

## ОБЗОРЫ

DOI 10.52727/2078-256X-2021-17-4-79-92

**Современные биомаркеры окислительного стресса, оцениваемые методом иммуноферментного анализа****М.В. Волкова, Ю.И. Рагино**

*Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»  
630089, Россия, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1*

В литературном обзоре представлены результаты исследований последних лет, посвященных изучению роли факторов и маркеров окислительного стресса в развитии терапевтических заболеваний, особенно сердечно-сосудистых. Описаны результаты исследований, выполненных с помощью методов иммуноферментного анализа, таких биомаркеров окислительного стресса, как глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, окислительно модифицированные липопротеины низкой плотности, карбонилированные белки, а также общая антиоксидантная способность крови. Литературный обзор выполнен в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № АААА-А19-119101490005-56 и гранта Президента РФ для ведущих научных школ № НШ-2595.2020.7.

**Ключевые слова:** окислительный стресс, биомаркеры, ишемическая болезнь сердца, сердечно-сосудистые заболевания, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, окислительно-модифицированные липопротеины низкой плотности, карбонилированные белки, общая антиоксидантная способность крови, антиоксиданты, активированные кислородные метаболиты.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Автор для переписки:** Волкова М.В., e-mail: marina\_volkova91@mail.ru

**Для цитирования:** Волкова М.В., Рагино Ю.И. Современные биомаркеры окислительного стресса, оцениваемые методом иммуноферментного анализа. *Атеросклероз*, 2021; 17 (4): 79–92. doi: 10.52727/2078-256X-2021-17-4-79-92

**Modern biomarkers of oxidative stress estimated by immuno-enzymal analysis****M.V. Volkova, Yu.I. Ragino**

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences  
630089, Russia, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

The literature review presents the results of studies carried out in the world over the past years, devoted to the study of factors and markers of oxidative stress in the development of therapeutic diseases, especially cardiovascular diseases. The article describes the results of studies using enzyme immunoassay of such biomarkers of oxidative stress as glutathione peroxidase, superoxide dismutase, oxidatively modified low density lipoproteins, carbonylated proteins, as well as the general antioxidant capacity of the blood. The literature review was carried out within the framework of the budgetary theme under the State Assignment No. АААА-А19-119101490005-56 and the grant of the President of the Russian Federation for leading scientific schools No. NSh-2595.2020.7.

**Keywords:** oxidative stress, biomarkers, coronary heart disease, cardiovascular diseases, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, oxidatively modified low density lipoproteins, carbonylated proteins, total antioxidant capacity of the blood, antioxidants, active oxygen metabolites.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

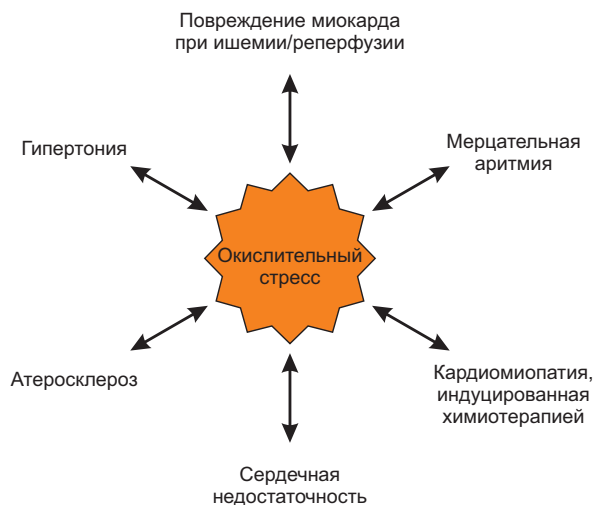
**Corresponding author:** Volkova M.V., e-mail: marina\_volkova91@mail.ru

**Citation:** Volkova M.V., Ragino Yu.I. Modern biomarkers of oxidative stress estimated by immuno-enzymal analysis. *Atherosclerosis*, 2021; 17 (4): 79–92. [In Russian]. doi: 10.52727/2078-256X-2021-17-4-79-92

## Введение

Окислительный стресс занимает одну из ключевых ролей во многих патофизиологических процессах. Внутри клетки окислительный гомеостаз регулируется, в том числе, производством активированных кислородных метаболитов (АКМ), а также посредством внутриклеточных защитных механизмов. Окислительный стресс провоцирует воспаление, которое, в свою очередь, приводит к увеличению продукции АКМ. Чрезмерное производство АКМ вызывает окисление макромолекул, индуцирующих апоптоз клеток. Окислительный стресс повышает проницаемость сосудов, способствует адгезии лейкоцитов, вызывает изменения в эндотелиальной трансдукции сигнала и в процессах, регулируемых редокс-чувствительными факторами транскрипции.

Окислительный стресс сегодня считается важным фактором риска развития и прогрессии ряда сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), в патогенезе которых триггером является эндотелиальная дисфункция (рис. 1) (сердечная недостаточность, аритмия, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца (ИБС)), он влияет на начало заболевания, его прогноз, качество жизни и выживаемость пациентов. Окислительный стресс также играет важную роль в развитии онкологических процессов, диабета, артрита, нейродегенеративных расстройств, заболеваний легких, почек и печени. Число этих патологий увеличивается с возрастом, поэтому окислительный стресс считается одним из основных факторов старения и связанных со старением заболеваний [1].



**Рис. 1.** Взаимосвязь между окислительным стрессом и ССЗ [1]

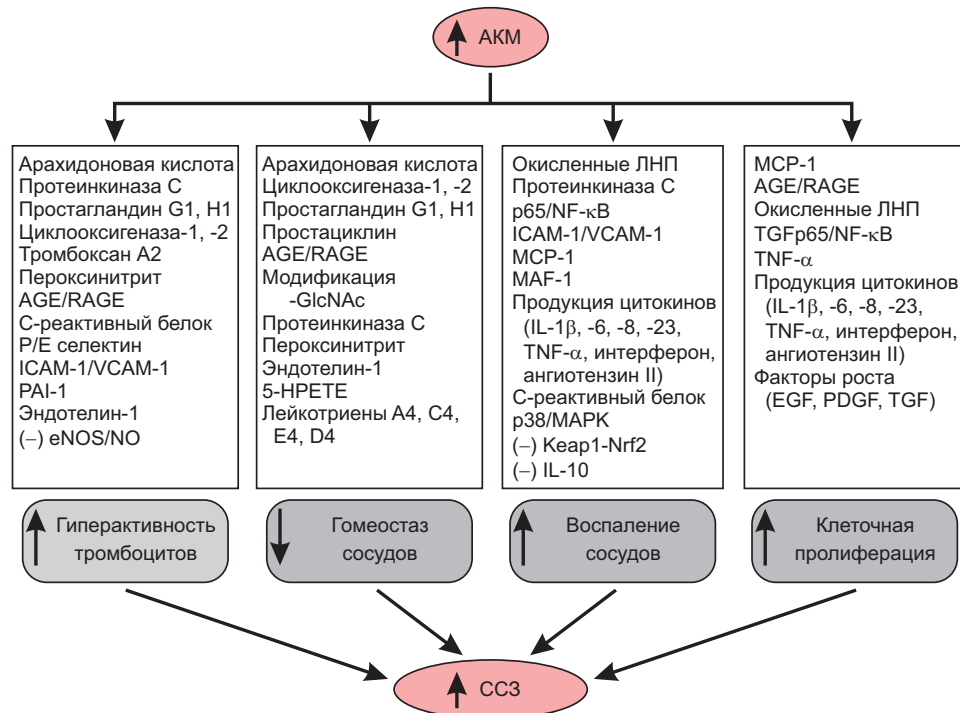
**Fig. 1.** The relationship between oxidative stress and cardiovascular diseases [1]

Маркеры окислительного стресса являются важными инструментами для оценки биологического статуса редокс-потенциала, течения заболевания и его прогрессии, а также воздействия антиоксидантов на здоровье человека. Выявление значимых параметров окислительного стресса было в центре внимания многих исследований, несколько характерных показателей были предложены в течение последних десятилетий [1].

Клиническая значимость биомаркеров окислительного стресса у людей должна быть доказана многочисленными исследованиями и стандартизирована для каждого конкретного заболевания, они должны отражать состояние редокс-баланса в организме. Следует отметить, что на данный момент отсутствует единое мнение в отношении валидации, стандартизации и воспроизводимости методов измерения таких показателей редокс-потенциала организма, как генерация АКМ лейкоцитами и тромбоцитами, определяемая методом проточной цитометрии, биомаркеры окислительно индуцированных модификаций липидов, ДНК и белков, ферментативные факторы окислительно-восстановительного статуса и общая антиоксидантная способность (ОАС) крови [2].

Известно, что АКМ, образующиеся при окислительном стрессе, повреждают все биомолекулы (липиды, сахара, белки и полинуклеотиды). В клетках задействуется несколько защитных систем, чтобы предотвратить неконтролируемое увеличение синтеза АКМ. Эти системы включают неферментативные молекулы (глутатион, витамины А, С и Е, в том числе ряд антиоксидантов, присутствующих в продуктах питания), а также ферментативные поглотители АКМ: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и глутатионпероксидаза (ГП), которые являются наиболее известными защитными системами [2].

На рис. 2 кратко представлено описание влияния окислительного стресса на тромбоз, воспаление, пролиферацию сосудистых клеток и сосудистый гомеостаз. Многие биомолекулы могут способствовать разным механизмам развития атеросклероза. Например, протеинкиназа С способствует гиперактивации тромбоцитов, воздействует на сосудистый гомеостаз и течение воспаления. Некоторые биомаркеры влияют только на один механизм развития атеросклероза: Е/Р-селектин – на тромботические изменения, моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 типа (MCP-1) – на воспаление, трансформирующий фактор роста (TGF) – на пролиферацию сосудистых клеток [2].



**Рис. 2.** Биомаркеры окислительного стресса, индуцированного АКМ, и их участие в активации тромбоцитов, сосудистом гомеостазе, воспалении сосудов и клеточной пролиферации [2] (AGE/RAGE – конечные продукты гликирования и их рецептор)

**Fig. 2.** Biomarkers of oxidative stress induced by active oxygen metabolites, involved in platelet hyperactivity, vascular homeostasis, vascular inflammation and cell proliferation [2] (AGE/RAGE – advanced glycation end products and their receptor)

### Специфические биомаркеры окисления и атеросклероз

Показано, что эффективное удаление АКМ из клеток уменьшает образование и прогрессирование атеросклеротических бляшек. Роль антиоксидантов в прогрессировании атеросклеротического поражения нуждается в дальнейшем изучении, поскольку существуют исследования, подтверждающие, что некоторые антиоксиданты не влияют на его развитие.

ССЗ являются ведущей причиной заболеваемости и смертности среди пожилых людей, а атеросклероз играет решающую роль в качестве основного причинного события. Патофизиология ССЗ, вызванных атеросклерозом, включает в себя ремоделирование кровеносных сосудов, которое может привести к ограничению кровотока. Основными факторами риска данных заболеваний служат ожирение, сахарный диабет, табакокурение, малоподвижный и нездоровый образ жизни, а также генетическая предрасположенность. Старение представляет собой еще один фактор риска, поскольку оно увеличивает

распространенность ССЗ в основном из-за накопления окислительных повреждений. Окислительный стресс является важным фактором, участвующим в прогрессировании ССЗ. Доказано, что толерантность сердца к окислительному стрессу снижается с возрастом из-за уменьшения концентрации антиоксидантных ферментов [3].

В контексте атеросклероза большое клиническое значение имеют некоторые биомаркеры окислительного стресса и эндогенные антиоксиданты, в том числе окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП), ОАС крови, СОД, каталаза и глутатион. Кроме того, пищевые продукты, богатые экзогенными антиоксидантами, тесно связаны с защитными способностями сердечно-сосудистой системы [4].

Р. Robson et al. обсудили тему выявления биомаркеров окислительного стресса при сахарном диабете 2 типа (СД2) для оценки риска развития ССЗ. Поскольку заболеваемость СД2 непрерывно растет, распространенность сопутствующих патологий постоянно увеличивается. В статье приводится комплекс основных путей

выявления значимых биомаркеров, связанных с атеросклерозом и ССЗ при СД2. Авторы говорят о том, что могут быть разработаны новые методы оценки и идентификации пациентов с диабетом, подверженных риску развития ССЗ, таких как атеросклероз и тромбоэмболия [2].

В исследовании M. Cheraghi et al. изучались пациенты с ИБС по сравнению с контрольной группой лиц без ИБС. Проводилось измерение сывороточной активности ГП, каталазы, щелочной фосфатазы, аланин- и аспартатаминотрансферазы, содержания глутатиона, малонового диальдегида (МДА), NO и глюкозы. Авторы выявили, что уровень сывороточного глутатиона, активность каталазы и ГП значительно выше в контрольной группе лиц, чем у пациентов с ИБС, в то время как концентрация МДА, NO и глюкозы в сыворотке крови, а также активность гамма-глутамилтрансферазы, аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы существенно меньше. Сделано заключение, что ИБС тесно связана с окислительным стрессом, перекисным окислением липидов, воспалением и повышенной активностью ферментов печени, вследствие чего антиоксидантное лечение может препятствовать прогрессированию заболевания [5].

A. Kibel et al. пришли к мнению, что профилактика сосудистого окислительного стресса и нормализация продукции NO могут быть ключевыми будущими целями новых терапевтических стратегий лечения атеросклероза. Авторы представили патогенетические механизмы, связывающие окислительный стресс с атеросклерозом, ИБС и сердечной недостаточностью [6].

### **Общая антиоксидантная способность крови**

Антиоксиданты – вещества, обладающие способностью тормозить окислительные процессы, вызванные АКМ. В организме существует баланс между синтезом и уничтожением АКМ, который контролируется антиоксидантной системой – универсальной регуляторной системой организма, ингибирующей окислительные реакции и препятствующей накоплению токсичных продуктов окисления. Нарушение этого баланса способствует поражению клеток, которое во многих случаях приводит к ускорению процессов физиологического старения и возникновению тяжелых заболеваний, включая атеросклероз, лежащий в основе развития ИБС. ОАС крови имеет решающее значение для защиты стенок кровеносных сосудов от окислительного повреждения. Антиоксиданты, разрушающие цепь окислительных реакций и поглощающие

свободные радикалы, называются первичными. Вторичные антиоксиданты гасят синглетный кислород, разлагают пероксиды с образованием нерадикальных форм, хелатируют ионы прооксидантных металлов, ингибируют окислительные ферменты (например, липоксигеназу) или поглощают ультрафиолетовое излучение. Также вторичные антиоксиданты могут проявлять синергетические эффекты в сочетании с первичными. Главной задачей антиоксидантов является связывание свободных радикалов и превращение их в менее реакционноспособные соединения [7].

Антиоксиданты можно разделить на четыре категории в зависимости от их роли в системе защиты, которая активируется против окислительного стресса. На основе их реактивности были определены четыре линии защиты: про-филактические антиоксиданты, поглотители радикалов, восстановители и антиоксиданты, способствующие адаптации.

Первая линия защиты состоит из антиоксидантов, которые предотвращают окислительные процессы, подавляя образование радикалов. Эти антиоксиданты действуют очень быстро и нейтрализуют любые свободные радикалы, которые могут вызвать образование других радикалов, или соединения, способные превращаться в свободные радикалы. Они усиливают дисмутацию супероксидного анион-радикала, восстанавливают перекись водорода и гидропероксиды, образуя менее реакционноспособные молекулы (например, молекулярный кислород). Этот класс также включает хелаторы ионов металлов, такие как лактоферрин, ферритин и церулоплазмин, которые связывают железо и медь, тем самым угнетая их способность образовывать свободные радикалы.

Вторая линия защиты формируется антиоксидантами, которые подавляют инициацию, пролонгацию и разветвление цепного окисления макромолекул; образовавшиеся радикалы антиоксидантов имеют существенно большее время полужизни. К этой категории относятся как гидрофильные (аскорбиновая кислота, глутатион, мочевая кислота), так и липофильные антиоксиданты (альфа-токоферол и убихинол).

Третья линия защиты включает репаративные («de novo») антиоксиданты, которые действуют после повреждения биомолекул свободными радикалами. Эта группа образована ферментами, восстанавливающими поврежденные нуклеиновые кислоты, липиды и белки, они способны распознавать, разлагать и удалять окисленные и/или поврежденные макромолекулы, препятствуя их накоплению в клетках. Наиболее часто встречающимися примерами

этого типа являются ферменты репарации ДНК (полимеразы, гликозилазы и нуклеазы), протеолитические ферменты (пептидазы, протеазы и протеиназы), которые присутствуют как в митохондриях, так и в цитозоле клеток.

Четвертая линия защиты включает антиоксиданты, которые действуют с помощью механизмов адаптации: они распознают сигналы, способствующие синтезу свободных радикалов или развитию связанных с ними реакций, и предотвращают или ингибируют эти процессы. Сигнал, генерируемый свободными радикалами, индуцирует синтез и транспортировку антиоксиданта в соответствующий участок.

Как ферментативные, так и неферментативные антиоксиданты могут противодействовать повреждающему действию АКМ. Для достижения максимальной защиты они разделены в цитоплазме и органеллах (например, митохондриях).

Ферментативные антиоксиданты включают СОД, которая превращает анион-радикал супероксида в перекись водорода, ГП, которая разлагает перекись водорода и гидропероксиды с участием глутатиона, каталазу, которая также восстанавливает перекись водорода с образованием воды и молекулярного кислорода. К неферментативным антиоксидантам относятся глутатион, мочевиная кислота, альфа-липоевая кислота, убихиноны, билирубин, хелаторы ионов металлов (такие как ферритин, лактоферрин), витамин С, каротиноиды, токоферолы, фенолы (флавоноиды и другие моно- и полифенолы).

Ферменты, такие как СОД, каталаза и ГП, белки, связывающие металлы, такие как ферритин, лактоферрин, церулоплазмин, а также низкомолекулярные соединения, такие как глутатион, мочевиная кислота, альфа-липоевая кислота, убихиноны, билирубин и мелатонин, являются эндогенными антиоксидантами. Витамин С, токоферолы, фенолы и каротиноиды поступают в организм человека с продуктами питания и пищевыми добавками. Потребление экзогенных антиоксидантов может снижать синтез эндогенных, способствуя неизменности антиоксидантного потенциала клетки [7].

Есть другая классификация, учитывающая эндогенные и экзогенные, природные и синтетические антиоксиданты, которая основана на их растворимости. По этой классификации антиоксиданты делятся на гидрофильные (аскорбиновая кислота, мочевиная кислота, глутатион) и липофильные (токоферолы, каротиноиды, флавоноиды, аскорбилпальмитат/стеарат).

Нерегулируемая окислительная модификация липидов, белков и нуклеиновых кислот, индуцируемая множеством окислителей, участвует в патогенезе многих заболеваний. Анти-

оксиданты прямо или косвенно играют роль в физиологической защите организма, их эффективность зависит от природы окислителей [8]. Е. Niki указал, что реактивность антиоксидантов по отношению к окислителям сильно различается, это позволяет предположить, что для эффективной защиты необходимо их разнообразие, поскольку ни один антиоксидант сам по себе не может противостоять многочисленным окислителям. Автор выражает мнение, что классическая гипотеза окислительного стресса может быть заменена новой парадигмой окислительно-восстановительной биологии. Изначально парадигма окислительного стресса предполагала, что в нормальной физиологии существует баланс между свободными радикалами (окислителями) и антиоксидантами, а нарушение этого баланса приводит к окислительному повреждению и заболеваниям. В парадигме редокс-биологии предполагается, что АКМ и продукты, образуемые ими, играют основную роль в качестве клеточных сигнальных медиаторов, и что антиоксиданты выполняют регуляторную, а не только защитную функцию [8].

Z. Nemedifard et al. провели анализ влияния добавок магния и цинка на контроль гликемии, липиды крови и биомаркеры окислительного стресса и воспаления у пациентов с ИБС и СД2. Выполнено рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование с участием больных ИБС и СД2, разделенных случайным образом на две группы для приема плацебо или 250 мг оксида магния плюс 150 мг сульфата цинка в течение 12 недель. Установлено, что магний и цинк значительно снижали уровень глюкозы крови натощак, повышали содержание холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) по сравнению с плацебо. Выявлена связь между потреблением магния и цинка и значительным снижением концентрации СРБ, увеличением уровня нитритов и ОАС. Авторы заключили, что у пациентов с ИБС и СД2 12-недельное потребление магния и цинка оказало благотворное влияние на содержание глюкозы крови натощак, ХС ЛПВП, СРБ, инсулина, нитритов, ОАС, и предположили, что совместное применение магния и цинка может быть полезным для пациентов с СД2 и ИБС [9].

F. Raugan et al. провели рандомизированное клиническое исследование с целью установления влияния ограничения потребления углеводов и жиров на метаболические показатели у пациентов с СД2 и ИБС. В исследовании участвовали пациенты с избыточным весом с СД2 и ИБС в возрасте 40–85 лет, подобранные случайным образом. С целью определения метаболического статуса больных они были рас-

пределены на тех, кто в течение восьми недель соблюдал диету с высоким содержанием углеводов (60–65 % углеводов и 20–25 % жиров), и тех, кто придерживался диеты с ограниченным содержанием углеводов (43–49 % углеводов и 36–40 % жиров). По истечении восьми недель наблюдения у лиц, соблюдающих диету с ограниченным содержанием углеводов, снизился уровень глюкозы крови натощак и высокочувствительного СРБ, а также увеличились ОАС и уровень глутатиона по сравнению с пациентами с высоким содержанием углеводов в рационе питания [10].

### Глутатионпероксидаза

Глутатионпероксидаза (ГП), один из ключевых ферментативных антиоксидантов, относится к группе оксидоредуктаз, присутствует в большинстве клеток, включая эндотелий. ГП состоит из четырех идентичных субъединиц, в составе активного центра содержит селен. В качестве кофактора использует восстановленный глутатион (GSH), который окисляется до дисульфида глутатиона (GSSG); в свою очередь GSSG восстанавливается в исходную форму GSH с участием глутатионредуктазы. Ферментная система глутатиона имеет важное значение для обеспечения нормального гомеостаза, нарушение ее функционирования в патофизиологических условиях приводит к эндотелиальной дисфункции [11].

Определение концентрации и активности ГП важно для оценки способности клеток к защите от воздействия токсических соединений. Известно, что дефицит данного фермента может усиливать атерогенез. Установлена связь между активностью ГП и развитием ССЗ, в том числе инфаркта миокарда [12].

D. Wickremasinghe et al. провели исследование, направленное на оценку связи активности ГП и полиморфизма *Pro198Leu* ее гена с тяжестью ИБС. Исследование проводилось по методу «случай-контроль» с участием 85 пациентов в возрасте 40–60 лет с подтвержденной ИБС по данным коронарографии, и 85 здоровых людей в группе контроля, сопоставимых по полу и возрасту. Полиморфизм *Pro198Leu* гена ГП встречался чаще у пациентов с ИБС (25,3 %) по сравнению с контролем (10,7 %) и был связан с активностью фермента. Авторы пришли к выводу, что активность ГП является важным маркером для мониторинга ССЗ, а выявление дефектов ГП является приоритетным звеном для стратификации риска ИБС [11].

M. Steyn et al., сделав метаанализ когортных наблюдений и исследований «случай-контроль», установили наличие тесной корреляции между

маркерами окислительного стресса и ожирением. Висцеральное ожирение способствует продукции провоспалительных цитокинов и АКМ. Нарушение регуляции выработки АКМ занимает центральное место в патогенезе диабета и его сосудистых осложнений и влияет на структурное ремоделирование сосудов, вызывая потерю эластичности артериальной стенки, ухудшая функцию эндотелия за счет снижения биодоступности NO. У женщин с СД наблюдается более выраженная зависимость сосудистой реакции от продукции NO, чем у мужчин с СД. Эндогенные антиоксиданты играют ключевую роль в ограничении влияния АКМ на развитие ССЗ и заболеваний почек при диабете. Показана обратная зависимость между ИБС и активностью СОД, ГП и каталазы [13].

При изучении сердечно-почечных заболеваний авторы основное внимание уделили одной из семи изоформ ГП, а именно ГП3, экспрессирующейся преимущественно в эпителии почечных канальцев (в меньших количествах – в легких, печени, сердце, глазах, жировой ткани) и содержащей в активном центре селеноцистеин. Активность ГП3 снижается в связи с развитием окислительного стресса при почечной недостаточности [13]. Авторы приводят в пример работу A. Crawford et al., в которой сообщается о прямой связи между снижением активности ГП3 и ухудшением функции почек в течение одного года у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) [14]. Прогрессирование ХБП связано с увеличением в 2–4 раза риска преждевременной смерти от ССЗ, который высок у женщин с СД. M. Steyn et al. показали, что активность ГП3 определяется полом и висцеральным ожирением в популяции и может играть ключевую защитную роль в снижении риска сердечно-почечных заболеваний у женщин в менопаузе с диабетом [13].

P. Pang et al. описали клинические случаи пациентов с ХБП, имеющих недостаточный уровень ГП3. Они предположили, что дефицит ГП3 может привести к ССЗ при наличии ХБП из-за гиперпродукции АКМ и снижения микрососудистой перфузии миокарда. Чтобы выявить дефицит ГП3 при ССЗ, вызванных заболеваниями почек, авторы проводили эксперименты на нокаутных мышцах (ГП3<sup>-/-</sup>) в условиях ХБП, вызванной хирургическим вмешательством. Обнаружено, что в миокарде дефицитных по ГП3 животных повышена экспрессия генов, связанных с кардиомиопатией, включая *MYH7*, *PLAC9*, *SERPINE1* и *CD74*, по сравнению с мышцами дикого типа. При моделировании ХБП у животных с генотипом ГП3<sup>-/-</sup> в сердце количество микротромбов было больше, чем в контроле и у мышей дикого типа с ХБП. Уровень

асимметричного диметиларгинина был повышен как в группе ГПЗ<sup>-/-</sup> + ХБП, так и в группе ГПЗ<sup>+/+</sup> + ХБП, он сильнее стимулировал спонтанную агрегацию тромбоцитов мышей ГПЗ<sup>-/-</sup>. Увеличенная *in vitro* агрегация тромбоцитов крови животных группы ГПЗ<sup>-/-</sup> + ХБП снижалась после введения им *in vivo* эбселена, имитатора ГП. Полученные результаты свидетельствуют о том, что дефицит ГПЗ является существенным фактором, способствующим развитию ССЗ, вызванных заболеваниями почек [15].

F. Raugan et al. провели рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование, в котором оценивалось влияние введения мелатонина на метаболический статус у больных СД с ИБС. В исследовании принимали участие пациенты с СД и ИБС, подобранные случайным образом и распределенные на две группы для приема либо 10 мг мелатонина, либо плацебо один раз в день в течение 12 недель. Установлено, что по сравнению с плацебо добавление мелатонина привело к значительному увеличению содержания в крови глутатиона и NO и снижению уровня МДА, карбонилированных белков и высокочувствительного СРБ, а также уменьшению концентрации глюкозы в плазме крови натощак, инсулина в крови, резистентности к инсулину, соотношения общий ХС/ХС ЛПВП и систолического и диастолического артериального давления. Авторы заключили, что подавление окислительного стресса и воспаления с помощью мелатонина может снизить риск развития диабета и ССЗ.

Мелатонин ингибирует реакции окисления, катализируемые АКМ, тем самым снижая интенсивность процессов перекисного окисления липидов. Аналогичным образом, его прием может уменьшать выраженность окислительного стресса за счет регулирования активности антиоксидантных ферментов и стимуляции синтеза глутатиона, увеличивая активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Мелатонин способен повышать уровень ХС ЛПВП за счет усиления этерификации ХС, опосредованной лецитин-холестерин-ацилтрансферазой. Более длительное лечение или добавление наиболее высокой дозы мелатонина может повлиять на ОАС или другие сердечно-метаболические маркеры. Авторы пришли к выводу, что мелатонин способствует улучшению состояния пациентов с СД и ИБС, благодаря его благотворному влиянию на биомаркеры окислительного стресса [16].

A. Holley et al. показали, что активность, уровень белка и мРНК ГП у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) были больше, чем у больных стабильной ИБС и здоровых лиц контрольной группы, так же как и содержание

окисленных ЛНП. Эти результаты свидетельствуют об активации ГП в ответ на развитие окислительного стресса и о том, что высокий уровень ГП и других антиоксидантных ферментов связан с улучшением исходов после ОКС [17].

### Супероксиддисмутаза

Супероксиддисмутаза (СОД) – наиболее эффективный эндогенный антиоксидантный фермент в организме человека, являющийся мультимерным металлопротеином. Вместе с каталазой и другими донорами водорода, такими как аскорбиновая кислота, токоферолы, гидрохиноны, СОД защищает организм от постоянного повреждающего действия образующихся АКМ. Катализируя реакцию дисмутации супероксиданиона в кислород и пероксид водорода, этот фермент играет важнейшую роль в антиоксидантной защите практически всех клеток, так или иначе находящихся в контакте с кислородом. В механизме действия СОД предусмотрено попеременное чередование процессов окисления и восстановления металлов, находящихся в его активном центре: марганца (Mn-СОД, СОД2, локализована в митохондриальном матриксе) и меди и цинка (Cu/Zn-СОД двух типов, находящаяся внутри клеток (в цитозоле и межмембранном пространстве митохондрий) в виде димера (СОД1) либо во внеклеточной жидкости (СОД3) в виде тетрамера) [18].

СОД является наиболее активным антиоксидантным ферментом в миокарде у большинства видов млекопитающих. Показано, что мыши с дефицитом СОД2 умирают от кардиомиопатии в течение 10 дней после рождения [12]. По данным ряда исследований, снижение активности СОД способствует усилению гипертензии, развитию артрита, диабета, диабетической ретинопатии, диабетической нефропатии и других патологических процессов, сопровождающихся развитием окислительного стресса. СОД играет ключевую роль в борьбе с окислительным стрессом, который приводит к развитию ишемической реперфузионной травмы, гипертонии и повреждению легких [18]. Внеклеточной СОД отводится роль основного регулятора биоактивности NO, который реагирует с супероксидным анион-радикалом с образованием высокотоксичного пероксинитрита. NO синтезируется эндотелиальными клетками, макрофагами и нейтрофилами, является эндотелиальным релаксирующим фактором, поддерживает необходимый уровень вазодилатации и обладает антиагрегационной активностью, предотвращая тромбоз.

Y. Souiden et al. установили, что у носителей полиморфизма СОД *Ala16Val* мужского пола

риск развития ИБС примерно в 2 раза выше по сравнению с контролем (отношение шансов 1,89; 95%-й доверительный интервал 1,18–3,42,  $p = 0,03$ ), а ОАС и активность СОД снижены. Тяжесть ИБС, о чем свидетельствовало количество стенозов коронарных артерий, была связана со значительно более высокой частотой аллеля *Val* и уровнем ХС ЛПНП у пациентов с ИБС. Результаты показали отсутствие связи полиморфизма *Pro198Leu* гена ГП с риском и тяжестью ИБС. Однако авторы предполагают, что полиморфизм *Ala16Val* гена Mn-СОД и снижение антиоксидантной защиты способствуют риску ИБС у мужчин. Кроме того, аллель *Val*, кодирующий Mn-СОД, и снижение активности СОД коррелировали с прогрессированием стеноза коронарных артерий [19].

N. Decharatchakul et al. изучили связь мутаций генов антиоксидантной защиты (полиморфизмы *СОД2 rs4880*, *СОД3 rs2536512* и *rs2855262*, *ГП rs3828599* и делеция глутатион S-трансферазы тета-1 (*GSTT1*)) с дислипидемией и тяжестью течения атеросклероза у 396 человек с высоким риском развития ИБС. Установлено, что все четыре полиморфизма независимо связаны с гипертриглицеридемией и низким уровнем ХС ЛПВП у лиц с высоким риском ИБС, а высокое соотношение ТГ/ХС ЛПВП предсказывает тяжесть коронарного атеросклероза. Авторы заключили, что комбинированные полиморфизмы генов антиоксидантных ферментов СОД (СОД2 и СОД3), ГП3 и *GSTT1* повышают риск дислипидемии, это позволяет предположить, что они являются предикторами дислипидемии и тяжести коронарного атеросклероза [20].

Группой N. Decharatchakul также изучены различные ассоциации полиморфизмов генов антиоксидантной защиты с частотой артериальной гипертензии (АГ) и тяжестью ИБС. Комбинация четырех генотипов, ассоциированных с АГ, при оценке генетического риска (GRS) выявила ассоциацию GRS 5 и  $GRS \geq 6$  с повышенной восприимчивостью к АГ и ИБС, а также с многососудистым поражением коронарных артерий по сравнению с GRS 0–2. Авторы пришли к выводу, что генетические вариации СОД, ГП-3, параоксоназы-1 и *GSTT1* могут оказать влияние на патогенез АГ и прогрессирование ИБС [21].

#### **Окислительно-модифицированные липопротеины низкой плотности**

Гиперхолестеринемия является основным фактором риска развития атеросклероза. Повышение уровня ХС в плазме крови приводит к дисфункции эндотелия, которая облегчает ми-

грацию липидов, особенно ХС ЛПНП, в артериальную стенку, где они модифицируются молекулами АКМ, в том числе образующимися НАДФН-оксидазой, ксантиноксидазой, ферментами митохондриальной дыхательной цепи. Эндотелиальные и гладкомышечные клетки сосудов экспрессируют молекулы адгезии и рекрутируют циркулирующие моноциты, которые мигрируют в субэндотелиальное пространство, где превращаются в макрофаги, а затем в пенные клетки, богатые окисленными ЛПНП. Этот процесс приводит к каскаду сосудистых изменений, которые имеют клинические последствия, основанные на нестабильности атеросклеротической бляшки [4].

Окислительная модификация может повреждать все макромолекулы в субэндотелиальном пространстве, но липопротеины особенно подвержены окислению из-за высокого содержания в них ненасыщенных липидов. АКМ в основном окисляют ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов, расположенные на поверхности липопротеинов, с образованием липопероксидов, окисленных фосфолипидов, окисленных жирных кислот, окисленного ХС и производных продуктов окисления (лизофосфатидилхолин, альдегиды, кетоны), обладающих провоспалительными, проапоптотическими свойствами и способных усиливать пролиферацию [22].

Окисленные ЛПНП воздействуют на множество клеток, таких как эндотелиальные и гладкомышечные клетки, макрофаги, тромбоциты, фибробласты через LOX-1 (лектиноподобный рецептор окисленных липопротеинов-1) – трансмембранный гликопротеин, который служит рецептором для окисленных ЛПНП, модифицированных липопротеинов, активированных тромбоцитов и конечных продуктов гликирования. Окисленные ЛПНП через LOX-1 в эндотелиальных клетках способствуют увеличению экспрессии молекул адгезии лейкоцитов, активируют пути апоптоза, увеличивают синтез АКМ и вызывают эндотелиальную дисфункцию. В гладкомышечных клетках сосудов и фибробластах они стимулируют пролиферацию, миграцию и синтез коллагена. LOX-1, экспрессируемый на макрофагах, ингибирует миграцию макрофагов и стимулирует образование пенных клеток. Также окисленные ЛПНП стимулируют выработку металлопротеиназ и способствуют нестабильности бляшек и тромбозу [23].

Знания, накопленные за три десятилетия исследований, показали, что модифицированные ЛПНП играют одну из ключевых ролей в развитии атеросклероза. На сегодняшний день окислительная модификация является наиболее изученным механизмом, однако в развитии



атеросклероза участвуют и другие модификации. Окислительно-модифицированный ЛПНП представляет собой провоспалительную и проатерогенную частицу, содержащую белковые аддукты и окисленные липиды, которые с помощью различных механизмов способствуют развитию атеросклероза. Так, продукты окисления липидов, такие как МДА, способствуют дериватизации остатков лизина и аргинина в аполипопротеине В, что провоцирует потерю сродства ЛПНП к специфическому рецептору и усиление связывания с скэвенджер-рецепторами. Как следствие, окисленные ЛНП способны индуцировать массивное внутриклеточное накопление макрофагами сложных эфиров ХС. Кроме того, продукты окисления липидов в составе ЛПНП индуцируют экспрессию цитокинов, хемокинов и факторов роста различными типами клеток в артериальной стенке. Таким образом, окисленные ЛПНП способствуют хроническому воспалительному процессу и пролиферации клеток, которые характерны для атеросклероза. Фактически, окисленные ЛПНП представляют собой смесь частиц с различной степенью окисления, атерогенные свойства которых изменяются в зависимости от стадии окисления ЛПНП. Так, минимально окисленные ЛПНП гораздо более провоспалительны, чем интенсивно окисленные частицы, но при этом обладают меньшей способностью индуцировать образование пенных клеток [22].

А. Тркovic et al. говорят о том, что использование биомаркеров улучшило диагностический, терапевтический и прогностический результат в области исследования ССЗ. Многие данные свидетельствуют о значении уровня циркулирующих окисленных ЛНП как биомаркера ССЗ. Для определения их содержания в крови разработаны три иммуноферментные тест-системы (4Е6, DLН3 и Е06) с использованием моноклональных антител. Однако ни один из имеющихся тестов в настоящее время не утвержден для обычной клинической практики. Циркулирующие окисленные ЛПНП связаны со всеми стадиями атеросклероза: от раннего атеросклероза до гипертонии, ишемических и периферических артериальных заболеваний, ОКС и ишемического инфаркта головного мозга. Установлено, что окисленные ЛПНП принимают участие в патологических процессах, связанных с ССЗ, включая СД, ожирение и метаболический синдром [24].

ССЗ атеросклеротического происхождения являются основной причиной смерти при СД и метаболическом синдроме. Модификация липопротеинов при этих патологиях является одним из факторов риска развития ССЗ. Повышенное

гликозилирование, окислительный стресс или увеличение содержания неэстерифицированных жирных кислот в крови, среди прочих факторов, способствуют модификации и последующему изменению свойств липопротеинов. Поскольку модификация ЛПНП является триггерным фактором развития атеросклероза, значительные исследования были сосредоточены на количественной оценке модифицированных ЛПНП в крови [22]. Так, M.F. Lopes-Virella et al. показали, что исходный уровень окисленных, МДА-модифицированных и модифицированных гликозилированием ЛПНП в циркулирующих иммунных комплексах связан с четырьмя исходами ССЗ, включая любые ССЗ, серьезные неблагоприятные сердечно-сосудистые и цереброваскулярные события, инфаркт миокарда и ИБС при СД1. В большинстве случаев исходное содержание модифицированных окисленным ЛПНП (измеренное за много лет до возникновения любого события, связанного с ССЗ) было связано с риском ССЗ в течение 25-летнего периода даже после коррекции на другие факторы риска (включая ХС ЛПНП). Таким образом, модифицированные окисленные ЛПНП могут помочь идентифицировать пациентов с СД1 с высоким риском развития ССЗ на очень ранних стадиях развития заболевания, до проявления других признаков заболевания [25].

Н. Itabe et al. указывают, что окислительно-модифицированные ЛПНП участвуют в развитии различных заболеваний, включая ССЗ. Проведенное ими исследование с использованием моноклональных антител выявило наличие окисленных ЛПНП в кровеносной системе человека при атеросклеротических поражениях, что указало на значимость циркулирующих окисленных ЛПНП при различных системных заболеваниях, включая острый инфаркт миокарда и СД. Большое количество данных свидетельствует об изменении уровня окисленных ЛПНП при определенных патологических состояниях. Авторы заключили, что поскольку он, как правило, коррелирует с содержанием ХС ЛПНП, стоит сосредоточить внимание также на соотношении окисленных ЛПНП и ХС ЛПНП, а не только на концентрации окисленных ЛПНП [26].

Е. Niki в своем обзоре изучил многочисленные исследования, которые показали, что концентрация продуктов окисления липидов, белков и ДНК больше у пациентов, имеющих различные заболевания, чем у здоровых людей. Также им высказано предположение, что окислительная модификация ЛПНП и ЛПВП может инициировать и ускорять процесс атеросклероза, хотя количественная оценка и характеристи-

ка окисленных ЛПНП и окисленных ЛПВП затруднены [8].

S. Gao et al. говорят о том, что многие фундаментальные исследования показали на участие окисленных ЛПНП в патогенезе атеросклероза, в то время как популяционные наблюдательные исследования дали противоречивые результаты о связи между циркулирующими окисленными ЛПНП и ССЗ, вызванными атеросклерозом. В связи с этим авторы провели систематический обзор и метаанализ имеющихся в настоящее время наблюдательных исследований, проведенных методом «случай-контроль», когортных и проспективных когортных исследований, чтобы оценить связь между циркулирующими окисленными ЛПНП и ССЗ, вызванными атеросклерозом. Были исключены исследования, в которых не оценивалось отношение рисков, относительный риск или отношение шансов для окисленных ЛПНП или не учитывались другие факторы риска, а также материалы, в которых не определялось содержание окисленных ЛПНП до выявления случаев ССЗ. В общей сложности проанализировано 12 исследований, включающих три исследования «случай-контроль», одно когортное наблюдательное исследование, пять когортных исследований, проведенных на базе больниц, и три популяционных когортных исследования. Суммарный размер эффекта увеличения уровня циркулирующих окисленных ЛПНП для ССЗ, вызванных атеросклерозом, составил 1,79 (95 % ДИ 1,56–2,05). Аналогичные ассоциации были выявлены во всех подгруппах. Таким образом, повышение содержания циркулирующих окисленных ЛПНП связано с клиническими событиями ССЗ, но для подтверждения данных выводов необходимо проведение крупных популяционных когортных исследований [27].

### Карбонилированные белки

Карбонилирование белков представляет собой стабильную модификацию, индуцируемую АКМ тремя путями: прямым окислением аминокислот, окислительным расщеплением пептидной связи и включением карбонил в результате окисления сахаров или липидов. Окислительные (прямые) и неокислительные (косвенные) механизмы карбонилирования могут влиять на конформацию, активность и функцию белка. Карбонилирование является фактором окислительного стресса, приводящим к образованию в составе белков карбонильных групп, таких как альдегиды, кетоны и лактамы. Наиболее реакционноспособными и цитотоксическими являются  $\alpha$ -ненасыщенные альдеги-

ды (4-гидрокси-*транс*-2-ноненаль и акролеин), диальдегиды (МДА и глиоксаль) и кетоальдегиды (4-окси-*транс*-2-ноненаль). Аминоадипиновый и глутаминовый полуальдегиды являются примерами прямого окисления аминокислот, которые отвечают примерно за 60 % общего карбонилирования белка в печени [28]. Для выявления количественной оценки карбонилированных белков, образующихся в результате окисления металлами, перекисного окисления липидов или гликирования/гликозилирования, имеется широкий спектр аналитических методов. Определение суммарного содержания карбонил в белках является ценным биомаркером выраженности окислительного стресса, его повреждающего воздействия на клетки при старении и различных возрастных заболеваниях.

В исследовании R.C. Bollineni et al. проанализированы карбонилированные белки в образцах плазмы крови, полученных от людей с низкой массой тела и пациентов с ожирением с СД2 или без него. Из идентифицированных 158 карбонилированных белков 36 обнаружены только у пациентов с ожирением с СД2. Функционально эти белки участвуют в клеточной адгезии, ремоделировании цитоскелета, внутриклеточной передаче сигналов и ангиогенезе, а также клеточных процессах, связанных с диабетом, ожирением и метаболическими заболеваниями [29].

Окислительная модификация белков является важным признаком процесса старения, приводящим к дисфункции и снижению жизнеспособности клеток, тканевой недостаточности и, как следствие, развитию возрастных заболеваний. Большинство окислительно модифицированных белков не подлежат восстановлению. Для удаления необратимо измененных белков могут быть задействованы два основных пути деградации: протеасомная или аутофагическая и лизосомальная системы. Тем не менее поскольку активность систем как антиоксидантной защиты, так и детоксикации снижается в процессе старения, наблюдается возрастное накопление продуктов карбонилирования белков и белковых агрегатов [30].

Окислительное карбонилирование связано с функциональной инактивацией модифицированных белков. Исследование A.K. Nauck et al. продемонстрировало, что слабый окислительный стресс и последующее карбонилирование белков активируют защитные редокс-чувствительные клеточные сигнальные пути, в то время как выраженный окислительный стресс истощает антиоксидантную защиту клеток и приводит к их повреждению. Повышенное карбонилирование белков показано в культуре клеток в результате

различных метаболических процессов, включая снижение концентрации антиоксидантов, воспаление, стресс и старение. Вместе эти наблюдения позволяют предположить наличие причинно-следственной связи между окислительным стрессом и метаболической дисфункцией. Высокий уровень глюкозы и ее метаболитов, таких как метилглиоксаль, могут способствовать развитию диабетических осложнений отчасти за счет увеличения продукции АКМ [31].

Высокая степень карбонилирования белков является признаком окислительного повреждения и дисфункции белка, умеренное карбонилирование может непосредственно активировать или ингибировать функционирование белков-мишеней, а также их селективную протеасомную деградацию.

Е. Almgöbel et al. установили, что карбонилирование белков более выражено у пациентов с диабетической нефропатией, чем у здоровых людей, а их содержание положительно коррелирует с концентрацией гликированного гемоглобина, постпрандиальной глюкозы, креатинина, а также продолжительностью заболевания. Полученные результаты свидетельствуют, что окислительная модификация белков играет ключевую роль в прогрессировании диабетической нефропатии [32].

В. Gryszczyńska et al. оценили интенсивность окислительной модификации белков по содержанию конечных продуктов окисления (АОРП, advanced oxidation protein products) и карбонилированных белков при аневризмах брюшной аорты (АБА), аорто-подвздошной окклюзионной болезни (АПОБ) и ХБП. Пациенты с ХБП были разделены на две группы: на преддиализе или на гемодиализе. Результаты исследования показали, что концентрация АОРП у больных АБА и АПОБ больше, чем у пациентов с ХБП на преддиализе или на гемодиализе, в порядке убывания: АБА ~ АПОБ > ХБП на гемодиализе > ХБП на преддиализе. Содержание карбонилированных белков было больше у больных ХБП на преддиализе по сравнению с пациентами с АПОБ и АБА, в порядке убывания: ХБП на преддиализе ~ ХБП на гемодиализе > АБА ~ АПОБ. Это говорит о том, что АБА, АПОБ и атеросклероз, связанный с ХБП, способствуют изменениям в формировании АОРП и карбонилированных белков, а также модификации белков из-за различных факторов, влияющих на окислительный стресс [33].

Исследование экспрессии ГП1 и влияния окислительной модификации белков (карбонилирования) на содержание и активность ГП1 в эндотелиальных клетках пупочной вены человека (HUVES) в условиях слабого или уме-

ренного окислительного стресса показало, что увеличение внеклеточного содержания глюкозы и метилглиоксаля усиливали образование АКМ в HUVES. Карбонилирование белков только временно возрастало, указывая на эффективную антиоксидантную защиту в этих клетках. Экспрессия NO-синтазы снижалась в условиях гипергликемии, но увеличивалась при воздействии метилглиоксаля, в то время как экспрессия СОД существенно не изменялась. Повышенная активность ГП1 компенсировала снижение ее содержания из-за усиленной протеасомной деградации. Авторы заключили, что окислительное карбонилирование белков связано с функциональной инактивацией модифицированных белков-мишеней, главным образом способствующих старению и возрастным заболеваниями. Умеренный окислительный стресс и последующее карбонилирование белков активируют защитные клеточные редокс-чувствительные сигнальные пути, в то время как выраженный окислительный стресс истощает клеточную антиоксидантную защиту, приводя к повреждению клеток [34].

Белки являются важными мишенями окислительных процессов вследствие высокой скорости реакции с окислителями и обилия в клетках, внеклеточных тканях и жидкостях. Кроме того, образующиеся при окислении других биополимеров высокореакционные продукты атакуют белки в различных функциональных участках с образованием их разнообразных модификаций. Обратимые модификации имеют отношение к физиологическим процессам и представляют собой сигнальные механизмы, в то время как необратимые модификации могут способствовать патологическим нарушениям и развитию ряда заболеваний. Некоторые продукты окисления белков химически стабильны и образуются в большом количестве, что может свидетельствовать о возможности использования их в качестве биомаркеров окислительного стресса [35].

А. R. Mallard et al. оценили вариабельность и различия в биомаркерах окислительного стресса (F-изопростаны, карбонилы белка, ОАС, активность ГП) и воспаления (IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- $\alpha$ ) у больных СД2 и здоровых людей контрольной группы. По результатам исследования концентрация биомаркеров была одинаковой в обеих группах, но сильно варьировалась. Как биомаркер воспаления коэффициент вариации ( $C_v$ ) изменялся от 64,0 до 92,1 % для внутрииндивидуальных и от 100,9 до 259,0 % для межиндивидуальных различий.  $C_v$  как биомаркер окислительного стресса был меньше для внутрииндивидуальных, чем для межиндивидуальных

различий (соответственно 7,4–31,2, 8,6–43,0 %). У ОАС был самый низкий внутрииндивидуальный CV – 7 % у пациентов с СД2 и 8 % у группы контроля. Содержание карбонилированных белков в группе контроля сильнее варьировало во второй половине дня, чем утром (34 и 24 % соответственно). Эти данные говорят о том, что биомаркеры окислительного стресса и воспаления демонстрируют значительные различия как у лиц с СД2, так и у здоровых людей [36].

### Заключение

Окислительный стресс тесно связан с развитием ССЗ, рака, диабета, нейродегенеративных заболеваний, ревматоидного артрита, заболеваний почек и других заболеваний. Наиболее важные и надежные биомаркеры окислительного стресса, оцениваемые с помощью метода иммуноферментного анализа, в последние годы являются потенциально полезным инструментом в разработке новых подходов к диагностике и коррекции возраст-ассоциированных заболеваний. Изучение и выявление новых биомаркеров, связанных с дисфункцией эндотелиальной ткани, важны для улучшения профилактики и терапии ССЗ. Регулирование генов, связанных с эндотелиальной дисфункцией, является потенциально новой целью для разработки препаратов, которые способны предотвращать эндотелиальную дисфункцию, связанную с ССЗ. Однако необходимо отметить, что прежде чем эти технологии и персонализированные терапевтические стратегии могут быть использованы в управлении ССЗ, необходимо решить множество существующих проблем в изучении и методах выявления биомаркеров окислительного стресса. Прогресс в разработке методов обнаружения и количественной оценки этих биомаркеров (иммуноферментный анализ) может облегчить требуемые ресурсы и время анализа, а также способствовать применению их в клинической практике.

### Литература

- Marrocco I., Altieri F., Peluso I. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017; 6501046: 1–32. doi: 10.1155/2017/6501046
- Robson R., Kundur A.R., Singh I. Oxidative stress biomarkers in type 2 diabetes mellitus for assessment of cardiovascular disease risk. *Diabetes Metab Syndr.*, 2018 (3): 455–462. doi: 10.1016/j.dsx.2017.12.029
- Dubois-Deruy E., Peugnet V., Turkieh A., Pinet F. Oxidative stress in cardiovascular diseases. *Antioxidants (Basel)*, 2020; 9 (9): 864. doi: 10.3390/antiox9090864
- Lorenzon Dos Santos J., Quadros A.S., Weschenfelder C., Garofallo S.B., Marcadenti A. Oxidative stress biomarkers, nut-related antioxidants, and cardiovascular disease. *Nutrients*, 2020; 12 (3): 682. doi: 10.3390/nu12030682
- Cheraghi M., Ahmadvand H., Maleki A., Babaeenezhad E., Shakiba S., Hassanzadeh F. Oxidative stress status and liver markers in coronary heart disease. *Rep. Biochem. Mol. Biol.*, 2019; 8 (1): 49–55.
- Kibel A., Lukinac A.M., Dambic V., Juric I., Selthofer-Relatic K. Oxidative Stress in Ischemic Heart Disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2020: 6627144. doi: 10.1155/2020/6627144
- Pisoschi A.M., Pop A., Iordache F., Stanca L., Predoi G., Serban A.I. Oxidative stress mitigation by antioxidants – An overview on their chemistry and influences on health status. *Eur. J. Med. Chem.*, 2021; 209: 112891. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112891
- Niki E. Oxidant-specific biomarkers of oxidative stress. Association with atherosclerosis and implication for antioxidant effects. *Free Radic. Biol. Med.*, 2018; 120: 425–440. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.001
- Hamedifard Z., Farrokhian A., Reiner Ž., Bahmani F., Asemi Z., Ghotbi M., Taghizadeh M. The effects of combined magnesium and zinc supplementation on metabolic status in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Lipids Health Dis.*, 2020; 19 (1): 112. doi: 10.1186/s12944-020-01298-4
- Raygan F., Bahmani F., Kouchaki E., Aghadavod E., Sharifi S., Akbari E., Heidari A., Asemi Z. Comparative effects of carbohydrate versus fat restriction on metabolic profiles, biomarkers of inflammation and oxidative stress in overweight patients with type 2 diabetic and coronary heart disease: A randomized clinical trial. *ARYA Atheroscler.*, 2016; 12 (6): 266–273.
- Wickremasinghe D., Peiris H., Chandrasena L.G., Senaratne V., Perera R. Case control feasibility study assessing the association between severity of coronary artery disease with Glutathione Peroxidase-1 (GPX-1) and GPX-1 polymorphism (*Pro198Leu*). *BMC Cardiovasc. Disord.*, 2016; 16: 111. doi: 10.1186/s12872-016-0280-9
- Dubois-Deruy E., Peugnet V., Turkieh A., Pinet F. Oxidative stress in cardiovascular diseases. *Antioxidants (Basel)*, 2020; 9 (9): 864. doi: 10.3390/antiox9090864
- Steyn M., Zitouni K., Kelly F.J., Cook P., Earle K.A. Sex differences in glutathione peroxidase activity and central obesity in patients with type 2 diabetes at high risk of cardio-renal disease. *Antioxidants (Basel)*, 2019; 8 (12): 629. doi: 10.3390/antiox8120629
- Crawford A., Fassett R.G., Coombes J.S., Kunde D.A., Ahuja K.D., Robertson I.K., Ball M.J., Geraghty D.P. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase genotypes and activities and the progression of chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant*, 2011; 26: 2806–2813. doi: 10.1093/ndt/gfq828
- Pang P., Abbott M., Abdi M., Fucci Q.A., Chauhan N., Mistri M., Proctor B., Chin M., Wang B., Yin W., Lu T.S., Halim A., Lim K., Handy D.E., Loscalzo J., Siedlecki A.M. Pre-clinical model of severe glutathione peroxidase-3 deficiency and chronic kidney disease results in coronary artery thrombosis and depressed left ventricular function. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2018; 33 (6): 923–934. doi: 10.1093/ndt/gfx304

16. Raygan F., Ostadmohammadi V., Bahmani F., Reiter R.J., Asemi Z. Melatonin administration lowers biomarkers of oxidative stress and cardio-metabolic risk in type 2 diabetic patients with coronary heart disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr.*, 2019; 38 (1): 191–196. doi: 10.1016/j.clnu.2017.12.004
17. Holley A., Pitman J., Miller J., Harding S., Larsen P. Glutathione peroxidase activity and expression levels are significantly increased in acute coronary syndromes. *J. Investig. Med.*, 2017; 65 (5): 919–925. doi: 10.1136/jim-2016-000361
18. Pisoschi A.M., Pop A., Iordache F., Stanca L., Predoi G., Serban A.I. Oxidative stress mitigation by antioxidants – an overview on their chemistry and influences on health status. *Eur. J. Med. Chem.*, 2021; 209: 112891. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112891
19. Souiden Y., Mallouli H., Meskhi S., Chaabouni Y., Rebai A., Chéour F., Mahdouani K. MnSOD and GPx1 polymorphism relationship with coronary heart disease risk and severity. *Biol. Res.*, 2016; 49: 22. doi: 10.1186/s40659-016-0083-6
20. Decharatchakul N., Settasatian C., Settasatian N., Komanasin N., Kukongviriyapan U., Intharaphet P., Senthong V. Association of genetic polymorphisms in *SOD2*, *SOD3*, *GPX3*, and *GSTT1* with hypertriglyceridemia and low HDL-C level in subjects with high risk of coronary artery disease. *PeerJ.*, 2019; 7: e7407. doi: 10.7717/peerj.7407
21. Decharatchakul N., Settasatian C., Settasatian N., Komanasin N., Kukongviriyapan U., Intharaphet P., Senthong V. Association of combined genetic variations in *SOD3*, *GPX3*, *PON1*, and *GSTT1* with hypertension and severity of coronary artery disease. *Heart Vessels.*, 2020; 35 (7): 918–929. doi: 10.1007/s00380-020-01564-6
22. Rivas-Urbina A., Benitez S., Perez A., Sanchez-Quezada J.L. Modified low-density lipoproteins as biomarkers in diabetes and metabolic syndrome. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2018; 23: 1220–1240. doi: 10.2741/4640
23. Kattoor A.J., Kanuri S.H., Mehta J.L. Role of Ox-LDL and LOX-1 in atherogenesis. *Curr. Med. Chem.*, 2019; 26 (9): 1693–1700. doi: 10.2174/0929867325666180508100950
24. Trpkovic A., Resanovic I., Stanimirovic J., Radak D., Mousa S.A., Cenic-Milosevic D., Jevremovic D., Isenovic E.R. Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 2015; 52 (2): 70–85. doi: 10.3109/10408363.2014.992063
25. Lopes-Virella M.F., Bebu I., Hunt K.J., Virella G., Baker N.L., Braffett B., Gao X., Lachin J.M.; DCCT/EDIC Research Group. Immune complexes and the risk of CVD in type 1 diabetes. *Diabetes*, 2019; 68 (9): 1853–1860. doi: 10.2337/db19-0358
26. Itabe H., Kato R., Sawada N., Obama T., Yamamoto M. The significance of oxidized low-density lipoprotein in body fluids as a marker related to diseased conditions. *Curr. Med. Chem.*, 2019; 26 (9): 1576–1593. doi: 10.2174/0929867325666180307114855
27. Gao S., Zhao D., Wang M., Zhao F., Han X., Qi Y., Liu J. Association between circulating oxidized ldl and atherosclerotic cardiovascular disease: a meta-analysis of observational studies. *Can. J. Cardiol.*, 2017; 33 (12): 1624–1632. doi: 10.1016/j.cjca.2017.07.015
28. Kehm R., Baldensperger T., Raupbach J., Höhn A. Protein oxidation – Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox. Biol.*, 2021; 42: 101901. doi: 10.1016/j.redox.2021.101901
29. Bollineni R.C., Fedorova M., Blüher M., Hoffmann R. Carbonylated plasma proteins as potential biomarkers of obesity induced type 2 diabetes mellitus. *J. Proteome Res.*, 2014; 13 (11): 5081–5093. doi: 10.1021/pr500324y
30. König J., Jung T., Grune T. Protein carbonylation in aging and senescence. In: protein carbonylation. Editor Joaquim Ros: John Wiley & Sons, Inc., 2017. P. 272. ISBN: 9781119374947
31. Hauck A.K., Huang Y., Hertz A.V., Bernlohr D.A. Adipose oxidative stress and protein carbonylation. *J. Biol. Chem.*, 2019; 294 (4): 1083–1088. doi: 10.1074/jbc.R118.003214
32. Almogbel E., Rasheed N. Elevated levels of protein carbonylation in patients with diabetic nephropathy: therapeutic and diagnostic prospects. *Am. J. Med. Sci.*, 2019; 358 (1): 26–32. doi: 10.1016/j.amjms.2019.03.011
33. Gryszczyńska B., Formanowicz D., Budzyń M., Wanic-Kossowska M., Pawliczak E., Formanowicz P., Majewski W., Strzyżewski K.W., Kasprzak M.P., Iskra M. Advanced oxidation protein products and carbonylated proteins as biomarkers of oxidative stress in selected atherosclerosis-mediated diseases. *Biomed. Res. Int.*, 2017; 2017: 4975264. doi: 10.1155/2017/4975264
34. Sultan C.S., Saackel A., Stank A., Fleming T., Fedorova M., Hoffmann R., Wade R.C., Hecker M., Wagner A.H. Impact of carbonylation on glutathione peroxidase-1 activity in human hyperglycemic endothelial cells. *Redox Biol.*, 2018; 16: 113–122. doi: 10.1016/j.redox.2018.02.018
35. Kehm R., Baldensperger T., Raupbach J., Höhn A. Protein oxidation – Formation mechanisms, detection and relevance as biomarkers in human diseases. *Redox Biol.*, 2021; 42: 101901. doi: 10.1016/j.redox.2021.101901
36. Mallard A.R., Hollekim-Strand S.M., Ingul C.B., Coombes J.S. High day-to-day and diurnal variability of oxidative stress and inflammation biomarkers in people with type 2 diabetes mellitus and healthy individuals. *Redox Rep.*, 2020; 25 (1): 64–69. doi: 10.1080/13510002.2020.1795587

**Сведения об авторах:**

**Марина Васильевна Волкова**, младший научный сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0003-1973-2618, e-mail: marina\_volkova91@mail.ru

**Юлия Игоревна Рагино**, д-р мед. наук, проф., главный научный сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, ORCID: 0000-0002-4936-8362, e-mail: ragino@mail.ru

**Information about the authors:**

**Marina V. Volkova**, junior researcher, laboratory of clinical biochemical and hormonal research of therapeutic diseases, ORCID: 0000-0003-1973-2618, e-mail: marina\_volkova91@mail.ru

**Yulia I. Ragino**, doctor of medical sciences, professor, chief researcher, laboratory for clinical biochemical and hormonal research of therapeutic diseases, ORCID: 0000-0002-4936-8362, e-mail: ragino@mail.ru

*Статья поступила* 05.10.2021

*Принята к печати* 21.11.2021

*Received* 05.10.2021

*Accepted* 21.11.2021

