

ВЛИЯНИЕ ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Т.Н. Хайбуллин¹, Е.Ю. Кравцова^{2*}, Г.А. Мартынова²

¹ Государственный медицинский университет города Семей

071400, Восточно-Казахстанская область республики Казахстан, г. Семей, ул. Абая Кунанбаева, д. 103

² Пермская государственная медицинская академия им. академика Е.А. Вагнера

614000, Пермь, ул. Петропавловская, д. 26

Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на окислительную модификацию белков сыворотки крови у больных ишемическим инсультом

Т.Н. Хайбуллин¹, Е.Ю. Кравцова^{2*}, Г.А. Мартынова²

¹ Государственный медицинский университет города Семей. 071400, Восточно-Казахстанская область республики Казахстан, г. Семей, ул. Абая Кунанбаева, д. 103

² Пермская государственная медицинская академия им. академика Е.А. Вагнера. 614000, Пермь, ул. Петропавловская, д. 26

Цель. Изучить влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) на окислительную модификацию белков (ОМБ) сыворотки крови в остром периоде ишемического инсульта (ИИ).

Материал и методы. В исследование включено 80 пациентов с ИИ и 20 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту (контрольная группа). Пациенты с ИИ разделены на 2 группы: больные 1 группы (n=39) получали, помимо стандартного лечения, ЭМГПС, а пациенты 2 группы (n=41) — только стандартную терапию. ОМБ изучена по показателям оптической плотности динитрофенилгидразонов на длинах волн 356, 370, 430, 530 нм в динамике на 1, 3 и 15 сутки заболевания у пациентов обеих групп и в контроле.

Результаты. По сравнению с контролем выявлены значимые нарушения оксидантной системы при ИИ в диапазоне альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов. Наиболее высокая ОМБ была отмечена у больных с атеротромботическим ИИ: показатели оптической плотности нейтральных и основных альдегидо- и кетонпроизводных в белках сыворотки крови у них были максимальными на всех длинах волн. Затем по степени изменений следовали больные с кардиоэмболическим и гемодинамическим ИИ, и, наконец, больные лакунарным ИИ.

На 3 сутки у всех пациентов с ИИ наблюдалась тенденция к росту показателей ОМБ, максимально выраженная у пациентов с атеротромботическим ИИ.

На 15 сутки лечения выявлена положительная динамика ОМБ у всех больных 1 подгруппы (p<0,05), а у пациентов с лакунарным ИИ показатели оптической плотности на длине волны 530 нм были сравнимы с таковыми в контрольной группе (0,18±0,01 и 0,2±0,03, соответственно; p>0,05).

Заключение. Включение ЭМГПС в схему лечения пациентов с ИИ оказывает положительное влияние на динамику показателей ОМБ.

Ключевые слова: инсульт, окислительная модификация белков, этилметилгидроксипиридина сукцинат.

РФК 2012;8(3):420-423

Effect of the ethylmethylhydroxypyridine succinate on the oxidative modification of serum proteins in patients with ischemic stroke

T.N. Khaybullin¹, E.Yu. Kravtsova^{2*}, G.A. Martynova²

¹ Semey State Medical University. Abai Kunanbaev ul. 103, Semipalatinsk, 071400 Kazakhstan

² Perm State Medical Academy named after academician E.A. Vagner. Petrovskaya ul. 26, Perm, 614000 Russia

Aim. To study the effect of ethylmethylhydroxypyridine succinate (EMHPS) on the protein oxidative modification (POM) in patients with acute ischemic stroke. (IS)

Material and methods. Patients with IS (n=80) and 20 healthy subjects matched for age and sex (control group) were included in the study. IS patients were split into 2 groups: group 1 (n=39) received EMHPS in addition to standard treatment, and group 2 (n=41) - the standard therapy only. POM was studied by optical density of dinitrophenylhydrazones in wave lengths of 356, 370, 430, 530 nm in 1, 3 and 15 days after IS in patients of the both groups and in control.

Results. Significant disorders of the antioxidant system were determined in patients with IS in the range of aldehyde and ketone derivatives of dinitrophenylhydrazones in comparison with patients of control group.

The highest POM level was observed in patients with atherothrombotic IS: optical density indexes of neutral and alkaline aldehyde and ketone derivatives in blood serum proteins were maximal in all wave lengths. Next in order of POM levels decreasing followed patients with cardioembolic and haemodynamic IS and lastly patients with lacunar IS.

POM increasing tendency was observed after 3 days in all patients with IS, especially in patients with atherothrombotic IS. A positive POM trend was found in all patients of the group 1 (p<0.05) in 15 days after disease onset. Patients with lacunar IS demonstrated optical density indexes in 530 nm wave length even comparable to those in the control group (0.18±0.01 and 0.2±0.03, respectively; p>0.05).

Conclusion. EMHPS inclusion in the treatment of IS patients has a positive effect on the POM changes.

Key words: stroke, protein oxidative modification, ethylmethylhydroxypyridine succinate.

Rational Pharmacother. Card. 2012;8(3):420-423

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): kravtsovaeu@mail.ru

В остром периоде ишемического инсульта (ИИ) выявляются признаки «истощения» антиоксидантной системы, в первые трое суток заболевания приводящее к ее напряжению вне зависимости от тяжести состояния

с последующим снижением уровней токоферола, каталазы, супероксиддисмутазы. При этом тяжесть инсульта находится в прямой зависимости от выраженности этих изменений [1,2].

Естественные и синтезированные антиоксиданты подразделяются на жирорастворимые и водорастворимые. Среди первых наиболее известен альфа-токоферол, который взаимодействует с гидроксильным радикалом ОН, оказывая подавляющее влияние на синглетный кислород. Среди водорастворимых антиоксидантов выделяют глутатион, играющий ключевую роль в защите клеток от реакционно-способных интермедиаторов кислорода. Препараты со свойствами антиоксидантов

Сведения об авторах:

Хайбуллин Талгат Нурмуханович — д.м.н., заведующий кафедрой неврологии, психиатрии и наркологии Государственного медицинского университета города Семей, республика Казахстан

Кравцова Елена Юрьевна — д.м.н., профессор кафедры неврологии ФПК и ППС с курсом нейрореабилитологии ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера

Мартынова Галина Александровна — клинический ординатор той же кафедры

(аскорбиновая кислота, витамин Е, каротин, убихинон, эмоксипин, олифен, реамберин, цитофлавин) сегодня применяются в клинической, в том числе и неврологической практике. Большинство из указанных соединений применяются давно, но обладают недостаточно выраженным антиоксидантным действием, которое требует дальнейшего изучения применительно к urgentным ситуациям. Исключение составляет отечественный антиоксидант/антигипоксикс — этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС), синтезированный в институте биохимической физики РАН, изученный в НИИ фармакологии РАМН и ВНЦ по безопасности биологически активных веществ [3].

Цель исследования — изучить динамику окислительной модификации белков при лечении пациентов в остром периоде разных подтипов ИИ с включением в схему терапии ЭМГПС.

Материал и методы исследования.

В клиническое нерандомизированное исследование с параллельным дизайном включено 80 пациентов (38 женщин, 42 мужчины) с ИИ, составивших основную группу, и 20 здоровых испытуемых, составивших контрольную группу.

Все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом.

Критерии включения в исследование: возраст для женщин — от 35 до 55 лет, для мужчин — от 35 до 60 лет; острый период ишемического инсульта; состояние средней тяжести; способность выполнять локомоторные и психологические тесты.

Критерии исключения: возраст старше 55 лет для женщин, 60 лет для мужчин; сопутствующие неврологические заболевания (опухоль, черепно-мозговая травма, эпилепсия); тяжелое состояние пациента; грубые интеллектуально-мнестические и речевые расстройства.

Основную группу составили 80 пациентов с разными подтипами ИИ: 31 — с атеротромботическим инсультом (АТИ), 21 — с кардиоэмболическим инсультом (КЭИ), 14 — с гемодинамическим инсультом (ГДИ) и 14 — с лакунарным инсультом (ЛКИ).

Контрольную группу составили 20 здоровых испытуемых, сопоставимых по полу и возрасту: 10 мужчин и 10 женщин в возрасте 45-60 лет.

Всем пациентам исследована окислительная модификация белков (ОМБ) сыворотки крови по методике Е.Е. Дубининой (1995) [4] в динамике (на первые, третьи и пятнадцатые сутки острого периода заболевания).

Показатели оптической плотности динитрофенилгидразонов выражались в длинах волн 356, 370, 430, 530 нм (I, II, III, IV волны, соответственно). Основное количество образовавшихся динитрофенилгидразонов от-

носится к альдегидам и кетонпроизводным нейтрального характера (I и II волны). Алифатические альдегидо- и кетонпроизводные динитрофенилгидразонов основного характера были преимущественно представлены III, IV волнами.

Разница в показателях между группами зависит от степени окислительного состояния. Определение степени оптической плотности нейтральных и основных альдегидо- и кетонпроизводных в белках сыворотки крови позволяет оценить интенсивность окислительной деструкции в норме и в состоянии окислительного стресса. Для оценки влияния ЭМГПС на ОМБ выделены две подгруппы больных с ишемическим инсультом. Первая включала 39 пациентов (15 — с АТИ, 10 — с КЭИ, 7 — с ГДИ и 7 — с ЛКИ), принимавших наряду с традиционным лечением этилметилгидроксипиридина сукцинат (Мексидол; Фармасофт, Россия), а вторая — 41 пациента (16 — с АТИ, 11 — с КЭИ, 7 — с ГДИ и 7 — с ЛКИ), получавших только традиционное лечение.

Стационарное лечение проводили в соответствии с медицинским стандартом [5]. Терапия ишемического инсульта включала глицин, винпоцетин, ацетилсалициловую кислоту, пентоксифиллин, варфарин, тиоктовую кислоту, а также — по показаниям — антигипертензивные и антиаритмические средства. Этилметилгидроксипиридина сукцинат назначался в дозе 4 мл 5% раствора (200мг) внутривенно капельно один раз в сутки со 2-го по 14-й день лечения. Оценка антиоксидантных свойств ЭМГПС в комплексном лечении острого периода ишемического инсульта основывалась на изучении объективной динамики показателей ОМБ.

Проведен сравнительный анализ показателей ОМБ в динамике при разных подтипах ИИ по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы и между собой, а также у больных ИИ одного подтипа 1 и 2 подгрупп.

Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью программ Microsoft Excel 2000. Данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения. При сравнении параметров двух различных групп применялся критерий Стьюдента (t) с учетом поправки Бонферрони. Различие считалось достоверным при коэффициенте 5% ($p < 0,05$).

Результаты

Проведенный анализ позволил выявить продукты окислительной деструкции белков в сыворотке крови испытуемых контрольной группы и пациентов с разными подтипами ИИ в динамике, образовавшиеся в результате воздействия на белковые производные 2,4-динитрофенилгидрозиона.

В первые сутки развития ИИ показатели ОМБ плазмы крови пациентов в обеих группах при КЭИ, АТИ, ГДИ находились в диапазоне I, III, IV волн, при ЛКИ — III и

IV волн и достоверно превышали аналогичные показатели ОМБ здоровых испытуемых контрольной группы (табл. 1). У пяти практически здоровых испытуемых контрольной группы кетондинитрофенилпроизводные основного характера не обнаруживались.

Наиболее высокие показатели ОМБ были отмечены у пациентов обеих групп при АТИ в диапазоне всех волн. Показатели у больных с АТИ в диапазоне III и IV ($p<0,05$) и у больных с КЭИ и ГДИ в диапазоне IV волн превышали показатели у больных с ЛКИ ($p<0,05$), у которых они также были изменены. Уровень алифатических альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов основного характера был значительно ниже (III, IV волны) и у испытуемых контрольной группы, что при отличии показателей от контрольных позволяет говорить об их возможной диагностической ценности. До начала лечения статистически значимых отличий в ОМБ не было у пациентов 1 и 2 подгрупп.

Показатели ОМБ у больных с разными типами ИИ на третьи сутки лечения представлены в табл. 2. У пациентов обеих подгрупп при всех вариантах ИИ наблюдалась тенденция к росту показателей ОМБ с сохранением отмеченной выше закономерности в виде преобладания показателей у больных АТИ. По-прежнему, самые высокие показатели ОМБ были отмечены у пациентов обеих подгрупп при АТИ в диапазоне всех волн, что превышало аналогичные показатели при ЛКИ. Последние в диапазоне I и II волн значимо не отличались от показателей контрольной группы, в то время как в диапазоне III и IV волн имелись значимые раз-

личия ($p<0,05$). Показали ОМБ у пациентов с КЭИ и ГДИ в диапазоне III и IV волн были выше таковых контрольной группы и ниже, чем у пациентов с АТИ ($p<0,05$). На третьи сутки острого периода инсульта у больных двух подгрупп (все варианты ИИ) значимых изменений между показателями ОМБ во всех диапазонах волн по сравнению с исходными значениями не выявлено.

На 15 сутки острого периода (табл. 3) заболевания выявлена положительная динамика со снижением значений ОМБ у всех больных 1 подгруппы с различными подтипами ишемического инсульта ($p<0,05$), даже при отсутствии полной нормализации показателей в диапазоне III, IV волн (за исключением наблюдений с ЛКИ). Так, в 1 подгруппе больных значения ОМБ отличались ($p<0,05$) от контрольных при АТИ, КЭИ и ГДИ в диапазонах III и IV волн. Вместе с тем у пациентов 1 подгруппы показатели ОМБ были ниже ($p<0,05$) идентичных показателей больных 2 подгруппы при АТИ, КЭИ и ГДИ в диапазоне IV волны. Только у больных с ЛКИ 1 подгруппы в диапазоне всех волн показатели полностью нормализовались. Нормализация показателей ОМБ у больных 2 подгруппы с КЭИ, АТИ, ГДИ в диапазонах всех волн, а при ЛКИ – III и IV волн – не выявлена. Наиболее выраженными оставались изменения у пациентов с АТИ обеих подгрупп. Следует отметить, что, несмотря на положительную динамику ОМБ у больных 1 подгруппы, наиболее стойкие изменения выявлены в диапазонах III и IV волн при КЭИ и АТИ, в диапазоне IV волны при ГДИ ($p<0,05$).

Таблица 1. Показатели оптических плотностей нейтральных и основных альдегидо- и кетонпроизводных в белках сыворотки крови при разных вариантах ишемического инсульта на первые сутки заболевания

Длина волны	Подгруппы КЭИ		Подгруппы АТИ		Подгруппы ГДИ		Подгруппы ЛКИ		Контрольная группа (n=20)
	1 (n=10)	2 (n=11)	1 (n=15)	2 (n=16)	1 (n=7)	2 (n=7)	1 (n=7)	2 (n=7)	
I (356нм)	33,8±5,5*	32,9±2,9*	43,2±5,1**†	42,8±4,9**†	34,7±2,8*	33,8±2,6*	26,3±2,5	26,7±2,5	25,2±2,1
II (370нм)	28,6±5,3	28,3±2,4	36,5±4,2*	34,3±3,3*	30,9±2,3	29,6±2,5	25,6±3,2	25,0±2,1	24,3±3,9
III (430нм)	7,4±2,2*	9,1±3,6*	10,2±3,1**†	8,1±2,5**†	6,8±1,7*	7,9±1,8*	6,7±2,1*	6,6±2,2*	3,2±0,8
IV (530нм)	2,3±0,2*†	2,4±0,3*†	3,1±0,8**†	2,9±0,5**†	2,6±0,5*†	2,3±0,3*†	1,0±0,3*	1,5±0,3*	0,2±0,03

* $p<0,05$; ** $p<0,01$ – по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы; † $p<0,05$ по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с ЛКИ

Таблица 2. Показатели оптических плотностей нейтральных и основных альдегидо- и кетонпроизводных в белках сыворотки крови при разных подтипах ишемического инсульта на третьи сутки терапии

Длина волны	Подгруппы КЭИ		Подгруппы АТИ		Подгруппы ГДИ		Подгруппы ЛКИ		Контрольная группа (n=20)
	1 (n=10)	2 (n=11)	1 (n=15)	2 (n=16)	1 (n=7)	2 (n=7)	1 (n=7)	2 (n=7)	
I (356нм)	36,2±5,49*	38,2±3,8*	47,3±6,7**	45,8±5,9**	37,2±5,4*	36,5±5,4*	28,2±3,4†	28,22,1†	25,2±2,1
II (370нм)	30,1±4,1	29,6±3,4	40,2±4,6**	38,8±4,4*	34,6±3,8	35,2±3,8	26,8±3,6†	27,1±2,8†	24,3±3,9
III (430нм)	8,7±1,2*†	7,6±1,9*†	12,8±1,9**	12,5±1,1*	7,2±1,8*†	8,1±1,2*†	7,1±1,1*†	6,3±1,2*†	3,2±0,8
IV (530нм)	2,3±0,3*†	2,4±0,2*†	4,2±0,8**	4,1±0,0**	2,1±0,3*†	2,1±0,1†	2,5±0,3*†	1,8±0,2*†	0,2±0,03

* $p<0,05$; ** $p<0,01$ – по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы; † $p<0,05$ по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с АТИ

Таблица 3. Показатели оптических плотностей нейтральных и основных альдегидо- и кетонпроизводных в белках сыворотки крови при разных подтипах ишемического инсульта на пятнадцатые сутки терапии

Длина волны	Подгруппы КЭИ		Подгруппы АТИ		Подгруппы ГДИ		Подгруппы ЛКИ		Контрольная группа (n=20)
	1 (n=10)	2 (n=11)	1 (n=15)	2 (n=16)	1 (n=7)	2 (n=7)	1 (n=7)	2 (n=7)	
I (356нм)	24,7±2,3 ‡°	37,2±2,9*	30,5±2,4‡°	41,6±5,2*	25,8±2,3‡°	37,1±2,5*	26,1±2,3	27,7±2,8	25,2±2,1
II (370нм)	25,9±3,6	27,3±2,8	27,6±2,9°	36,1±3,6*	26,3±2,8°	34,9±3,4*	24,8±2,3	25,6±2,4	24,3±2,9
III (430нм)	6,1±2,1*°	7,3±2,8**	7,1±2,1***°	6,7±2,1*°	4,6±2,4‡°	4,7±1,0*‡°	3,01±1,1‡°	5,8±1,3*	3,2±0,4
IV (530нм)	0,8±0,01*‡°	1,9±0,1***	1,8±0,3***°	2,9±0,3***°	0,5±0,03*‡°	0,96±0,01***°	0,18±0,01‡°	0,5±0,01*‡°	0,2±0,03

* p<0,05; ** p<0,01 — по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы; ‡ p<0,05 — по сравнению с аналогичным показателем у пациентов II группы; † p<0,05 по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с АТИ; ° p<0,05; °° p<0,01 — по сравнению с аналогичным показателем на третьи сутки (табл. 2).

Обсуждение

Несмотря на широкое изучение перекисного окисления липидов в процессе окислительного стресса и его роли в патогенезе ишемического каскада, нами впервые изучена динамика окислительной модификации белков у пациентов трудоспособного возраста в остром периоде разных патогенетических подтипов ишемического инсульта в процессе комплексного лечения. Большая вариабельность и сохранение изменений в диапазоне III и IV волн при всех вариантах ИИ свидетельствует о высокой ценности данных показателей. Полученные нами результаты свидетельствуют о значительном нарушении оксидантной системы при КЭИ, АТИ, ГДИ в диапазоне альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов основного характера и обосновывают продолжение (более 15 дней) и интенсификацию антиоксидантной терапии, а также необходимость разработки новых методов лечения. Этилметилгидроксипиридина сукцинат может быть препаратом выбора для купирования выявленных нами изменений.

Учитывая длительный период циркуляции белков в плазме крови и возможность развития ишемического инсульта на фоне уже существующего дисбаланса анти- и прооксидантной систем организма, наиболее выраженного при АТИ, целесообразно рекомендовать

их определение у всех лиц трудоспособного возраста, имеющих факторы риска развития ИИ, для своевременной адекватной целенаправленной медикаментозной коррекции, в том числе с применением этилметилгидроксипиридина сукцината.

Заключение.

Таким образом, в остром периоде КЭИ, АТИ и ГДИ значимо повышаются показатели ОМБ в диапазоне I, III, IV волн. При ЛКИ сдвиг показателей отмечен только в режиме III и IV волн. Терапия с включением этилметилгидроксипиридина сукцината (Мексидол) способствовала нормализации содержания нейтральных альдегидо- и кетонпроизводных динитрофенилгидразонов нейтральных белков плазмы крови уже к 15 дню заболевания при всех подтипах ишемического инсульта, а при ЛКИ — в режиме всех волн. Улучшение показателей окислительной модификации белков наиболее замедленно при АТИ, что объясняется значительным нарушением оксидантной системы и, вероятно, требует более продолжительной терапии.

Конфликт интересов. Авторы не сообщили об отсутствии потенциального конфликта интересов по данной статье.

Литература

- Dumaev K.M., Voronina T.A., Smirnov L.D. Antioxidants in the prevention and treatment of CNS pathology. Moscow: Institute of Biomedical Chemistry; 1995. Russian (Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологии ЦНС. М.: Институт биомедицинской химии РАН; 1995).
- Gusev E.I., Skvortsova V.I. Cerebral ischemia. M.: Meditsina; 2001. Russian (Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина; 2001).
- Voronina T.A. The main effects, mechanisms of action, the use of mexidol. Moscow: Institute of Pharmacology RAMS; 2003. Russian (Воронина Т.А. Основные эффекты, механизмы действия, применение мексидола. М.: НИИ фармакологии РАН; 2003).
- Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A., Porotov G.E. Oxidative modification of proteins of human serum, the method of its determination. Voprosy meditsinskoy khimii 1995;41 (1): 24–26. Russian (Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения. Вопросы медицинской химии 1995;41 (1): 24–26).
- Health Ministry of Russia Order № 513 of August 1, 2007 Approval of the standard of care for patients with stroke (in the provision of specialized care). Available at: http://www.minzdravsoc.ru/docs/mzsr/orders/78/Pril_513.zip. Date of access: 02/04/2012. Russian (Приказ Минздравсоцразвития России №513 от 1 августа 2007 г. Об утверждении стандарта медицинской помощи больным с инсультом (при оказании специализированной помощи). Доступно на: http://www.minzdravsoc.ru/docs/mzsr/orders/78/Pril_513.zip. Дата доступа: 02.04.2012).

Поступила: 27.12.2011
Принята в печать: 12.01.2012