

Антиокислительный статус и процессы перекисного окисления липидов у больных стабильными формами ишемической болезни сердца с дислипидемией

О.Л. Белая, В.А. Сулимов, И.Г. Фомина, З.В. Куроптева¹, Л.М. Байдер¹

Московская медицинская академия имени И.М.Сеченова, ¹Институт биохимической физики РАН имени Н.М.Эмануэля. Москва, Россия

Antioxidant status and lipid peroxidation in stable coronary heart disease patients with dyslipidemia

O.L. Belaya, V.A. Sulimov, I.G. Fomina, Z.V. Kuropteva¹, L.M. Bayder¹

I.N. Sechenov Moscow Medical Academy, ¹N.M. Emanuel Research Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences. Moscow, Russia

Цель. Изучить процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), проокислительный статус и антиокислительную защиту у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), стабильной стенокардией, постинфарктным кардиосклерозом, прошедших коронароангиографию (КАГ).

Материал и методы. В исследование включены 32 больных ИБС: стенокардией II-III функциональных классов, подвергшихся КАГ, и 22 практически здоровых человека. Общепринятыми методами перед КАГ определяли: в плазме крови содержание липидов, продуктов ПОЛ, мочевого кислоты, церулоплазмينا (ЦП), трансферрина (ТФ); метгемоглобина в крови методом электронного парамагнитного резонанса; гомоцистеина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии; супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП) в эритроцитах.

Результаты. У больных при КАГ выявлено тяжелое поражение коронарных артерий (КА): доля стенозов $\geq 70\%$ составила 63,7% от общего их числа. При этом имели место выраженные нарушения липидного обмена, процессов ПОЛ, а также достоверное снижение содержания тканевых – СОД на 10%, ГП на 46%, и плазменных антиоксидантных ферментов – ЦП/ТФ на 33%, по сравнению с практически здоровыми людьми. Выявлена прямая корреляционная зависимость между количеством стенозов КА и возрастом ($r=0,4$), уровнями общего холестерина и холестерина липопротеидов низкой плотности ($r=0,3$), содержанием продуктов ПОЛ – малонового диальдегида ($r=0,34$) и обратная зависимость между количеством стенозов и уровнем антиокислительных ферментов СОД ($r=-0,5$), ГП ($r=-0,3$), отношением ЦП/ТФ ($r=-0,3$) при ИБС.

Заключение. Степень атеросклеротического поражения КА зависит от состояния тканевых и плазменных антиокислительных ферментов и степени выраженности процессов ПОЛ.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, перекисное окисление липидов, тканевые и плазменные антиоксидантные ферменты, гомоцистеин, коронароангиография.

Aim. To study lipid peroxidation (LP), pro-oxidant status, and antioxidant protection in coronary heart disease (CHD) patients with stable angina and post-infarction cardiosclerosis, who underwent coronarangiography (CAG).

Material and methods. The study included 32 CHD patients with Functional Class II-III angina, who underwent CAG, and 22 relatively healthy controls. Before CAG, plasma levels of lipids, PL products, uric acid, ceruloplasmin (CP), transferrin (RF) and methemoglobin (electron paramagnetic resonance), homocysteine (highly effective liquid chromatography), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GP) in red blood cells were measured.

Results. In CAG, severe coronary artery pathology was registered: occlusions of at least 70% comprised 63,7% of the total stenosis rate. Severe lipid metabolism and PL disturbances, as well as decrease in tissue and plasma antioxidant enzymes (SOD by 10%, GP by 46%, CP/TF by 33%) – were observed, comparing to the control group. There was a direct correlation between coronary artery stenosis rate and age ($r=0,4$) or levels of total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol ($r=0,3$), and PL product, MDA ($r=0,34$). Inverse correlation between stenosis

© Коллектив авторов, 2006
Тел.: (095) 245-45-32
e-mail: olgabelaya@km.ru

number and antioxidant enzyme levels was also registered in CHD patients for SOD ($r=-0,5$), GP ($r=-0,3$), and CP/TF ($r=-0,3$).

Conclusion. Coronary artery atherosclerosis severity was affected by tissue and plasma antioxidant enzyme levels, as well as by LP manifestation.

Key words: Coronary heart disease, lipid peroxidation, tissue and plasma antioxidant enzymes, homocysteine, coronary angiography.

Литературные данные последних лет указывают на то, что для развития атеросклероза имеет значение появление в крови окисленных, модифицированных липопротеинов низкой плотности (ЛНП), которые захватываются моноцитами-макрофагами стенки сосуда быстрее, чем неокисленные липопротеины (ЛП). Модифицированные ЛНП образуются в результате свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) под действием активных форм кислорода (АФК) [13,15].

Главным источником АФК служит молекулярный кислород, который в организме окисляется до воды. В норме в физиологических условиях АФК образуются постоянно и участвуют в важнейших окислительно-восстановительных процессах [8,9].

При неполном восстановлении кислорода под влиянием экзо- и эндогенных факторов, в т.ч. лекарственных, происходит несбалансированное образование реакционно-способных АФК, что ведет к свободнорадикальному окислению жирных кислот (ЖК) в фосфолипидах ЛП, следствием которого является ПОЛ клеточных мембран. Возникает так называемый окислительный стресс, причем в процесс вовлекаются не только липиды (полиненасыщенные ЖК в составе клетки), но и белки, нуклеиновые кислоты и, что особенно важно, оксид азота (NO). Нарушение синтеза и метаболизма NO приводит к дисфункции эндотелия [12].

Системы, участвующие в образовании АФК, и процессы, связанные с окислительной деструкцией или окислительным стрессом биологически активных соединений, объединяют в понятие проокислительной системы. Проокислительными свойствами обладают гиперхолестеринемия (ГХС), гиперлипопротеинемия (ГЛП), гипергомоцистеинемия, повышенное содержание мочевой кислоты, факторы воспаления, первичные и вторичные продукты ПОЛ, метгемоглобин и другие соединения.

Поскольку АФК, а также первичные и вторичные продукты свободнорадикального

ПОЛ оказывают мощное повреждающее действие на эндотелий сосудов, в организме существуют регуляторные механизмы, ограничивающие накопление этих высокотоксичных продуктов [1,4,5]. В норме токсическое действие АФК предотвращают функционирующие антиокислители (АО), которые представлены ферментативными и неферментативными соединениями, хорошо сбалансированными в организме.

Учитывая особенности патогенеза атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС), следует ожидать положительного эффекта от коррекции ПОЛ и, в частности от применения АО. К настоящему времени имеется немало исследований, отражающих противоречивые данные о влиянии АО на конечные точки течения ИБС: инфаркт миокарда (ИМ), внезапную смерть (ВС) [11,14,16]. Однако следует отметить, что контроль за развитием окислительного стресса у данной категории больных проводился недостаточно. Применяемые АО часто назначались в неадекватных дозах, без контроля состояния про- и антиокислительных систем.

В связи с тем, что имеются единичные сообщения о роли плазменных АО — церулоплазмина (ЦП) и трансферрина (ТФ), предотвращающих активацию ПОЛ с участием ионов двухвалентного железа (Fe^{2+}), было проведено настоящее исследование [2,6,7,10].

Цель исследования — оценить состояние процессов ПОЛ, проокислительного статуса и антиокислительной защиты у больных ИБС: стабильной стенокардией (СС), постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС), прошедших коронароангиографию (КАГ).

Материал и методы

Обследованы 32 больных ИБС: стенокардией II-III функциональных классов (ФК) по классификации Канадской ассоциации кардиологов, ПИКС, средний возраст прошедших КАГ $52,0 \pm 3,8$ лет; 22 практически здоровых человека, средний возраст $47,4 \pm 3,8$ лет.

Диагноз ИБС устанавливался на основании жалоб, анамнеза, клинических данных, результатов проб с фи-

зической нагрузкой (ФН), электрокардиографии (ЭКГ) и эхокардиографии (ЭхоКГ). ПИКС диагностировали на основании наличия в анамнезе документированного ИМ или патологического зубца Q на ЭКГ.

В исследование не включали лиц, страдающих недостаточностью кровообращения IIБ-III стадий по классификации Н.Д.Стражеско-В.Х.Василенко, аутоиммунными заболеваниями, патологией кровеносных органов, злокачественными новообразованиями, хроническими болезнями легких, печени, почек в период обострения, декомпенсированным сахарным диабетом (СД) и патологией щитовидной железы.

Больным проводились клинико-лабораторное и инструментальное обследования: ЭКГ, пробы с ФН, доплер-ЭхоКГ, холтеровское мониторирование, КАГ. До КАГ определяли общепринятыми методами биохимические показатели сыворотки крови: общий холестерин (ОХС), триглицериды (ТГ), холестерин липопротеидов низкой (ХС ЛНП), высокой (ХС ЛВП) плотности, малоновый диальдегид (МДА) и диеновые конъюгаты (ДК), уровни эритроцитарных антиокислительных ферментов (АФ) – супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП), мочевой кислоты. Содержание гомоцистеина в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектором. Содержание плазменных белков ЦП и ТФ и метгемоглобина оценивали методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), измеряя интенсивности их сигналов [6].

Отношение ЦП/ТФ отражает суммарную антиокислительную активность (АОА) этих белков, а увеличение этого отношения свидетельствует о росте АОА [3,10].

КАГ выполнял на кафедре факультетской терапии № 1 лечебного факультета ММА имени И.М.Сеченова (зав. кафедрой, проф. В.А.Сулимов). Содержание гомоцистеина определяли в Институте физико-химической биологии РАН. Измерение активности эритроцитарных АФ и спектров ЭПР ЦП и ТФ – в Институте биофизической химии им. Н.М.Эмануэля.

Результаты и обсуждение

Клиническая характеристика обследованных больных и практически здоровых лиц представлена в таблице 1.

Больные ИБС и практически здоровые люди были однородны по возрасту и полу, однако курение и отягощенный по сердечно-сосудистой патологии семейный анамнез встречались у больных ИБС чаще, чем у здоровых на 38% и 29,5% соответственно. 72% больных ИБС имели в анамнезе острый ИМ, 75% больных – АГ II-III степеней по классификации ВОЗ/МОАГ, 15,6% – СД 2 типа в стадии компенсации. 9% больных ИБС ранее перенесли БАП, 15,6% – АКШ.

Таблица 1

Клиническая характеристика больных ИБС и практически здоровых лиц

Показатели		Больные ИБС (n=32)	Практически здоровые (n=22)
Возраст, годы		52,0±3,8	47,4±3,8
Пол	Мужчины	30 (94%)	15 (91%)
	Женщины	2 (6%)	2 (9%)
Курение		18 (56%)	4 (18%)
Отягощенный семейный анамнез		27 (84%)	12 (54,5%)
Продолжительность ИБС		5,2±2,1	
Стенокардия	II ФК	11 (34%)	
	III ФК	21 (66%)	
ИМ в анамнезе		23 (72%)	
АГ II-III ст.		24 (75%)	
ФП		2 (6%)	
СД 2 типа в стадии компенсации		5 (15,6%)	
Лечение нитратами		32 (100%)	
Лечение антиагрегантами		32 (100%)	
Лечение ИАПФ		28 (87,5%)	
Лечение ББ		27 (84%)	
БАП в анамнезе		3 (9%)	
АКШ в анамнезе		5 (15,6%)	

Примечание: АГ – Артериальная гипертензия, ФП – фибрилляция предсердий, ИАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, ББ – бета-адреноблокаторы, БАП – баллонная ангиопластика, АКШ – аортокоронарное шунтирование.

Таблица 2

Биохимические показатели больных ИБС и практически здоровых лиц

Показатели	Больные ИБС (n=32)	Здоровые лица (n=22)
ОХС, ммоль/л	6,7±0,5*	5,4±0,4
ТГ, ммоль/л	2,5±0,4*	1,4±0,2
ХС ЛНП, ммоль/л	4,5±0,4*	3,1±0,3
ХС ЛВП, ммоль/л	1,1±0,1	1,4±0,1
ДК, нмоль/мл	25,9±2,1*	13,9±1,2
МДА, нмоль/мг белка	0,2±0,02*	0,12 ±0,02
ГП, А/мл крови × 10 ²	21,5±2,8*	39,8±3,8
СОД, А/мл крови × 10 ²	2313±252	2573±300
ЦП/ТФ	0,8±0,1*	1,2±0,1
Метгемоглобин	20,0±2,7	17,3±0,3
Мочевая кислота, мкмоль/л	411,5±30,3*	219,6±9,9
Гомоцистеин, мкмоль/л	22,4±11,6* (n=10)	3,9±0,9 (n=15)

Примечание: * — различия между показателями у здоровых лиц и больных ИБС достоверны (p<0,05).

В таблице 2 представлены изучаемые биохимические показатели больных ИБС и практически здоровых лиц.

У больных ИБС по сравнению со здоровыми лицами отмечалось повышение уровня ОХС, ТГ, ХС ЛНП, первичных и вторичных продуктов ПОЛ, метгемоглобина, гомоцистеина, мочевой кислоты. Концентрации ХС ЛВП, АФ, ЦП/ТФ у больных ИБС наоборот были снижены по сравнению с показателями здоровых лиц.

После взятия крови больным выполняли КАГ. У 27 (85%) пациентов обнаружено тяжелое поражение коронарных артерий (КА). У 5 (15%) стенозы КА отсутствовали, однако у одного больного отмечалось слабое развитие правой КА, у других 4 больных — неровность контуров или узость КА. У этих больных пробы с ФН были положительными.

В таблице 3 указаны основные КА, пораженные атеросклерозом, у обследованных больных.

Таким образом, у большинства обследованных больных ИБС в основном наблюдалось по-

ражение правой межжелудочковой ветви (69%) и правой КА (69%).

В таблице 4 отражены количество выявленных стенозов КА у больных ИБС и распределение их по степени выраженности.

У 65,6% больных ИБС преобладали выраженные 70-90% стенозы КА, у 40% выявлены окклюзии КА как проявление тяжелого атеросклеротического процесса. Всего у 32 обследованных больных ИБС были обнаружены 113 стенозов КА, причем доля стенозов ≥70% составила 63,7% от общего их числа.

При множественном регрессивном корреляционном анализе полученных результатов установлена прямая взаимосвязь между количеством стенозов КА и возрастом больных ИБС ($r_s=0,37$), уровнем ОХС ($r_s=0,39$), ХС ЛНП, содержанием продуктов ПОЛ — МДА ($r_s=0,44$), что представлено в таблице 5.

Выявлена обратная взаимосвязь между количеством стенозов КА и содержанием эритроцитарных АФ СОД ($r_s=-0,6$), АОА системы ЦП/ТФ ($r_s=-0,37$). Корреляционная взаимосвязь между уровнем гомоцистеина, мочевой

Таблица 3

КА, пораженные атеросклерозом у больных ИБС

Название КА	Количество больных ИБС
Ствол левой КА	4 (12,5%)
Правая межжелудочковая ветвь	22 (69%)
Диагональная ветвь	4 (12,5%)
Огибающая ветвь	14 (44%)
Ветвь тупого края	8 (25%)
Правая КА	22 (69%)

Таблица 4

Степень поражения КА у больных ИБС по результатам КАГ

% стеноза	Количество стенозов у больных ИБС	Количество больных, имеющих стенозы
30-49% – малый	13 (11,5%)	9 (28%)
50-69% – умеренный	28 (24,7%)	14 (43,7%)
70-90% – выраженный	52 (46%)	21 (65,6%)
100% – окклюзия	20 (17,7%)	13 (40%)
Всего	113	27 (84%)
Среднее количество стенозов	3,5±0,9	
Отсутствие стенозов	-	5 (15%)

кислоты, метгемоглобина и поражением КА в исследовании отсутствовала.

При корреляционном анализе показателей про- и антиокислительных статусов у больных ИБС, обследованных методом КАГ, выявлено следующее: прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем ОХС и МДА ($r=0,31$; $p>0,05$), ОХС и гомоцистеином ($r=0,63$; $p<0,05$); уровнем ТГ и МДА ($r=0,43$; $0,01<p<0,05$), ТГ и ДК ($r=0,37$; $0,01<p<0,05$). Отмечена обратная корреляционная зависимость между содержанием МДА и СОД ($r=-0,5$, $p<0,05$) и МДА и ГП ($r=-0,44$, $p<0,05$).

Результаты настоящего исследования еще раз подтверждают большое значение факторов риска (ФР): курения, АГ, дислипидемии, СД, возраста в развитии атеросклероза и ИБС, которое было установлено Фремингемским исследованием. Для успешной профилактики и лечения атеросклероза и ИБС необходимо установить наличие всех ФР, имеющих у больного.

Сопоставимые результаты были получены

при комплексном изучении состояния липидов, процессов ПОЛ и защиты АОС у 28 больных СС [17]. Отмечены снижение защиты АОС и интенсификация процессов ПОЛ у больных ИБС по сравнению со здоровыми людьми. Однако исследований о взаимосвязи между степенью поражения атеросклерозом КА при КАГ и состоянием про- и АОС при ИБС в доступной литературе не встретили.

Таким образом, результаты настоящего исследования показали, что степень атеросклеротического поражения КА зависит от состояния тканевых и плазменных АФ и степени выраженности процессов ПОЛ. Исходя из этого, более детальное изучение проокислительного и антиокислительного статусов больных ИБС необходимо для оценки их состояния и решения вопроса о тактике лечения и месте антиокислительных препаратов в коррекции выявленных нарушений, принимая во внимание важную роль окислительного стресса в патогенезе атеросклероза и ИБС.

Таблица 5

Корреляционная взаимосвязь поражения КА у больных ИБС и показателей их прооксидантного и антиоксидантного статусов

Показатели	Количество стенозов	Достоверность
Возраст	$r_s=0,37$	$p<0,05$
ОХС	$r_s=0,39$	$p<0,05$
ХС ЛНП	$r_s=0,31$	$p>0,05$
ХС ЛВП	$r_s=-0,2$	$p>0,05$
МДА	$r_s=0,44$	$p<0,05$
ДК	$r_s=0,15$	$p>0,05$
ГП	$r_s=-0,25$	$p<0,05$
СОД	$r_s=-0,6$	$p<0,01$
ЦП/ТФ	$r_s=-0,37$	$p<0,05$
Мочевая кислота	$r_s=0,1$	$p>0,05$
Метгемоглобин	$r_s=0,09$	$p>0,05$
Гомоцистеин	$r_s=0,13$	$p>0,05$

Примечание: r_s – коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Выводы

У больных ИБС имели место выраженные нарушения липидного обмена, процессов ПОЛ, а также снижение содержания тканевых – СОД на 10%, ГП на 46%, и плазменных АФ – ЦП/ТФ на 33%, повышение уровня гомоцистеина в 5,7 раза по сравнению с практически здоровыми людьми.

У большинства обследованных больных ИБС по данным КАГ в основном отмечалось поражение правой межжелудочковой ветви (69%) и правой КА (69%).

У 65,6% больных ИБС преобладали выраженные 70-90% стенозы КА, у 40% больных выявлены окклюзии КА как проявление

тяжелого атеросклеротического процесса. Всего у 32 обследованных больных ИБС диагностировано 113 стенозов КА, при этом стенозы $\geq 70\%$ составили 63,7% от общего их числа.

У больных ИБС существует прямая корреляционная зависимость между количеством стенозов КА и возрастом ($r_s=0,37$), уровнями ОХС и ХС ЛНП ($r_s=0,39$ и $0,31$), содержанием продуктов ПОЛ – МДА ($r_s=0,44$).

Установлена обратная взаимосвязь между количеством стенозов КА и уровнем эритроцитарных и плазменных АФ СОД ($r_s=-0,6$), активностью АОС ЦП/ТФ в плазме крови ($r_s=-0,37$) при ИБС.

Литература

1. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты: новые идеи и повторение пройденного. В кн: Биоантиоксидант. Изд Тюменского госуниверситета 1997; 3-4.
2. Белая О.Л., Байдер Л.М., Калмыкова В.И., Куроптева З.В. Влияние отечественных антиоксидантных препаратов на антиоксидантный статус и процессы перекисного окисления липидов в плазме крови у больных ИБС с гиперлипидемией. III съезд биофизиков России. Тез докл. Воронеж 2004; 56-7.
3. Козлов А.В., Сергиенко В.И., Владимиров Ю.А., Азизова О.А. Антиоксидантная система трансферрин-церулоплазмин при экспериментальной гиперхолестеринемии. Бюлл эксп биол 1984; 12: 668-71.
4. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra. Кардиология 2004; 2: 72-8.
5. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Кардиология 2000; 40(7): 48-61.
6. Пулатова М.К., Рихирева Г.Т., Куроптева З.В. Электронный парамагнитный резонанс в молекулярной радиобиологии. Москва «Энергоатомиздат» 1989; 106-7.
7. Рууге Э.К., Заббарова И.В., Свириева И.В. и др. Редокс-состояние клеток миокарда и гомеостаз железа, ферритин, активные формы кислорода и азота. III съезд биофизиков России. Тез докл. Воронеж 2004; 568-9.
8. Скулачев В.П. О биохимических механизмах эволюции и роли кислорода. Биохимия 1998; 63(11): 1570-9.
9. Darley-Usmar V, Halliwell B. Blood radicals: reactive nitrogen species, transition metal ions, and the vascular system. Pharm Res 1996; 13: 649-62.
10. Gutteridge JMC. Antioxidant properties of caeruloplasmin towards iron- and copper-dependent oxygen radical formation. FEBS Lett 1983; 157(1): 37-40.
11. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidants vitamin supplementation in 20536 high-risk individuals; a randomized placebo-controlled trial. Lancet 2002; 360: 23-34.
12. Li H, Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. J Pathol 2000; 190(3): 244-54.
13. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. Clin Invest 1993; 91: 2546-51.
14. Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio JE, et al. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in man. New Engl J Med 1993; 328: 1450-6.
15. Steinberg D. Oxidative modification of low-density-lipoproteins and atherogenesis. Circulation 1997; 95: 1062-71.
16. Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, et al. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). Lancet 1996; 347: 781-5.
17. Голиков А.П., Полумисков В.Ю., Михин В.П. и др. Антиоксиданты-цитопротекторы в кардиологии. Кардиоваск тер профил 2004; 6(ч.2): 66-74.

Поступила 06/10-2005