

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА С ДИСФУНКЦИЕЙ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА ДО И ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ АОРТО-КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Бокерия Л.А., Маликов В.Е., Арзуманян М.А., Гучуа Э.И.,* Владыцкая О.В., Тедеев А.И.*, Сукоян Г.В.*

НЦ Сердечно-сосудистой хирургии им А.Н.Бакулева РАМН, Москва, *Республиканский научно-исследовательский центр медицинской биофизики и внедрения новых биомедицинских технологий, Тбилиси

Резюме

В исследование включено 74 больных ИБС, средний возраст — $52,4 \pm 4,5$ лет, стабильной стенокардией напряжения и покоя, артериальной гипертензией II стадии у 56% больных, мультифакальным атеросклерозом в 61% случаев. Показано, что у больных ИБС без существенного снижения сократительной функции левого желудочка с фракцией выброса (ФВ) более 45% активность ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) — супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионпероксидазы — повышается на 87,5, 25 и 34%, соответственно. У больных с $ФВ \geq 35\%$, наблюдается дополнительное увеличение активности СОД и глутатионпероксидазы на 198 и 33%, соответственно, и некоторое снижение активности каталазы. В группе больных с ФВ менее 35% отмечается псевдонормализация активности СОД и снижение активности как каталазы, так и глутатионпероксидазы, т.е. происходит переход в состояние истощения резервных возможностей системы АОЗ (начальная, обратимая, стадия). При этом снижение содержания α -токоферола наблюдается лишь в группе с ФВ менее 35%. У больных с выраженной дисфункцией левого желудочка (ФВ менее 28%) активность СОД уменьшается на 67%, каталазы — на 90% и глутатионпероксидазы — на 74%. Полученные результаты позволяют предположить, что истощение резервных возможностей системы АОЗ у больных со значительно сниженной сократительной функцией левого желудочка является одним из важнейших факторов повышенного риска осложнений, большей выраженности реперфузионного (окислительного) и операционного стресса.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, сократительная функция, система антиоксидантной защиты, перекисное окисление липидов.

Данные эпидемиологических и клинических исследований последних 15 лет подтвердили гипотезу о том, что увеличение оксидативного стресса является важнейшим патогенетическим механизмом целого ряда сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся снижением сократительной функции левого желудочка. Прогрессирование оксидативного стресса с последующим высвобождением активных форм кислорода (АФК) и срыв адаптивных возможностей системы антиоксидантной защиты (АОЗ) играет ведущую роль в патогенезе ИБС, атеросклероза [19-20], артериальной гипертензии [9], гиперхолестеролемии [16, 17]. Увеличение концентрации веществ, свидетельствующих о прогрессировании оксидативного стресса, найдено в плазме, миокарде, перикардиальной жидкости у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) и взаимосвязано с гемодинамическими нарушениями, ассоциированными с развитием ХСН [7, 8, 12].

К образованию АФК ведут многие метаболические пути, но основным их источником является дыхательная цепь митохондрий, цепь переноса электро-

нов к кислороду, в которой в нормальных условиях с участием кислорода происходит синтез АТФ [6, 11]. И, поскольку скорость утилизации кислорода в сердечной мышце очень высока, миокард наиболее чувствителен к поражению АФК. Более того, высокотоксичные формы АФК образуются при взаимодействии супероксидного аниона ($O_2^{\cdot -}$) с оксидом азота, которые сами по себе играют важную роль в окислении липопротеидов низкой плотности и активации макрофагов [15, 17]. Принципиально важным источником $O_2^{\cdot -}$ как в клетках гладкой мускулатуры, так и в эндотелиальной клетке, при артериальной гипертензии является НАДН/НАДРН-оксидазная система [12, 15]. В нормальном миокарде постоянно образующиеся АФК утилизируются ферментами системы АОЗ или улавливаются «ловушками» свободных радикалов (элементами неферментативного звена АОЗ), тогда как в условиях ишемии и реперфузии снижение активности митохондриальной супероксиддисмутазы (СОД), содержания тиоловых групп и соотношения восстановленной и окисленной форм глутатиона ведет к гиперпродукции АФК [18]. Существенное снижение тканевого глутатиона, связанное

с длительностью ишемии при реперфузии, наблюдается и у больных после АКШ [17].

Предполагается, что истощение резервных возможностей системы АОЗ миокарда при ишемически-реперфузионных повреждениях обусловлено неспособностью клеток справляться с выбросом свободных радикалов при реперфузии [8, 12, 18]. Несмотря на то, что, отмечаемое рядом авторов, повышение активности СОД и каталазы в ответ на прогрессирование ишемически-реперфузионных повреждений является компенсаторной реакцией, включение СОД и каталазы в кардиоплегический раствор не предотвращает потерю высокоэнергетических фосфатов и глутатиона и не ведет к снижению индекса липидной пероксидации [8]. Оказалось, что в продолжение 1-4 недель после лигирования коронарной артерии в эксперименте, когда гипертрофия и компенсаторные механизмы направлены на поддержание перфузионного давления [9], в отсутствии выраженного снижения сократительной функции, содержание антиоксидантных ферментов и их активность повышается [12, 20]. Однако, при длительном лигировании коронарной артерии (16 недель), в стадии перехода к декомпенсированной ХСН, резкого возрастания конечно-диастолического и снижения конечно-систолического давления в левом желудочке, активность всех антиоксидантных ферментов, а также отношения восстановленного глутатиона к окисленному снижается. Это ведет к присоединению к патогенетическим механизмам ХСН оксидативного поражения, продукции токсических форм липидных пероксидов и прогрессированию снижения сократительной функции [12]. Установлена сильная взаимосвязь между активностью СОД, уровнем малонового диальдегида (МДА, маркера перекисного окисления липидов) и степенью снижения толерантности к нагрузке больных с дисфункцией левого желудочка [8, 12].

Таким образом, АФК оказывают свое поражающее действие через взаимодействие с липидами мембран, белков и нуклеиновых кислот, что ведет к нарушению их структуры и функции [7, 11, 12]. АФК окисляют сульфгидрильные группы белков и обрыв тяжей нуклеиновых кислот [18].

В настоящей работе была поставлена задача изучить взаимосвязь между нарушениями в системах АОЗ, а также перекисного окисления липидов с выраженностью снижения сократительной функции левого желудочка у больных хроническими формами ишемической болезни сердца, перенесших операцию АКШ и/или АКШ в сочетании с реконструкцией левого желудочка.

Материал и методы

В исследование включено 74 больных ИБС в возрасте от 35 до 65 лет (средний возраст — $52,4 \pm 4,5$ лет), (средняя продолжительность заболевания — $5,1 \pm 1,7$

лет). Все больные относились к III-IV функциональному классу (ФК) стенокардии по Канадской классификации кардиологов. Все больные перенесли острый крупноочаговый инфаркт миокарда, в том числе, 55,6 % больных — дважды, 29,4% — трижды. Артериальная гипертензия II стадии наблюдалась у 56% больных, мультифокальный атеросклероз — в 61% случаев, хронический гастрит и язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки — в 32%, хронический бронхит и сахарный диабет — в 27% случаев. Клиника недостаточности кровообращения имела у всех больных, при этом у 11 диагностирована фракция выброса (ФВ) более 45%, у 34 — менее 45, но более 35%, у 21 — менее 35 и у 8 — менее 28%. При анализе факторов риска выявлено, что 75% пациентов — курящие, 23% имели отягощенный анамнез по сердечно-сосудистым заболеваниям, у 55% — гиперхолестеринемия. В динамике наблюдения, по специально разработанному протоколу, больные проходили общеклиническое обследование, ЭКГ на аппарате «Sicard 460» (Германия) и эхокардиографическое со стресс-ЭхоКГ (на установке Sonos-2500 «Hewlett-Packard» (США) с использованием трансторакальных датчиков 3,5/2,7 МГц и S4) с добутамином после предварительной отмены за сутки до исследования антиангинальных препаратов и за двое суток — β -адреноблокаторов (приступы стенокардии в это время купировали нитроглицерином). Состояние коронарного русла оценивали по результатам селективной коронароангиографии по стандартной методике M.Judkins и вентрикулографии. Все больные получали лечение стандартной комбинацией β -адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), нитратов, антагонистов кальция и сердечных гликозидов, а также мочегонных препаратов. Все больные были осведомлены о проводимом исследовании и дали устное согласие на его проведение. В сроки от 3 до 10 дней после включения в исследование всем больным было выполнено аорто- и/или маммокоронарное шунтирование в сочетании с реконструкцией левого желудочка.

Группу практически здоровых добровольцев составили 12 человек в возрасте от 31 до 55 лет без клинических признаков ИБС и дисфункции левого желудочка. Исследование активности Cu, Zn²⁺, СОД (цитозольной формы) определяли по скорости восстановления нитросинего тетразолия в присутствии смеси ксантин/ксантиноксидаза при длине волны 560 нм [5]. Активность глутатионпероксидазы оценивали по уменьшению содержания в образце НАДФ • Н [2, 3], каталазы по методу Корольюк М. А. и соавт. [4]; уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) — по содержанию конечного продукта малонового диальдегида (МДА), определенного в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [11], а содержание α -

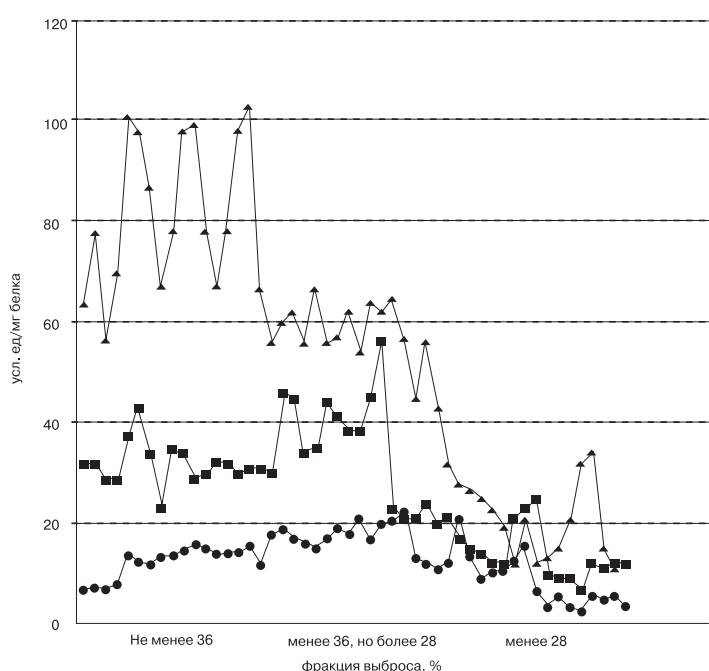


Рис. 1. Динамика изменения активности ключевых ферментов антиоксидантной защиты: каталазы (треугольник), глутатионпероксидазы (квадрат) и супероксидмутаза (кружок) при различной исходной общей фракции выброса левого желудочка у больных ИБС в период подготовки больных к операции аортокоронарного шунтирования в сочетании с реконструкцией левого желудочка; первая точка — уровень значений у практически здорового человека.

токоферола — как описано в работе [3]. Полученные данные обработаны статистически, с использованием критерия *t* Стьюдента. Расчеты проведены на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ "STAT Soft". Различия принимали как существенные при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

У больных хроническими формами ИБС без существенного снижения сократительной и насосной функции левого желудочка (ФВ левого желудочка не менее 45%) на фоне проводимого стандартного лечения активность ферментов антиоксидантной защиты СОД, каталазы и глутатионпероксидазы повышается на 87,5, 25 и 34%, соответственно, по сравнению со значениями у практически здоровых добровольцев (рис. 1). У больных с ФВ левого желудочка (35%-45%) наблюдается увеличение активности СОД и глутатионпероксидазы на 198 и 33%, соответственно, и некоторое снижение активности каталазы, однако активность каталазы остается выше нормальных значений на 21%. В группе больных с ФВ менее 35% отмечается псевдонормализация активности СОД, и снижение активности как каталазы, так и глутатионпероксидазы (рис. 1) — происходит переход к состоянию истощения резервных возможностей системы антиоксидантной защиты (начальная, обратимая,

стадия). Снижение содержания α -токоферола, одного из элементов неферментативного звена АОЗ, наблюдается лишь в группе с ФВ менее 35% — позже, чем в активности ключевых ферментах АОЗ (рис. 2А), и, по-видимому, может рассматриваться в качестве одного из маркеров перехода в трудно обратимую фазу снижения сократительной функции левого желудочка.

У больных с выраженной дисфункцией левого желудочка (ФВ менее 28%) активность СОД уменьшается на 67%, каталазы — на 90% и глутатионпероксидазы — на 74% относительно наблюдаемых у практически здоровых добровольцев. Проведение интенсивной терапии в период подготовки больных данной подгруппы к операции АКШ существенно не повышает ФВ перед операцией и не ведет к повышению активности ферментов АОЗ в послеоперационном периоде. Полученные результаты позволяют предположить, что истощение резервных возможностей системы АОЗ у больных со значительно сниженной сократительной функцией левого желудочка может быть одним из факторов повышенного риска осложнений, большей выраженности реперфузионного (окислительного) и операционного стресса.

Показано, что общая фракция выброса (ФВ) коррелирует с суммарной активностью всех ферментов системы антиоксидантной защиты (СОД+глутатион-пероксидаза+каталаза; $r=0,75$, $p<0,01$), тогда как взаимосвязи ни с одним из перечисленных показателей в отдельности не установлено (коэффициент корреляции — 0,27, 0,09, 0,08, соответственно). Не отмечается и линейной взаимосвязи между конечно-диастолическим и систолическим объемами левого желудочка и общей активностью энзиматического звена системы АОЗ. В основе механизма нарушения утилизации кислорода — фактора, запускающего образование АФК, лежит нарушение транспорта электронов в цепи окислительного фосфорилирования (в частности, в связи с вымыванием из цепи цитохрома С), падения отношения НАД/НАДН и НАДФ/НАДФН [1]. В результате прогрессирующего окислительного стресса запускаются механизмы нарушения целостности мембран, митохондрий [1], ухудшения гистоморфологического состояния сердечной мышцы, гибели клеток, что в конечном итоге приводит к снижению качества жизни и выживаемости больных [9, 11, 17]. Сопряженные изменения процессов энергетического метаболизма и антиоксидантной защиты крови, а позднее и ПОЛ, играют важную роль в прогрессировании дисфункции левого желудочка.

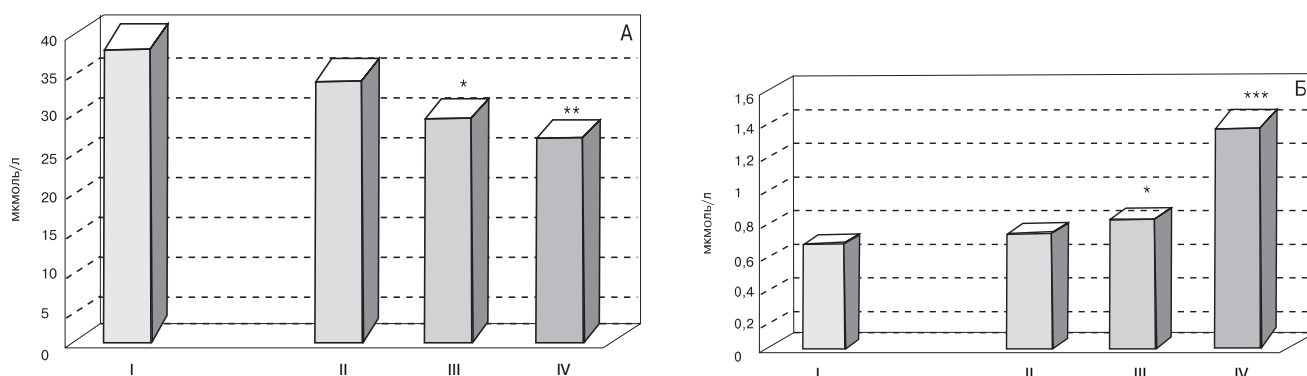


Рис. 2. Динамика содержания α -токоферола (А) и малонового диальдегида (Б) у практически здорового человека (I), у больных ИБС с общей фракцией выброса левого желудочка не менее – 35% - II; менее 35%, но более 28% - III; и менее 28% -IV.

Снижение активности ферментов антиоксидантной защиты, повреждение системы приводит к прогрессированию процесса неконтролируемой интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и, как следствие, к реализации вазоактивного действия липоперекисей, способствующих прогрессированию ИБС. Назначение стандартной терапии после операции АКШ и резекции аневризмы ведет к достоверному снижению ПОЛ лишь на 14-е сутки относительно наблюдаемого до операции, однако интенсивность ПОЛ при этом превышает уровень нормальных значений в 2,1 раза. У пациентов с ФВ менее 35% концентрация МДА в крови значительно более высокая, чем в подгруппе больных с ФВ более 35% (рис. 2Б).

Характерной особенностью ПОЛ является его более быстрый рост в тромбоцитах, по сравнению с эритроцитами и плазмой крови [1], который практически не поддается стабилизации или коррекции.

Таким образом, у больных ИБС с умеренным снижением сократительной функции, когда компенсаторные, адаптационные механизмы активно функционируют, активности СОД, каталазы и глутатионпероксидазы повышаются, а срыв компенсаторных, резервных возможностей ферментативного звена системы антиоксидантной защиты свидетельствует о переходе бессимптомной сердечной недостаточности в манифестированную с прогрессирующей дисфункцией левого желудочка.

Литература

- Бокерия Л.А., Маликов В.Е., Сигаев И.Ю. и др. Системы энергетического обеспечения, ПОЛ и лизосомальных ферментов при трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации миокарда и ее сочетании с аортокоронарным шунтированием // Бюлл. экспер. биол. — 2002 (приложение 2). — С.40-43.
- Кахнов Н.Б., Хмелевский Ю.В. Глутатионовая антиоксидантная система в миокарде и эритроцитах крыс при острых гипоксических поражениях сердца // Укр. биохим. ж. — 1980. — №5. — С.643-646.
- Колесниченко Л.С., Манторова Н.С., Шапиро Л.А. и др. Изменение активности ферментов метаболизма глутатиона при иммобилизационном стрессе и их возможное значение // Бюлл. экспер. биол. — 1984. — №9. — С. 271-272.
- Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. // Лаб. дело. — 1988. — №1. — С. 16-18.
- Мхитарян В.Г., Бадалян Г.Е. Влияние пероксидированных и непероксидированных ненасыщенных жирных кислот на активность супероксиддисмутазы // Экспер. клин. мед. — 1978. — №6. — С.7-11.
- Das DK., Engelman RM., Rousou JA., et al. Pathophysiology of superoxide radical as potential mediator of reperfusion injury in pig heart // Basic Res. Cardiol. 1986. — Vol. 81. — P. 155-166.
- Dhalla AK., Hill MF, Singal PK. Role of oxidative stress in the transition from hypertrophy to heart failure // J.Am.Coll Cardiol. — 1996. — Vol. 28. — P.506-514.
- Diaz-Velez CR., Garcia-Castineiras S., Mendoza-Ramos E., et al. Increased malondialdehyde in peripheral blood of patients with congestive heart failure // Am. Heart J. — 1996. — Vol. 131. — P.146-152.
- Dzau VJ., Gibbons JH. Autocrine-paracrine mechanism of vascular myocytes in hibernation // Am. J. Coll Cardiol. — 1987. — Vol. 60. — P.991-1031.
- Ferrari R., Ceconi C., Cargnoni A., et al. Intracellular effects of myocardial ischemia and reperfusion: role of calcium and oxygen. Eur. Heart J. 1986; 7:3-12.
- Halliwell B. Antioxidants in human disease: A general introduction // Nutr Rev. 1997. — Vol. 55. — P.S44-S52.
- Keith M., Geranmayegan A., Sole MJ., et al. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure // J. Am. Coll. Cardiol. — 1998. — Vol. 31. — P.1352-1356.
- Kirshenbaum LA, Singal PK. Changes in antioxidant enzymes in isolated cardiac myocytes subjected to hypoxia-reoxygenation // Lab. Invest. — 1992. — Vol. 76(6). — P. 796-803.
- Mohazzab-H KM, Kaminski PM, Wolin MS. NADH oxidoreductase is a major source of superoxide anion in bovine coronary artery endothelium // Am. J. Physiol. — 1994. — Vol. 266. — P. H2568-H2552.
- Nishiyama Y., Ikeda H., Haramaki N., et al. Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure // Am. Heart J. — Vol.1998. — Vol. 135. — P.115-120.
- Ohara Y., Peterson TE., Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production // J.Clin Invest. — 1993. — Vol. 91. — P. 2546-2551.
- Rajagopalan S., Kurz S, Munzrl T., et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contributions to alterations of vasomotor tone // J. Clin. Invest. 1996. — Vol. 97. — P. 1916-1923.
- Tritto I, Duilio C, Santono G, et al. A short burst of oxygen radicals

- at reflow induces sustained release of oxidized glutathione from postischemic hearts // Free Rad. Biol. Med. - 1998. - Vol.24. - P.290-297.
19. Wamholtz A., Nickening G., Schultz E., et al. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide production in the early stages of atherosclerosis: Evidence for involvement of the renin-angiotensin system // Circulation. - 1999. - Vol.99. - P.2027-2033.
20. White CR., Brock TA., Chang LY, et al. Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1994. - Vol. 91. - P.1044-1048.

Abstract

The study involved 74 patients with coronary heart disease (CHD) (mean age $52,4 \pm 4,5$ years), with stable effort and exertion angina, Stage II arterial hypertension (in 56% of the participants), and multifocal atherosclerosis in 61% of cases. Among CHD patients without substantial decrease in left ventricular contractility (ejection fraction, $EF > 45\%$), activity of antioxidant enzymes increased: for superoxide dismutase (SOD), katalase, and glutathione peroxidase – by 87,5%, 25%, and 34%, respectively. In patients with $EF \geq 35\%$, SOD and glutathione peroxidase activity increase is also observed (by 198% and 33%, respectively), as well as reduced katalase activity. In participants with $EF < 35\%$, pseudo-normalization of SOD activity and reduction of katalase and glutathione peroxidase activity was observed: antioxidant protection system (AOP) potential was decreased (initial, reversible phase). Reduced alpha-tocopherol level was registered only in individuals with $EF < 35\%$. Severe LV dysfunction ($EF < 28\%$) was associated with AOP activity decrease: by 67% for SOD, by 90% for katalase, and by 74% for glutathione peroxidase. Authors suggest that reduced AOP system reserve in patients with severely impaired LV contractility is one of the most important factors for complication risk, reperfusion (oxidative) and surgery stress.

Keywords: Coronary heart disease, contractility, antioxidant protection system, lipid peroxidation.

Поступила 20/05-2004