

СОСТОЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ЗАЩИТНЫХ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ КАРДИОПРОТЕКТОРАМИ

Гордеев И.Г., Ильина Е.Е., Люсов В.А., Волов Н.А., Бекчиу Е.А., Лебедева А.Ю.

Российский государственный медицинский университет, Москва

Резюме

Исследовано 58 пациентов стабильной стенокардией в возрасте от 43 до 72 лет, которым проводилось коронарное шунтирование в условиях искусственного кровообращения. Пациентам первой группы ($n=19$ человек) к лекарственной терапии, применяемой для лечения ИБС, в предоперационном периоде был добавлен препарат милдронат в дозировке 750 мг в сутки в течение трех дней, затем по 750 мг в сутки два раза в неделю. Пациентам второй группы ($n=19$ человек) к лекарственной терапии был добавлен препарат триметазидин (предуктал-МВ) в дозе 70 мг в сутки. Третья группа являлась контрольной ($n=20$ человек), в которой пациенты не получали лекарственные препараты метаболического действия. Исследовали динамику состояния перекисного окисления липидов и защитных антиоксидантных систем в первые сутки после операции, для чего производился забор крови до проведения коронарного шунтирования, через 6 и 24 часа после операции. Выявлено, что применение кардиопротекторов милдроната и триметазидина в предоперационном периоде способствует снижению содержания продуктов свободно-радикального окисления в крови пациентов, что связано с активацией защитных антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП).

Ключевые слова: антиоксидантные системы, перекисное окисление липидов, состояние после коронарного шунтирования, кардиопротекторы.

Одной из нерешенных задач в современной кардиохирургии является дисфункция миокарда, возникающая после операций коронарного шунтирования. С одной стороны, развитие ишемии с последующей дисфункцией миокарда во время операции связано с повреждающим действием искусственного кровообращения и препаратов-анестетиков, применяемых во время операции, с другой — с реперфузионным повреждением кардиомиоцитов, возникающим при реваскуляризации миокарда. Доказана роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) в патогенезе развития ишемии миокарда и реперфузии ишемизированных кардиомиоцитов, что сопровождается «всплеском» свободно-радикальных процессов и утяжелением этих состояний [2, 6]. Одним из механизмов увеличения содержания продуктов ПОЛ при ишемии и реперфузии является ингибирование активности антиоксидантных ферментов, прежде всего — глутатионпероксидазы (ГП) и супероксиддисмутазы (СОД) в ишемизированной ткани [12]. При истощении пула антиоксидантов ПОЛ приобретает неконтролируемый характер и вызывает прогрессирующее повреждение структур кардиомиоцитов, их гибель и, как следствие — снижение функциональных свойств миокарда [10]. В условиях достаточного кислородного обеспечения основным источником энергии миокарда являются жирные кислоты. При развитии ишемии и в реперфузионном периоде происходит нарушение процесса β -окисления жирных кислот в митохондриях, в результате чего накапливаются недоокисленные активированные формы жирных кислот, оказываю-

щие токсическое воздействие на мембраны кардиомиоцитов и являющиеся предпочтительными продуктами для ПОЛ [2]. Основными препаратами, ингибирующими β -окисление жирных кислот в митохондриях, являются кардиопротекторы — милдронат и триметазидин — с различными механизмами действия: триметазидин ингибирует ферменты, осуществляющие β -окисление жирных кислот в митохондриях, милдронат ингибирует биосинтез переносчика жирных кислот карнитина через митохондриальные мембраны. Препараты милдронат и триметазидин в настоящее время активно применяются для лечения пациентов со стабильной стенокардией.

Целью настоящей работы явилось исследование состояния перекисного окисления липидов и защитных антиоксидантных систем в крови пациентов со стабильной стенокардией, которым проводилось коронарное шунтирование, на фоне лечения милдронатом и триметазидином.

Материалы и методы

Исследовано 58 больных (52 мужчин, 6 женщин) стабильной стенокардией II-III функционального класса (ФК) по классификации Канадского сердечно-сосудистого общества, которым проводилось коронарное шунтирование с использованием аппарата искусственного кровообращения. Возраст пациентов составлял 43-72 лет. Диагноз стенокардии напряжения II-III ФК был установлен на основании клинических данных и результатов пробы с дозированной физической нагрузкой. У всех пациентов по данным ангиографи-

ческого исследования отмечалось поражение трех и более коронарных артерий. Критериями исключения из исследования являлись: поражение клапанного аппарата сердца, наличие инфаркта миокарда в течение последнего месяца, фракция выброса $<30\%$ по данным вентрикулографии, наличие нарушений ритма и проводимости сердца (атриовентрикулярная блокада II-III степени, постоянная форма мерцательной аритмии, устойчивая желудочковая тахикардия, желудочковая экстрасистолия высоких градаций), аллергические реакции в анамнезе на препараты милдронат и триметазидин, лечение препаратами метаболического действия на момент включения в исследование, отсутствие информированного согласия пациента на участие в исследовании.

Все больные были рандомизированы на 3 группы. Пациентам первой группы ($n=19$) к стандартной терапии, применяемой в настоящее время для лечения стенокардии напряжения, за 3 недели до операции был добавлен препарат Милдронат (Grindex, Латвия) в дозировке, рекомендуемой для лечения стабильной стенокардии: 750 мг в сутки первые три дня с последующим приемом 750 мг в сутки два раза в неделю. Пациентам второй группы ($n=19$) к стандартной терапии за 3 недели до операции назначали триметазидин (МВ-предуктал, Servier, Франция) в дозе 70 мг в сутки. Третья группа ($n=20$) являлась контрольной, пациенты которой получали стандартную терапию стабильной стенокардии, включающую применение нитратов, бета-адреноблокаторов, антагонистов кальциевых каналов, ингибиторов АПФ, дезагрегантов, статинов.

Группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту, тяжести поражения коронарного русла по данным ангиографии, наличию сопутствующей патологии и времени искусственного кровообращения во время коронарного шунтирования. При выполнении операции у всех больных применялась стандартная антеградная фармако-холодовая кардиолегия в качестве интраоперационной защиты сердца.

Для оценки состояния ПОЛ и антиоксидантных систем использовали венозную кровь, взятую из кубитальной вены у пациентов до операции, через 6 и 24 часа после проведения коронарного шунтирования.

Состояние ПОЛ оценивали по содержанию в сыворотке крови вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида – по методу Uchiyama M. и Mihara M. в модификации Андреевой Л.И., Кожемякина Л.А. и Кишкуна А.А. с использованием трихлоруксусной и тиобарбитуровой кислот [1, 13].

Состояние антиоксидантных систем организма оценивали по содержанию в эритроцитах крови защитных антиоксидантных ферментов СОД и ГП. Для определения активности СОД в крови использовали метод С. Beachamp и J. Fridovich [9]. Активность ГП в эритроцитах определяли по методу Paglia D.E. и

Valentine W.N. с помощью спектрофотометрической регистрации [11].

Статистическую обработку полученных данных производили на IBM PC Pentium, используя приложение Microsoft Excel для Windows. Применялись стандартные методы вариационной статистики с определением достоверности различий по критерию t Стьюдента, где значение $p<0,05$ считалось достоверным. Полученные данные представлены в виде $M\pm m$.

Результаты

В контрольной группе после проведения коронарного шунтирования отмечалось резкое увеличение в плазме крови содержания вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида – наряду с угнетением антиоксидантных ферментов СОД и ГП при их исследовании в эритроцитах крови. Показатель МДА в крови достоверно увеличился через 6 и 24 часа после операции, по сравнению с исходным значением – $4,32\pm 0,45$ мкмоль/л и составил $6,08\pm 0,75$ ($p<0,05$) и $5,94\pm 0,55$ ($p<0,05$) мкмоль/л, соответственно (рис. 1). Уровень СОД снизился с исходного значения $441,3\pm 14,3$ ед/мл • эр до $427,8\pm 20,9$ ед/мл • эр через 6 часов после операции с последующим увеличением до $464,3\pm 11,9$ ед/мл • эр к концу первых суток после коронарного шунтирования, однако изменения показателей СОД оказались недостоверными ($p>0,05$) (рис.2). Также отмечено недостоверное снижение уровня ГП с исходного значения $4,8\pm 0,41$ мкмоль/мл • мин до $4,24\pm 0,36$ мкмоль/мл • мин через 6 часов и до $4,34\pm 0,36$ мкмоль/л • мин через 24 часа после проведения операции ($p>0,05$) (рис.3).

В группе пациентов, которым на фоне базовой терапии стабильной стенокардии в предоперационном периоде был добавлен цитопротектор триметазидин, были получены следующие результаты. Значение МДА через 6 часов после операции достоверно увеличилось с $4,72\pm 0,44$ мкмоль/л до $6,64\pm 0,5$ мкмоль/л ($p<0,01$). К концу первых суток после проведения коронарного шунтирования содержание МДА в плазме крови достоверно уменьшилось до $4,19\pm 0,20$ мкмоль/л по сравнению с показателем МДА через 6 часов после операции ($p<0,01$) (рис.1). Значение МДА через 24 часа в группе пациентов, принимающих триметазидин, было достоверно ниже аналогичного показателя в контрольной группе ($p<0,05$). Отмечено значительное увеличение уровня СОД через 6 часов после операции до $494,8\pm 18,3$ ед/мл • эр по сравнению с исходным значением – $440,3\pm 18,7$ ед/мл • эр ($p<0,05$). Показатель СОД через 6 час оказался достоверно выше аналогичного показателя у пациентов контрольной группы ($p<0,05$). К 24 часам уровень СОД составил $450,5\pm 22,4$ ед/мл • эр ($p>0,05$) (рис. 2). Значение ГП к 6 часам достоверно увеличилось с $4,19\pm 0,23$ до $4,89$ мкмоль/мл • мин ($p<0,05$), с последующим пониже-

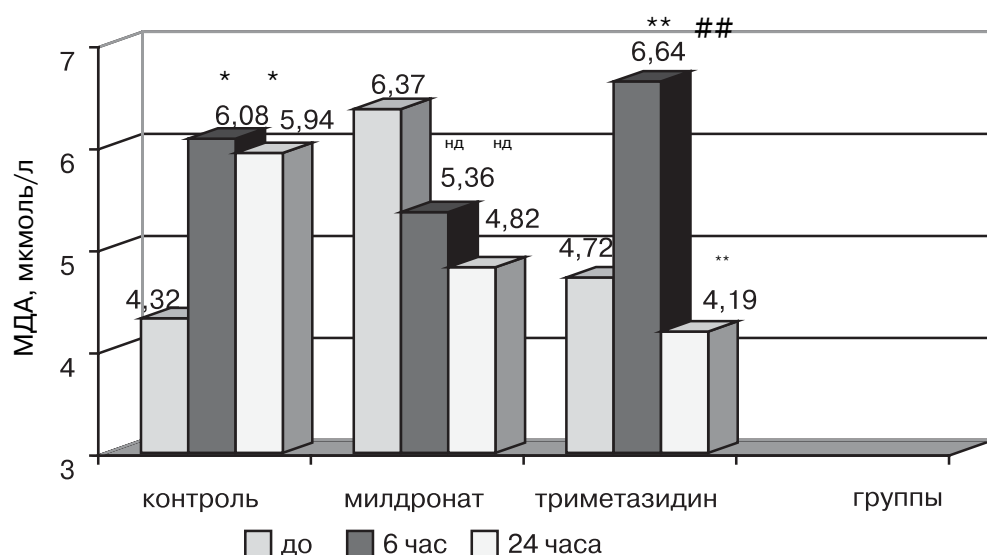


Рис. 1. Динамика уровня малонового диальдегида

Обозначения: отличия в подгруппах – * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ по сравнению с исходным значением; ## $p < 0,01$ по сравнению с предыдущим значением.

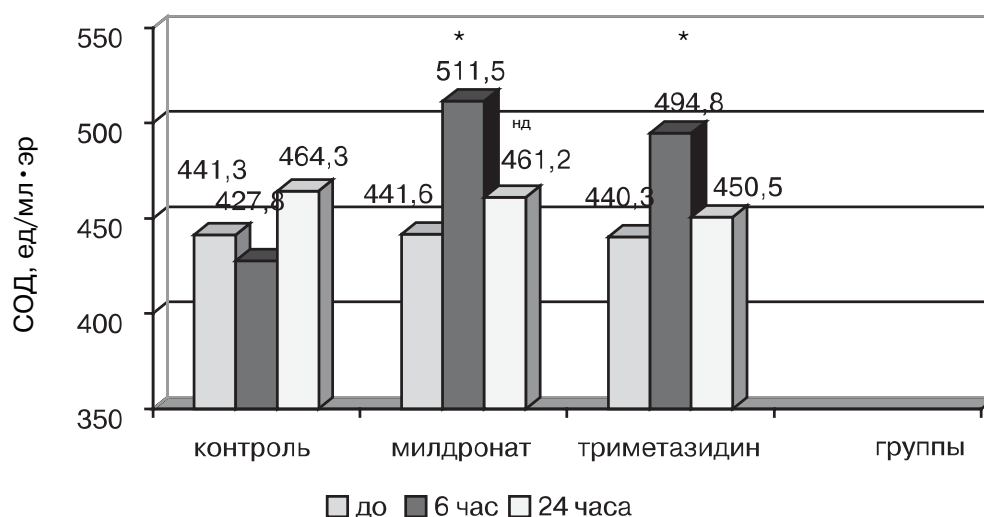


Рис. 2. Динамика уровня супероксиддисмутазы.

Обозначения: отличия в подгруппах - * $p < 0,05$ по сравнению с исходным значением.

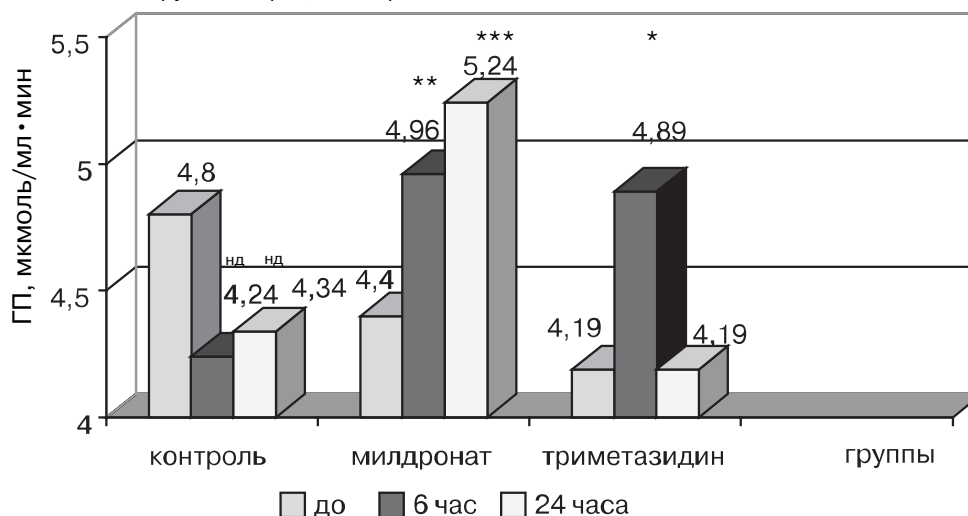


Рис. 3. Динамика уровня глутатионпероксидазы.

Обозначения: отличия в подгруппах - * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с исходными значениями.

ем до уровня, близкого к исходному и составляющему $4,19 \pm 0,24$ мкмоль/мл • мин (рис.3).

В группе пациентов, получающих в предоперационном периоде милдронат на фоне базовой терапии, наблюдается выраженная тенденция к снижению уровня МДА с $6,37 \pm 0,52$ до $5,36 \pm 0,66$ мкмоль/л к 6 часам после операции с последующим его понижением до $4,82 \pm 0,72$ мкмоль/л к концу первых суток после операции. Однако достоверной разницы показателей нами получено не было ($p > 0,05$) (рис. 1). В то же время, у пациентов данной группы достоверно увеличилось значение СОД к 6 часам после операции с $441,6 \pm 20,5$ до $511,5 \pm 27,5$ ед/мл • эр ($p < 0,05$), а к концу первых суток показатель СОД снизился до $461,2 \pm 32,3$ ед/мл • эр ($p > 0,05$) (рис. 2). Показатель ГП у пациентов, получающих в предоперационном периоде милдронат, достоверно увеличился с исходного значения $4,40 \pm 0,14$ до $4,96 \pm 0,14$ мкмоль/мл • мин к 6 часам после операции ($p < 0,01$); к концу первых суток после коронарного шунтирования уровень ГП увеличился с высокой степенью достоверности по сравнению с исходным значением и составил $5,24 \pm 0,16$ мкмоль/мл • мин ($p < 0,001$) (рис. 3). Значение СОД через 6 часов и ГП через 24 часа после операции в группе милдроната являлись достоверно выше соответствующих показателей в группе контроля ($p < 0,05$) при отсутствии достоверных различий исходных показателей по группам.

Обсуждение

Учитывая повреждающее действие продуктов перекисного окисления липидов на мембраны клеток и молекулы белков и нуклеиновых кислот, в организме существуют регуляторные механизмы, ограничивающие накопление этих высокотоксичных продуктов. К основным антиоксидантным ферментам относятся супероксиддисмутаза, фермент первой линии защиты, и глутатионпероксидаза, являющаяся ферментом третьей линии защиты от накопления продуктов липопероксидации [6]. Установлено, что у больных ишемической болезнью сердца увеличивается содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ и снижается состояние антиоксидантной защиты [3]. Ранее исследователями была установлена определенная закономерность между активностью антиоксидантных ферментов и уровнем МДА в тромбоцитах [8]. У здоровых лиц выявлена положительная корреляционная связь между активностью СОД и МДА, что следует рассматривать как проявление адаптационного механизма, направленного на стабилизацию процессов ПОЛ. При развитии ишемии миокарда на фоне активации процессов ПОЛ происходит инверсия корреляционной связи между накоплением вторичных продуктов ПОЛ и активностью антиоксидантных ферментов [5].

В нашем исследовании в контрольной группе че-

рез 6 часов после операции отмечается угнетение активности антиоксидантных ферментов, о чем свидетельствует снижение показателей СОД и ГП ($p > 0,05$), и достоверное увеличение содержания МДА ($p < 0,05$). После снижения СОД к 6 часам после операции отмечено некоторое повышение значения СОД к концу первых суток после операции ($p > 0,05$) как проявление процессов, направленных на уменьшение ПОЛ, однако не произошло достоверного снижения МДА, показатель которого через 24 часа после операции являлся выше предполагаемых значений у здоровых лиц и был достоверно увеличен по сравнению со значением МДА до коронарного шунтирования ($p < 0,05$). К концу первых суток после операции также не происходит увеличения активности ГП.

В проводимых ранее работах было выявлено, что триметазидин, не взаимодействуя непосредственно со свободными радикалами, способен ослаблять негативное действие интенсификации свободнорадикального окисления за счет опосредованного повышения активности естественных защитных систем организма — антиоксидантных ферментов [7]. Непрямой антиоксидантный эффект триметазидина связывали с особенностями структурной формулы триметазидина, молекула которого не содержит свободных гидроксильных групп в фенольном кольце, в связи с чем не происходит образование феноксильных радикалов, которые ингибируют дальнейшую цепочку свободно-радикального окисления.

Нами было выявлено, что при добавлении триметазидина к базовой терапии стенокардии напряжения за 3 недели до проведения коронарного шунтирования, увеличение содержания МДА к 6 часам после операции сопровождалось одновременным достоверным повышением СОД, по сравнению с исходным значением и с соответствующим показателем в контрольной группе, а также ГП, что впоследствии привело к достоверному снижению уровня вторичного продукта ПОЛ — МДА — к концу первых суток после операции, показатель которого был достоверно ниже соответствующего значения в контрольной группе. Показатели СОД и ГП к 24 часам также возвращались к исходному уровню. Полученные результаты свидетельствуют об уменьшении процессов липопероксидации к концу первых суток после операции на фоне значительной активации защитных антиоксидантных ферментов к 6 часам после проведения коронарного шунтирования на фоне применения триметазидина в предоперационном периоде. Выявленная динамика антиоксидантных ферментов сходна с закономерностями, наблюдающимися у здоровых лиц, и является защитным адаптивным механизмом, направленным на стабилизацию процессов ПОЛ.

Согласно проведенным ранее исследованиям, глутатионпероксидаза является одним из наиболее

эффективных антиоксидантов, участвующих в процессах снижения активности процессов липопероксидации [7]. «Классическая» глутатионпероксидаза является резистентной к ингибирующему действию свободных жирных кислот. Поэтому ГП включается в процесс регуляции процессов липопероксидации именно в условиях ишемии, когда активность других ферментов третьей линии защиты подавляется вследствие накопления свободных жирных кислот [6]. У больных стенокардией повышено содержание липопероксидов в крови, тогда как активность утилизирующего липопероксиды фермента — ГП — у них, напротив, снижена по сравнению со здоровыми людьми. Причем у больных нестабильной стенокардией увеличение содержания липопероксидов и снижение активности ГП были выражены в большей степени, чем у больных со стабильной стенокардией [4, 6].

В нашем исследовании в группе пациентов, получающих в предоперационном периоде коронарного шунтирования милдронат на фоне базовой терапии, в первые сутки послеоперационного периода наблюдалась динамика уровня ГП, отличающаяся от таковой в контрольной группе и у пациентов, получающих в предоперационном периоде триметазидин. Так, в группе милдроната показатель ГП увеличился с высокой степенью достоверности, по сравнению с исходным значением, к 6 часам ($p < 0,01$) и 24 часам ($p < 0,001$) после операции, значение которого к концу первых суток было достоверно выше соответствующего показателя в группе контроля ($p < 0,05$). Изменение показателя СОД в группе милдроната сходно с динамикой СОД в группе пациентов, получающих триметазидин, и противоположно изменению в группе контроля: значение СОД в данной группе достоверно увеличилось к 6 часам ($p < 0,05$) с последующим снижением до уровня, близкому к исходному. Выражен-

ная активация антиоксидантных ферментов — СОД к 6 часам после коронарного шунтирования и, в большей степени, ГП на протяжении первых суток послеоперационного периода, способствовала снижению уровня МДА в крови пациентов, получающих в предоперационном периоде милдронат, к 6 и 24 часам после операции, по сравнению с исходными значениями.

Таким образом, в первые сутки после проведения коронарного шунтирования у пациентов отмечается активация свободно-радикальных процессов и угнетение защитных антиоксидантных систем в крови. В нашем исследовании показано антиоксидантное действие милдроната и триметазидина в условиях ишемии и реперфузии во время проведения коронарного шунтирования при применении препаратов в предоперационном периоде. Механизм антиоксидантного действия связан с активацией защитных антиоксидантных ферментов СОД и ГП, наиболее выраженной у пациентов, получающих милдронат.

Выводы

1. Применение кардиопротекторов милдроната и триметазидина в предоперационном периоде коронарного шунтирования с использованием искусственного кровообращения способствует снижению содержания продуктов свободно-радикального окисления в крови пациентов в первые сутки после операции.
2. Снижение продуктов ПОЛ в послеоперационном периоде у пациентов, получающих милдронат и триметазидин, связано с активацией защитных антиоксидантных ферментов СОД и ГП.
3. При применении милдроната в предоперационном периоде коронарного шунтирования отмечается более выраженная активация антиоксидантных ферментов, преимущественно за счет увеличения активности ГП и угнетения процессов ПОЛ.

Литература

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело, 1998, №11, с.41-43
2. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов // М.: Медицина, 1989, с.127-241
3. Воскресенский О.Н. Свободно-радикальное окисление, антиоксиданты и атеросклероз // Кардиология. — 1981. — №6. — С.118-122
4. Закирова А.Н. Клинико-диагностическое значение показателей перекисного окисления липидов при ишемической болезни сердца: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1981; 20
5. Кубатиев А.А., Андреев С.В. Перекиси липидов и тромбоз // Бюлл. экспериментальной биологии. — 1979. — №5. — С.414-418
6. Ланкин В.З., Тихадзе А.К., Беленков Ю.Н. Свободно-радикальные процессы в норме и при заболеваниях сердечно-сосудистой системы // Кардиология. 2000; 7; 48-61
7. Ланкин В.З., Тихадзе А.К., Жарова Е.А. и др. Исследование антиоксидантных свойств цитопротекторного препарата триметазидина // Кардиология. — 2001. — т.41. - №3. — С.21-28
8. Шатилина Л.В., Быкова Н.О., Борисенко Л.В. и др. Состояние мембран и особенности перекисного окисления липидов тромбоцитов у больных нестабильной стенокардией // Кардиология. — 1989. — т.29. - №2. — С.45-49
9. Beachamp C., Fridovich J. Superoxide Dismutase: Improved assays and assay applicable to acylamide // Annal Biochem. 1971; 44:276-287
10. Hess M.L., Manson N.H., Okabe E. Involvement of free radical in the pathophysiology of ischemic heart disease // Can. J. Physiol. — 1982. — Vol.60, № 11. — P. 1382-1389
11. Paglia D.E., Valentine W.N. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase // J. Lab. Clin. Med 70, 1:158-169, 1967
12. Torok B. Myocardial damages scavenged by antioxidant therapy in experimental heart infarct // Cardiovascular. pharmacology'87. — Budapest, 1987. — P. 357-369
13. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor on tissues by thiobarbituric acid test-analyt // Biochem 1978; 86; 1:271-278

Abstract

On-pump coronary bypass surgery was performed in 58 stable angina patients aged 43-72. Group I (n=19) received standard coronary heart disease (CHD) treatment, together with mildronate: before the surgery, 750 mg/d for 3 days, then 750 mg/d twice a week. Group II (n=19) received standard therapy, plus trimethazidine (Preductal MB), 70 mg/d. Group III (n=20) did not receive any metabolic medications. Dynamics of lipid peroxidation and protective antioxidant systems status was assessed during first 24 hours after surgery. Blood samples were collected before the intervention, 6 and 24 hours later. Cardioprotectors mildronate and trimethazidin, administered before surgery, decreased blood levels of lipid peroxidation products, due to activation of protective antioxidant enzymes – superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GP).

Keywords: Antioxidant systems, lipid peroxidation, state after coronary bypass surgery, cardioprotectors.

Поступила 28/12-2004

ЭЛЕКТРОННЫЙ СПРАВОЧНИК ДЛЯ ВРАЧЕЙ «MEDI.RU – ПОДРОБНО О ЛЕКАРСТВАХ»

- Досье по фармацевтическим препаратам для профессионалов здравоохранения – подробные иллюстрированные описания, подборки статей, монографии о препаратах
- Избранные полнотекстовые статьи из 40 медицинских журналов.
- Доклады на конференциях, конгрессах и симпозиумах.
- Монографии ведущих специалистов – полный текст в электронном виде.
- Описания новинок медицинской техники и оборудования

Справочник MEDI.RU распространяется среди врачей бесплатно и свободно!

Справочник MEDI.RU можно получить:

- в сети Интернет (www.medi.ru)
- заказав бесплатный компакт-диск MEDI.RU CD
- переписав MEDI.RU на жесткий диск компьютера с компакт-диска, который есть у Ваших коллег, или скачав сжатый архив из Интернет

Чтобы бесплатно получить MEDI.RU CD, направьте нам запрос

по электронной почте cd@medi.ru

по почте 121248, Москва, Кутузовский просп. д. 14А, MEDI.RU

по телефону / факсу (478) 303-3400 (из Москвы – бесплатно)

Чтобы выслать Вам бесплатный MEDI.RU CD, мы должны знать:

Фамилию ИО, специальность, место работы, должность, точный почтовый адрес для высылки CD, телефон, e-mail (если есть)

Запрос может содержать список лиц _____

Вам будет предоставлено соответствующее количество MEDI.RU CD.