АНОТАЦІЯ

Кравчука О.М. Вплив рівнів синтезу ендогенного сірководню на кардіодинаміку і судинний тонус у хворих на гіпертонічну хворобу. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії (PhD) за спеціальністю 222 – медицина. – Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, 2024.

Дисертаційна робота присвячена вивченню впливу рівнів сірководню у плазмі крові пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. (ГХ) різного віку на формування та перебіг даної патології.

За даними європейських організацій, поширеність гіпертонічної хвороби знаходиться в діапазоні 30-45% в загальній популяції з різким зростанням по мірі старіння. За даними ВООЗ кожна третя доросла людина на планеті має підвищений артеріальний тиск. У той же час справжня поширеність ГХ дотепер достеменно невідома, оскільки незрозуміло, як виявляти початкові стадії цього захворювання, а також які чинники є обов'язковими складовими для розвитку ГХ.

У зв'язку з цим мета наукового пошуку полягала у вивченні впливу змін рівня синтезу ендогенного сірководню на маркери окисно-нітрозативного стресу, клінічні та функціональні показники, ультраструктуру тромбоцитів та зміни мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів різних вікових груп з гіпертонічною хворобою.

Для досягнення поставленої мети нами вирішувалися наступні завдання:

1. Оцінити пул сірководню в плазмі крові та маркерів окисно-нітрозативного стресу, функціональні та клінічні показники, котрі є предметом вивчення в роботі, ультраструктуру тромбоцитів та мітохондріального апарату лейкоцитів у осіб контрольних груп.
2. З'ясувати динаміку вмісту сірководню в плазмі крові пацієнтів різного віку з гіпертонічною хворобою II ст. при різній тривалості застосування донора сірководню - фітопрепарату Full Spectrum Garlic (FSG - часник у капсулах).
3. Встановити зміни маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів різного віку після застосування донора сірководню.
4. Оцінити вплив донора сірководню на функціональні показники серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в різних вікових групах при різній тривалості його застосуваня.
5. З'ясувати вплив донора сірководню на клінічні показники у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в різних вікових групах при різній тривалості використання фітопрепарату.
6. Ідентифікувати вплив різної тривалості застосування донора сірководню на ультраструктуру тромбоцитів та зміни ультраструктури

мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в залежності від віку обстежених.

7. Вивчити вплив застосування піридоксаль-5-фосфату на вміст сірководню в плазмі крові та на функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. старшої вікової групи.

Об'єкт дослідження - кардіодинаміка і судинний тонус у пацієнтів з гіпертонічною хворобою при різних рівнях синтезу ендогенного сірководню.

Предмет дослідження - зміни кардіодинаміки та судинного тонусу і їх причини при різних рівнях синтезу сірководню в організмі пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.

Під час проведення досліджень застосовувалися наступні методи: загальноклінічне обстеження пацієнтів з метою визначення величин систолічного та діастолічного тиску, периферійного опору судин, хвилинного об'єму крові; лабораторні методи обстеження для визначення швидкості осідання еритроцитів, кількості еритроцитів та лейкоцитів, протромбінового індексу, рівня глюкози крові, загальної кількості холестерину в крові, концентрації сечовини та кількості креатиніну; інструментальні методи - електрокардіографія та ехокардіографія; біохімічні методи задля визначення вмісту H_2S в плазмі крові, швидкості генерації нестабільних вільних радикалів кисню, вмісту малонового діальдегіду (МДА); спектрофотометричний метод для визначення активності кальцій залежної конститутивної NOS (cNOS) і кальцій незалежної індуцибельної NOS (iNOS); електронномікроскопічний метод для вивчення ультраструктури клітин крові з подальшим застосуванням морфометричного підходу; статистична обробка результатів.

У дослідженні брали участь пацієнти (чоловіки) з вперше виявленою гіпертонічною хворобою II ст. віком 30-60 років. Вони були розподілені на 2 вікові групи: 1) 29-39 років (середній вік – 34,0±1,1 років); 2) 40-60 років (середній вік – 50,6±1,7 років). Контрольні групи (здорові чоловіки без ознак ГХ) були рандомізовані за віком. Кожна з обстежених груп складалася з 10 осіб.

Обстеження кожного пацієнта проводилося у 4 етапи: 1) перед початком дослідження; 2) після отримання стандартного курсу лікування основного захворювання (ГХ), яке тривало два тижні. Стандартна терапія включала інгібітори ангіотензинперетворювального ензиму (АПЕ) (еналаприл, раміприл, периндоприл) та бета-блокатори (небіволол, бісопролол); 3) після 2-тижневого курсу специфічного лікування; 4) після місячного курсу специфічного лікування. Останнє полягало у екзогенному (per os) додаванні до традиційної терапії ГХ донора сірководню у дозі 400 мг на добу, - котрий містився у фітопрепараті Full Spectrum Garlic (FSG - часник у капсулах) (Swanson Health Products, США). Курс прийому фітопрепарату становив 30 днів, під час якого пацієнти обстежувалися двічі – через 2 тижні та в кінці лікування. Додатково проводилося обстеження після 2-тижневого курсу лікування, в якому до традиційної терапії додавали піридоксаль-5-фосфат (PLP, Solgar США) у дозі 100 мг/добу.

У дисертаційній роботі вперше показано, що фітопрепарат (часник у капсулах) в ролі донора сірководню здатний підвищувати концентрацію H_2S в плазмі крові не тільки в залежності від тривалості вживання, але й від віку пацієнтів з гіпертонічною хворобою. Вперше доведена антирадикальна та антиоксиданна дія досліджуваного фітопрепарату, що реалізується у зменшенні маркерів ПОЛ, у гальмування нітрозативного стресу. Причому встановлено, що дані процеси більш виражені у старших пацієнтів з гіпертензією. Було встановлено наявність протизапального ефекту фітопрепарату незалежно від віку пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст., проте в залежності від тривалості його застосування. Охарактеризовані при гіпертонічній хворобі II ст. ультраструктурні зміни в клітинах крові – тромбоцитах та лейкоцитах. Показано, що встановлені зміни вказують на зростання ризику тромбоутворення у пацієнтів та на компенсаторну реакцією, спрямовану на зниження судинного тонусу через зменшення резервів серотоніну в крові. Вперше продемонстровано розвиток мітохондріальної дисфункції в лейкоцитах у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст., а також встановлений той факт, що при даній патології має місце виражена активація ультраструктурних ознак мітофагії. Отримано результати, котрі вказують на позитивний вплив донора сірководню на ультраструктуру тромбоцитів та мітохондрій в лейкоцитах, з різним ступенем вираженості процесів в залежності від тривалості терапії та віку пацієнтів. Виявлено, що клітинні реакції більш активні при меншій тривалості впливу донора сірководню у осіб молодшого віку. Підтверджено, що PLP у осіб старшого віку з гіпертонічною хворобою II ст. може справляти на досліджувані показники ефект, подібний до отриманого при застосуванні фітопрепарату донора сірководню.

Результати роботи мають як фундаментальне значення, оскільки розширюють існуючі уявлення про залучення H_2S у механізми розвитку та перебігу гіпертонічної хвороби, так і прикладне значення.

Дані, наведені у дисертаційному дослідженні, демонструють суттєву нормалізацію вмісту сірководню у плазмі крові пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст., покращення функціональних та клінічних лабораторних показників, зменшення маркерів окисно-нітрозативного стресу, поліпшення ультраструктури тромбоцитів та значну нормалізацію стану мітохондріального апарату лейкоцитів під впливом фітопрепарату – донора сірководню. Практичне значення роботи полягає у тому, що на основі отриманих результатів показана можливість використання препарату часнику як для нормалізації зниженого при гіпертонічній хворобі II ст. вмісту сірководню, так і у якості м´якого антитромботичного і гіполіпідемічного засобу. Важливим є встановлення необхідності приймати до уваги при застосуванні препарату не тільки тривалості терапії, але й віку пацієнтів задля отримання передбачених позитивних результатів. Для практичної медицини важливим є встановлений факт подібності виявлених позитивних ефектів при використанні в комплексній терапії гіпертонічної хвороби

донорів сірководню - фітопрепарату часнику і кофакторів сірководеньсинтезуючих ферментів - піридоксаль-5-фосфат (вітаміна B_6).

Ключові слова: гіпертонічна хвороба, сірководень, фітопрепарат часнику, піридоксаль-5-фосфат, нітрозативний стрес, вільнорадикальні процеси, скоротлива та насосна функція міокарда, тромбоцити, лейкоцити, мітохондріальна дисфункція.

Kravchuk O.M. Influence of levels of endogenous hydrogen sulfide synthesis on cardiodynamics and vascular tone in patients with arterial hypertension. – Manuscript. A dissertation submitted to acquire the degree of Candidate of Science in Medicine (PhD), specialty – 222 – Medicine – Bogomoletz Institute of Physiology NASU, Kyiv, 2024.

The dissertation presents a study of the influence of hydrogen sulfide levels in the blood plasma of patients with arterial hypertension (AH) of different ages on the formation and course of this pathology.

According to European organizations, the prevalence of hypertension is in the range of 30-45% in the general population with a sharp increase with age. According to the WHO, every third adult on the planet has high blood pressure. At the same time, the true prevalence of arterial hypertension is still unknown, as it is unclear how to detect the initial stages of the disease, as well as what factors are necessary components for the development of hypertension.

Therefore, the aim of the research was to study the effect of changes in the level of endogenous hydrogen sulfide synthesis on markers of nitric oxidative stress, clinical and functional parameters, platelet ultrastructure and changes in the mitochondrial apparatus of leukocytes in patients of different ages with arterial hypertension.

To achieve this aim we solved the following tasks:

1. To evaluate the pool of hydrogen sulfide in blood plasma and markers of oxidative-nitrosative stress, functional and clinical indicators that are the subject of study, the ultrastructure of platelets and mitochondrial apparatus of leukocytes in control groups.
2. To determine the dynamics of hydrogen sulfide content in the blood plasma of patients of different ages with arterial hypertension under different duration of use of a hydrogen sulfide donor - phytopreparation Full Spectrum Garlic (FSG - garlic in capsules).
3. To establish changes in markers of oxidative-nitrosative stress in the blood plasma of patients of different ages after the use of a hydrogen sulfide donor.
4. To evaluate the effect of hydrogen sulfide donor on functional parameters in patients with hypertension in different age groups with different duration of its application.
5. To find out the influence of a hydrogen sulfide donor on clinical indicators in patients with arterial hypertension in different age groups with different duration of phytopreparation use.

6. To identify the effect of different duration of hydrogen sulfide donor on platelet ultrastructure and changes in the ultrastructure of the mitochondrial apparatus of leukocytes in patients with arterial hypertension depending on the age of the subjects.

7. To study the effect of PLP on the content of hydrogen sulfide in blood plasma and on the functional parameters of the cardiovascular system in patients with hypertension of older age.

The object of the study is cardiodynamics and vascular tone in patients with hypertension at different levels of synthesis of endogenous hydrogen sulfide.

The subject of the study - changes in cardiodynamics and vascular tone and their causes at different levels of hydrogen sulfide synthesis in patients with arterial hypertension.

The following methods were used during the research: conducting a general clinical examination of patients to determine the values of systolic and diastolic pressure, peripheral vascular resistance, minute blood volume; laboratory examination methods to determine the erythrocyte sedimentation rate, erythrocyte and leukocyte count, prothrombin index, blood sugar level, total cholesterol, urea concentration and creatinine; used traditional instrumental methods of examination of patients - electrocardiography and echocardiography; biochemical methods to determine the content of H_2S in blood plasma, the rate of generation of unstable oxygen free radicals, the content of malonic dialdehyde (MDA); spectrophotometric method for determining the activity of calcium-dependent constitutive NOS (cNOS) and calcium-independent inducible NOS (iNOS); electron microscopic method for studying the ultrastructure of blood cells with the subsequent application of the morphometric approach; statistical processing of results.

The study involved patients (men) with newly diagnosed second-degree hypertension aged 30-60 years. They were divided into 2 age groups: 1) 29-39 years (mean age - 34.0 ± 1.1 years); 2) 40-60 years (average age - 50.6 ± 1.7 years). Control groups (healthy men without signs of hypertension) were randomized by age. Each of the surveyed groups consisted of 10 people.

Examination of each patient was conducted in 4 stages: 1) before the study; 2) after receiving a standard course of treatment of the underlying disease (GC), which lasted two weeks. Standard therapies included angiotensin-converting enzyme (APE) inhibitors (enalapril, ramipril, perindopril) and beta-blockers (nebivolol, bisoprolol); 3) after a 2-week course of specific treatment; 4) after a month of specific treatment. The latter consisted of exogenous (per os) addition of 400 mg of hydrogen sulfide to the traditional GC therapy of the donor, which was contained in the phytopreparation Full Spectrum Garlic (FSG - garlic in capsules) (Swanson Health Products, USA). The course of phytopreparation was 30 days, during which patients were examined twice - in 2 weeks and at the end of treatment. Additionally, the study was performed after a 2-week course of treatment, in which pyridoxal-5-phosphate (PLP, Solgar USA) was added to traditional therapy at a dose of 100 mg / day.

In the dissertation it is shown for the first time that the phytopreparation (garlic in capsules) as a hydrogen sulfide donor is able to increase the concentration of H_2S in blood plasma not only depending on the duration of use, but also on the age of patients with hypertension. For the first time, the antiradical and antioxidant effect of the studied phytopreparation, which is realized in the reduction of LPS markers, in the inhibition of nitrosative stress, was proved. Moreover, for the first time it was found that these processes are more pronounced in older patients with hypertension. For the first time, the presence of anti-inflammatory effect of the phytopreparation was established regardless of the age of patients with arterial hypertension, but depending on the duration of its use. Ultrastructural changes in blood cells - platelets and leukocytes - were characterized for the first time in hypertension. It has been shown that the identified changes indicate an increased risk of thrombosis in patients and a compensatory response aimed at reducing vascular tone due to a decrease in serotonin reserves in the blood. The development of mitochondrial dysfunction in leukocytes under hypertension was demonstrated for the first time, and the fact was established that in this pathology there is a pronounced activation of ultrastructural signs of mitophagia. For the first time, results were obtained that indicate a positive effect of a hydrogen sulfide donor on the ultrastructure of platelets and mitochondria in leukocytes, with varying degrees of severity depending on the duration of therapy and age of patients. It was found that cellular reactions are more active and with a shorter duration of exposure to hydrogen sulfide donor are expressed in younger people. It was found that cellular reactions are more active and with a shorter duration of exposure to hydrogen sulfide donor are expressed in younger people. For the first time it was found that vitamin B_6 in the elderly people with hypertension can have an effect on the studied indicators similar to that obtained when using the phytopreparation of a hydrogen sulfide donor.

The results obtained in this work are of fundamental importance, the fragments of expansion are the discovery of the involvement of H_2S in the mechanisms of development and go through arterial drugs, and applied value. The data presented in the dissertation study show a significant normalization of the content of hydrogen sulfide in the blood plasma of patients with hypertension, improvement of functional and clinical laboratory parameters, reduction of markers of oxidative-nitrosative stress, improvement of platelet ultrastructure and significant normalization of mitochondrial apparatus of leukocytes under the influence of phytopreparation - hydrogen sulfide donor.

The practical significance of the work is that based on the obtained results the possibilities of using garlic preparation both for normalization of reduced hydrogen sulfide content in arterial hypertension and as a mild antithrombotic agent for signs of hypertension and hypercholesterolemia are shown. It is important to establish the need to take into account when using the drug not only the duration of therapy, but also the age of patients in order to obtain the expected positive results. For practical medicine the established fact of similarity of the revealed positive influences at use in complex therapy of arterial hypertension and the donor of hydrogen sulfide and PLP is important.

Key words: arterial hypertension, hydrogen sulfide, garlic phytopreparation, PLP, nitrosative stress, free radical processes, contractile and pumping function of the myocardium, platelets, leukocytes, mitochondrial dysfunction.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

В яких опубліковані основні результати роботи:

1. Kravchuk A.N., Rozova E.V. The influence of hydrogen sulfide on the structural characteristics of leukocytes mitochondrial apparatus in patients with arterial hypertension. *Reports of Morphology*. 2019; 25 (4): 30-35. DOI: 10.31393/morphology-journaI-2019-25(4)-05

2. Kravchuk A., Rozova K. Changes in the structural characteristics of platelets and leukocytes in patients with arterial hypertension under the influence of a hydrogen sulfide donor. *EUREKA: Heaith Sciences*. 2020; (3): 33-40. DOI: 10.21303/2504-5679.2020.001288

3. Кравчук О.М., Гошовська Ю.В., Коркач К.П., Сагач В.Ю. Фітопрепарат часнику знижує артеріальний тиск і зменшує окисний стрес, збільшуючи вміст H2S у плазмі крові у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. *Фізіол. журн*. 2020; 66 (4): 55-63. DOI: https://doi.org/10.15407/fz66.04.055

4. Kravchuk O.M., Goshovska Y.V., Korkach Y.V., Sagach V.F. Garlic supplement lowers blood pressure in 40-60 years old hypertensive individuals, regulates oxidative stress, plasma cholesterol and protrombin index. *J Cardiovasc Med Cardiol*. 2021; 8 (2): 41-47. DOI. https://dx.doii.org/10.17352/2455-2976.000168

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертаційного дослідження:

1. Kravchuk A. Features of changes in the mitochondrial apparatus of leukocytes in patients with arterial hypertension when applied with therapeutic purpose of hydrogen sulfur donor. London, UK; 02-06 November, 2020: 310-313.

2. Кравчук О.М. Зміни маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів з артеріальною гіпертензією після застосування фітопрепарату донора сірководню. Vancouver, Canada; 23-26 November, 2020: 439-453.

3. Кравчук О.М. Вплив попередника утворення сірководню на зміни артеріального тиску та мітохондріальну дисфункцію у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. IV International Scientific and Practical Conference "Priority directions of science and technology development". Kyiv, Ukraine; 20-22 December, 2020: 134-140.

4. Кравчук О.М. Порівняльна характеристика впливу донора сірководню та піридоксаль-5-фосфат на функціональні параметри серцево-судинної системи при артеріальній гіпертензії. Наукові тренди постіндустріального суспільства. Суми, Україна, 31 березня, 2023: 255-258.