладами, неухважність і неправильне проведення роботи можуть мати важкі наслідки.

Техніка безпеки поряд з виробничою санітарією є частиною охорони праці. Під технікою безпеки розуміють сукупність технічних засобів і прийомів виконання операції, що зводять до мінімуму ризик на роботі. Безпека проведення у лабораторіях повинна забезпечуватися відповідно до вимог ДСТ 12.3.002-75 та інших діючих нормативних актів.

Техніка безпеки при проведенні наукових досліджень.

Відповідність санітарно-гігієнічного режиму лабораторії встановленим нормам є запорукою безпечної роботи дослідника. У робочій зоні лабораторії повинні дотримуватися визначені параметри температури, вологості, освітлення, швидкість переміщення повітря усе повинно відповідати вимогам ДНАОП 0.03-3.15-86. Дуже важливо, щоб у приміщенні не створювався застій повітря. Повітря робочої зони повинно відповідати ДСТу 12.1.005-88 [46].

Необхідно забезпечувати постійний його рух, шляхом відкриття вікон, у випадку використання отруйних та неприємно пахучих речовин, приточно витяжної вентиляції, що повинна відповідати Сніп 2.04.05-99 і ДНАОП 0.03-3.15-89. Важливе значення має створення нормальної освітленості робочого місця. Освітленість створюється сонцем і за допомогою ламп накаливання або люмінесцентних ламп. Природне і штучне освітлення лабораторії повинне відповідати вимогам Сніп 11-4-79 [48].

При роботі з хімічними реактивами обов'язковий спецодяг (халат з бавовняної тканини) згідно ст. 163 кодексу законів про працю України і ДНАОП 0.00-4.26-96. У тканині не повинно бути добавок синтетичних

волокон, тому що у випадку займання оплавлені частини халату важко видалити з одягу [47].

При проведенні дослідів у лабораторії застосовується хімічний посуд: загального і спеціального призначення, і мірний. Дуже часто використовуються пробірки. Неприпустимо, щоб пробірка була наповнена до країв, щоб уникнути вихлюпування і попадання рідин на шкіру експериментатора. Зовсім неприпустимо закривати пробірку пальцем і струшувати її в такому виді, оскільки можна зашкодити шкіру пальця чи одержати опік. При нагріванні відкритий кінець пробірки повинен бути звернений убік від працюючого і від сусідів по столу, щоб уникнути попадання на шкіру чи в очі випадково виплеснутої рідини. При митті посуду треба стежити за тим, щоб йорш не вдарявся об дно і стінки посуду тому, що так можна вибити дно чи проломити стінку і поранитися. У раковину не можна виливати і викидати концентровані розчини кислот і лугів, що дурно пахнуть, та отруйні речовини, і т.п. При виливанні в раковину таких речовин можливе їхнє випаровування й отруєння повітря лабораторії. Концентровані кислоти і луги необхідно попередньо сильно розбавити чи нейтралізувати, щоб уникнути руйнування каналізаційної мережі [48].

Вимоги безпеки перед початком роботи в лабораторії:

- 1) отримати завдання від керівника робіт;
- 2) перевірити стан та одягти спецодяг, спецвзуття та засоби індивідуального захисту;
- 3) включити припливно-витяжну вентиляцію за 10 - 15 хв. до початку роботи;
- 4) перевірити справність приладів, обладнання; наявність необхідних реактивів;
- 5) при необхідності включити вентиляцію у витяжній шафі;
- 6) перед проведенням робіт із застосуванням вакууму випробувати установку на герметичність;

7) при виявленні несправностей обладнання та засобів захисту, сповістити керівника робіт та не приступати до роботи до усунення виявлених несправностей.

Вимоги безпеки під час роботи в лабораторії:

1) всі операції, пов'язані із застосуванням або можливим утворенням і виділенням отруйних, їдких речовин, які володіють запахом, виконувати тільки у витяжній шафі при працюючій загальнообмінній вентиляції із застосуванням засобів індивідуального захисту;

2) для нагрівання рідин не використовувати відкрите полум'я;

3) при нагріванні рідини у пробірці необхідно спрямовувати її у бік від себе й осіб, які знаходяться поруч;

4) при збовтуванні розчину у колбах і пробірках закривати їх тільки пробками;

5) не залишати запалені пальники та інші нагрівальні прилади без нагляду;

6) не зберігати будь-які речовини невідомого походження без напису й етикеток;

7) виливати відпрацьовані рідини, відходи тільки у спеціальну тару;

8) нагріваючи рідину в пробірці або колбі, необхідно закріплювати їх так, щоб отвір пробки або шийка колби були направлені в напрямі від себе і сусідів по роботі; при цьому посуд наповнюють рідиною не більше, ніж на третину об'єму. Протягом усього процесу нагрівання не дозволяється нахилитися над посудиною і заглядати в неї;

9) при нагріванні біологічних, хімічних речовин в пробірці або колбі не дозволяється тримати їх руками, треба закріплювати в тримачі для пробірок або в лапці штатива (зжим повинен бути біля отвору пробірки).

Вимоги безпеки після закінчення роботи:

1) вимкнути обладнання, газові пальники, електроприлади, закрити воду, вимкнути електроенергію;

- 2) хімікати, реактиви та інші речовини і матеріали покласти у відведене для них місце;
- 3) прибрати робоче місце;
- 4) спецодяг, спецвзуття та засоби індивідуального захисту покласти у відведене для них місце;
- 5) помити руки, лице теплою водою з милом; при можливості прийняти душ;
- 6) доповісти керівнику робіт про всі недоліки, які мали місце під час роботи [46, 47, 48].

Вимоги безпеки в надзвичайних ситуаціях.

До нещасних випадків, які можуть статися при виконанні моєї роботи, відносяться електротравми, попадання біологічних рідин, крові на одяг, шкіру і слизові оболонки.

Тому дуже важливо знати першу медичну допомогу при цих випадках, щоб зарадити їм і їхнім наслідкам.

При роботі з сироваткою крові можливе її потрапляння на шкіру, одяг, слизові оболонки. Всі біологічні рідини треба сприймати як потенційно заражені ВІЛ-інфекцією, тому згідно приказу № 120 МОЗ України від 20.05.00 розроблена перша допомога при цих випадках .

Так при потраплянні сироватки на халат, потрібно його зняти і замочити у дезінфікуючому розчині на 1 годину. Таким дез. розчином може бути 0,5% р-н хлорантоїну, 0,5% р-н дезактину, 0,05% р-н бактоліну.

Якщо ж сироватка потрапила на шкіру, потрібно обробити уражену ділянку одним із дезинфікатором – це може бути 700 спирт, 3 % р-н перекисі водню, 5 % р-н йоду. Потім промити шкіру двократно під проточною водою з милом, висушити стерильним рушником і знову обробити дезинфікатором.

При потраплянні сироватки на слизові оболонки очей потрібно промити очі великою кількістю води і закапати 30 % р-ном альбуциду, якщо ж сироватка потрапила на слизові оболонки ротової порожнини, потрібно

прополоскати рот 700 спиртом. Про всі випадки аварії потрібно повідомляти курівництво підприємства.

Електротравми можуть виникати при доторканні за провід, який знаходиться під напругою. Із-за скорочення м'язів людина не може самостійно звільнитися. Електротравми можуть призвести до зупинки серця, дихання, ураження головного мозку.

Рятування потерпілого від електротравми повинно починатися з звільнення його від джерела струму. При цьому повинно пам'ятати і дотримуватися деяких правил техніки безпеки. По-перше, для зупинення дії струму краще всього повернути вимикач, вимкнути рубильник, вивернути пробки на щітку. Якщо це з яких то причин не можливо, треба звільнити потерпілого від електропроводу. Для цього потрібно одягти гумові рукавички або обмотати руки шматком шовкової тканини и користуватися сухою дерев'яною палкою. Ні в якому разі не можна доторкатися до потерпілого голими руками.

По-друге, при відсутності при знаків життя після звільнення потерпілого від дії електричного струму потрібно почати проведення реанімаційних заходів.

По-третє, якщо ваші дії виявилися успішними і потерпілий ожив, вам необхідно, не втрачаючи часу, накласти асептичні пов'язки на «мітки струму», які є опіками, і відвезти потерпілого в лікарню [49].

Пожежна безпека.

Пожежна безпека в лабораторії повинна забезпечуватися шляхом проведення організаційних, технічних та інших заходів відповідно до Правил пожежної безпеки в Україні.

Для попередження виникнення пожежі не допускається:

- курити у виробничих приміщеннях;
- залишати папір та інші легкозаймисті матеріали на шафах і за шафами, на радіаторах центрального опалення, близько до електропроводів і електроприладів;

- нагрівати легкозаймисті речовини на відкритому вогні, електроплитах тощо (нагрівати слід на піщаній (або водяній) бані);
- залишати без нагляду ввімкнені електроприлади, плити, електричне освітлення;
- порушувати електропроводку, заставляти шафами й завішувати плакатами, картинами, газетами тощо електропроводи, електровимикачі, розетки;

У коридорах або в добре доступних місцях повинні бути розташовані щити з набором протипожежного інвентарю, вогнегасники, ящики з піском та пожежний гідрант. Вогнегасники слід також розташовувати в приміщеннях, де проводяться роботи з вогненебезпечними або вибуховими речовинами і небезпечними в пожежному відношенні нагрівальними приладами.

У газовій мережі лабораторії повинен бути встановлений загальний аварійний кран.

При загорянні легкозаймистих речовин для їхнього гасіння слід використовувати вогнегасник, пісок, листовий азбест, азбестову тканину або вовняну ковдру.

При виникненні пожежі необхідно викликати пожежну охорону, зачинити вікна та квартирки, вимкнути вентиляцію та електроприлади, винести з приміщення горючі рідини, лужні метали й фосфор [50].

Техніка безпеки при роботі на комп'ютері.

До роботи на комп'ютері допускаються особи, що пройшли навчання та інструктаж з охорони праці. Усі особи, що працюють на комп'ютері, повинні знати міри захисту та прийоми надання першої долікарської допомоги при ураженні електричним струмом.

Вмикання комп'ютерів до електричної мережі здійснюється тільки через спеціально встановлені електричні розетки або вилки із заземленням. Підключення комп'ютера дротом без вилки забороняється.

Покриття стола повинно бути матовим з коефіцієнтом відбиття 0,25 – 0,4. Освітлення робочих місць в горизонтальній площині на рівні 0,8 м від підлоги повинно бути не менше 400 лк. Для штучного освітлення в дисплейних залах, як правило, слід застосовувати люмінесцентні лампи типу ЛБ.

Перед початком роботи видалити пил з екрану, установити захисний екран, перевірити захисне заземлення (занулення), упевнитись у наявності засобів гасіння вогню.

Відстань від очей користувача до екрану дисплея повинна становити 50 – 70 см, кут зору 10-200, але не більше 400. Переважним є розташування площі екрану перпендикулярно до лінії зору користувача. Руки користувача повинні розташовуватися на робочому столі в горизонтальному положенні, або злегка нахилені, кут ліктя повинен складати 70-90°, необхідна гарна опора для спини та сідниць.

Необхідно передбачити дотримання регламентованих перерв, активне їх проведення, регулярне заняття виробничою гімнастикою, рівномірне розподілення завдань.

При виникненні аварійної ситуації металоконструкції ЕОМ опинилася під напругою. При доторканні до неї відчувається проходження струму. При спалахуванні проводки в середині апаратури – необхідно вимкнути електроспоживання ЕОМ, вимкнувши вилку.

Після закінчення робіт необхідно від'єднати апаратуру від електромережі [51].

Таким чином, виконання умов охорони праці допомогли мені уникнути небезпечних випадків та травмувань під час підготовки та проведення досліджень.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на гіпертонічну хворобу з супутнім діагнозом COVID-19 спостерігається підвищення маркерів вільнорадикального окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, та зниження антиоксидантної активності ферменту супероксиддисмутази. Рівень відхилень залежить від стадії гіпертонічної хвороби.
2. У хворих на стенокардію із супутнім COVID-19 спостерігається посилення вільнорадикальних процесів та зниження ефективності антиоксидантного захисту. У хворих на стенокардію спокою ці процеси більш виражені в порівнянні з хворими на стенокардію напруги.
3. При наявності у пацієнтів, що хворіють на COVID-19, одночасно гіпертонічної хвороби та стенокардії спостерігається значне погіршення основних індикаторів вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У результаті роботи нами вважається за доцільне рекомендувати включення до переліку клінічних досліджень у хворих з такими серцево-судинними захворюваннями, як гіпертонія та ішемічна хвороба серця, обтяженими інфікуванням COVID-19, лабораторних показників оцінки стану перекисних та вільнорадикальних процесів дозволить більш коректно спланувати фармакотерапію зазначених патологічних станів, зокрема обґрунтувати включення до схем лікування антиоксидантних препаратів.

2. Отримані результати можуть бути використані при провадженні навчального процесу в закладах вищої освіти, зокрема при викладанні дисциплін «Імунологічні методи лабораторної діагностики», «Біохімічні методи лабораторної діагностики», «Клінічна (лабораторна) імунологія», «Клінічна біохімія».

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Інформаційний бюлетень Всесвітньої організації з охорони здоров'я №515 від 20 квітня 2019 року.
2. Серцево-судинні захворювання — головна причина смерті українців. Висновки з дослідження глобального тягаря хвороб у 2019 році [Електронний ресурс] <https://phc.org.ua/news/sercevo-sudinni-zakhvoryuvannya-golovna-prichina-smerti-ukrainciv-visnovki-z-doslidzhennya>
3. Yan Xie, Evan Xu, Benjamin Bowe, Ziyad Al-Aly. Long-term cardiovascular outcomes of COVID-19. *Nature Medicine*. Vol. 28, №3. 2022. P. 583-590.
4. Lu, Y., Weng, L. New Therapeutic Approaches Against Inflammation and Immune Regulation in Metabolic Related Diseases. *Frontiers in Pharmacology*. Vol. 13, №3. – 2022.
5. Bajoulvand R, Hashemi S, Askari E, Mohammadi R, Behzadifar M, Imani-Nasab MH. Post-pandemic stress of COVID-19 among high-risk groups: A systematic review and meta-analysis. Vol. 319. 2022. P. 638-645. DOI: 10.1016/j.jad.2022.09.053.
6. Wang, L., Gao, T., Li, Y., Shen, P., Wang, B. A long-term anti-inflammation markedly alleviated high-fat diet-induced obesity by repeated administrations of overexpressing IL10 human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Research and Therapy*. Vol 13(1). №6. 2022. DOI: 10.1186/s13287-022-02935-8
7. Sabban E. L., Schilt N., Serova L.I. Kinetics and Persistence of Cardiovascular and Locomotor Effects of immobilization Stress and Influence of ACTH treatment. *Neuroendocrinology*. Vol. 89. 2018. P. 236-241
8. Nobumasa Ohara, N., Uemura, Y., Mezaki, N., (...), Kaneko, K., Kamoi, K.. Histopathological analysis of spontaneous large necrosis of adrenal

pheochromocytoma manifested as acute attacks of alternating hypertension and hypotension / *Journal of Medical Case Reports*. Vol. 10, 2016. P. 1-6

9. Olié, E., Dubois, J., Benramdane, M., Guillaume, S., Courtet, P.. Poor mental health is associated with loneliness and boredom during Covid-19-related restriction periods in patients with pre-existing depression. *Journal of Affective Disorders*. Vol. 319. 2022. P. 446-461. doi: 10.1016/j.jad.2022.09.040.

10. Mikkelsen, H.T., Småstuen, M.C., Haraldstad, K., Skarstein, S., Rohde, G.. Changes in health-related quality of life in adolescents and the impact of gender and selected variables: a two-year longitudinal study. *Health and Quality of Life Outcomes*. Vol. 20, №8. – 2022

11. Oname, A., Abbas, M., Din, A. Global asymptotic stability, extinction and ergodic stationary distribution in a stochastic model for dual variants of SARS-CoV-2. *Mathematics and Computers in Simulation*. Vol. 204. 2023. P.: 302-336. DOI: 10.1016/j.matcom.2022.08.012. Epub 2022 Aug 29.

12. Almzaiel, A.J., Jabbar, N.K., Al-Ziaydi, A.G. Mitochondrial Dysfunction Associated with Low Expression of Bcl-2: an Inflammatory Mediator in Diabetic Patients with Atherosclerosis. *Malaysian Journal of Chemistry*. Vol 23 № 4– 2021. P. 1-17.

13. Rajendran, K., Thankachan, A., Sreedharan, M.K., Salam, A. Pre-excitation syndrome presenting with acute myocardial infarction. *BMJ Case Reports*. Vol.15. 2022. DOI: 10.1136/bcr-2022-250667

14. Celenk, V., Celenk, C. Myocardial bridging in adult with hypertrophic cardiomyopathy: Imaging findings with coronary computed tomography angiography. *Radiology Case Reports*. Vol. 17, No12. 2022. P. 4627-4631. DOI: 10.1136/bcr-2022-250667.

15. Zhu, Y., Zhang, X., Peng, Z. Consequences of COVID-19 on the cardiovascular and renal systems. *Sleep Medicine*. Vol. 100. 2022. P. 31–38. Published online 2022 Aug 3. doi: 10.1016/j.sleep.2022.07.011

16. Kopustinskiene, D.M., Bernatoniene, J., Jakstas, V., Morkuniene, R. The effects of catechins on the cardiac mitochondria. *Mitochondrial Physiology*

and Vegetal Molecules: Therapeutic Potential of Natural Compounds on Mitochondrial Health. Chapter №22 P. 471-487. – 2021.

17. Chen, H., Chen, C., Spanos, M., Bei, Y., Xiao, J. Exercise training maintains cardiovascular health: signaling pathways involved and potential therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* Vol. 7. 2022. doi: 10.1038/s41392-022-01153-1.

18. Mirzadeh, S.I., Arefeen, A., Ardo, J., Ghasemzadeh, H., Evangelista, L.S. Use of machine learning to predict medication adherence in individuals at risk for atherosclerotic cardiovascular disease . *Smart Health.* Vol. 26. 2022. DOI: 10.1016/j.smhl.2022.100328

19. Babulal, S.M., Chen, T.-W., Akilarasan, M., Al-Mohaimed, A.M., Elshikh, M.S. One-pot synthesis of hetero-structured binary metal oxide electrocatalyst for the potential detection of nifedipine in biological and environmental samples. *Materials Today Chemistry.* Vol. 26, №12. 2020

20. Balint, I., Vučak, J., Bašić-Marković, N., Klarić, D., Šakić, V.A. Pathophysiology Of The Cardiorenal Syndrome / *Acta medica Croatica : casopis Hrvatske akademije medicinskih znanosti.* Vol. 70, №12. 2017. P.:325-331

21. Tayal D., Goswami B., Tyagi S. Interaction between dyslipidaemia, oxidative stress and inflammatory response in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Cardiovasc. J. Afr.* Vol. 23, No1. 2012. P. 23–27. DOI: 10.5830/CVJA-2010-092.

22. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science.* Vol. 201, №4359. 1978. DOI: 10.1126/science.210504

23. Білецький С.В., Дзяк Г.В., Лутай М.І. Характеристика вільно радикального окислення ліпідів та стан антиоксидантного захисту у хворих на гострий коронарний синдром. *Український кардіологічний журнал (Матеріали XVIII Національного Конгресу кардіологів України 20-22 вересня 2017 р.)* Київ. 2017.

24. Tombor, L.S., Dimmeler, S. Why is endothelial resilience key to maintain cardiac health? / *Basic Research in Cardiology*. Vol. 117. 2022. DOI: 10.1007/s00395-022-00941-8.
25. Yi, H.J., Shin, D.-S., Kim, B.-T. Elevated blood viscosity is associated with delayed cerebral ischemia in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. Vol. 31(12). 2022. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2022.106732.
26. Munzel T. Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann. Med.* Vol. 40. 2018. P. 180-196.
27. Rahman, M., Irmeler, M., Introna, M., Upadhyay, S., Ganguly, K. Insight into the pulmonary molecular toxicity of heated tobacco products using human bronchial and alveolar mucosa models at air–liquid interface. *Scientific Reports*. Vol. 12. 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-20657-y
28. Alloush, T.K., Alloush, A.T., Marzouk, F., Abdulghani, K.O., Shokri, H.M. Post-COVID isolated subclavian artery dissection with multiple cerebral infarctions. *Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. No 58. 2022. P. 114-123.
29. Дзяк Л.А., Цуркаленко О.С., Сук В.М. Перспективні терапевтичні цілі для захисту мозку в разі гострої ішемії./ ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро./ *Infusion & Chemotherapy*. № 2–2019. С. 9-13.
30. Medvegy, M., Simonyi, G. Supplementary Therapeutic Possibilities to Alleviate Myocardial Damage Due to Microvascular Dysfunction in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Cardiology and Therapy*. Vol. 10, No1. 2021. P. 1-7.
31. Lopes, F.N.C., da Cunha, N.V., de Campos, B.H., (...), Pinge-Filho, P., Martins-Pinge, M.C. Antioxidant therapy reverses sympathetic dysfunction, oxidative stress, and hypertension in male hyperadipose rats. *Life Sciences*. Vol. 295. 2022. P. 1204-1215.

32. Фармакологія за Рангом і Дейлом: 9-е видання: у 2 томах. Том 1 / Джеймс М. Ріттер, Род Флавер, Грем Гендерсон, Юн Конг Лоук, Девід Мак'юен, Гамфрі П. Ранг. Київ: ВСВ «Медицина» - 2021.- 588 с.

33. Лавришин Ю.Ю., Вархоляк І.С., Мартишук Т.В., Гута З.А., Іванків Л.Б. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гіжцького*. 2016. Т 18 №2 (66). С. 100-111.

34. Noguchi, K., Ali, T.F.S., Miyoshi, J., Otsuka, M., Morioka, M. Neuroprotective effects of a novel carnosine-hydrazide derivative on hippocampal CA1 damage after transient cerebral ischemia. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Vol. 163. 2019. P. 207-214. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.11.060

35. Петринич О.А. Особливості показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у хворих на гіпертонічну хворобу. *Буковинський медичний вісник*. – 2014. – Т. 18, № 1 (69). С. 79-82

36. Бєленічев І. Ф., Візір В. А., Мамчур В. Й., Курята О. В. Місце тіотриазоліну в галереї сучасних метаболітотропних лікарських засобів. *Запорізький медичний журнал*. – 2019. – Т. 21, № 1(112). – С. 118–128.

37. Бойко В.В. Показники окисного гомеостазу та вміст оксиду азоту крові у хворих на гіпертонічну хворобу в поєднанні з ішемічною хворобою серця. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. – 2016. №2 С. 109

38. Візір В.А., Деміденко О.В., Гончаров О.В., Полякова Г.В. Гіпертонічна хвороба. Вторинні артеріальні гіпертензії. Нейроциркуляторна дистонія. Модуль 2. Ч. 2 : навчальний посібник до практичних занять з внутрішньої медицини для студентів 5 курсу медичних факультетів. – Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. – 100 с.

39. He, Z., Wang, D.W. Olfactory receptor 2 activation in macrophages: novel mediator of atherosclerosis progression. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Vol 7. N 247. 2022. DOI: 10.1038/s41392-022-01115-7

40. Wei, Y., Gao, L., Zhong, L., Nie, L., Zang, H. Network pharmacology, molecular docking technology integrated with pharmacodynamic study to explore the potential targets and mechanism of Xinkeshu tablets against myocardial ischemia reperfusion injury. *Journal of Molecular Structure*. Vol. 1270. 2022. DOI: 10.1016/j.molstruc.2022.133965

41. Forment, G.R., Rosales, Y.Z., Rives, B.T., Padrón, L.M., Viera, I.C. Reduced glutathione levels and cellular redox status in pediatric patients with immunodeficiencies. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. – 2022.

42. Lu, C.-F., Liu, W.-S., Huang, H.-Y., (...), Wang, X.-Q., Su, J.-B. The Positive Relationship Between the Low-Density Lipoprotein Cholesterol/Apoprotein B Ratio. *Frontiers in Endocrinology*. Vol. 13. 2022. DOI: 10.3389/fendo.2022.903336.

43. Чеварі С., Андял Т.Д. Шитренгер Д. Визначення антиоксидантних параметрів крові та їх діагностичне значення в літньому віці. // Лабораторна справа. - 1991

44. Королюк М.А., Іванова Л.І., Майорова І. Г. Метод визначення активності каталази // Лабораторна справа. / - 1988. – № 1. – С. 16–19.

45. Андрєєва Л.І., Кожемякін Л.А., Кішкун А.А. Модифікація метода визначення пероксидів ліпідів в тесті з тіобарбітуровою кислотою // Лабораторна справа. – 1988. - № 11.- С. 41-43.

46. Трахтенберг І. М. Гігієна праці і виробнича санітарія / І. М. Трахтенберг., М. М. Коршун – К., 1997. – 464 с.

47. Положення про порядок забезпечення працівників спеціальним одягом, спеціальним взуттям та іншими засобами індивідуального захисту: ДНАОП 0.00-4.26-96. - [Чинний від 1996-10-18]. – К.: Держнаглядохоронпраці України, 1996 – 11 с.

48. Кудрієв Ю. І., Яворовський О. П., Шевченко А. М., та інш. Гігієна праці: підручник/ за ред. НАН України, НАМН України, проф.

Кудрієва Ю. І., чл.-кор. НАМН України, проф. Яворовського О. П. – К: ВСВ «Медицина», 2011. – 904 с.

49. Охорона праці. Терміни та визначення: ДСТУ 2293-99. – [Чинний від 2000-01-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 1999. – 21 с.

50. Правила пожежної безпеки в Україні. Державний реєстр нормативних актів з питань пожежної безпеки (Реєстр НАПБ). – К.: Пожежінформтехніка, 2001.- 238 с.

51. Савчук О. М. Основи охорони праці: конспект лекцій в 2-х ч./ О. М. Савчук– Запоріжжя: Просвіта, 2000. – 124 с.