

## 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 лекарственных 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  $\beta$ -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  $\beta$ -окисление жирных кислот в митохондриях, являются кардиопротекторы — милдронат и триметазидин — с различными механизмами действия: триметазидин ингибирует ферменты, осуществляющие  $\beta$ -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

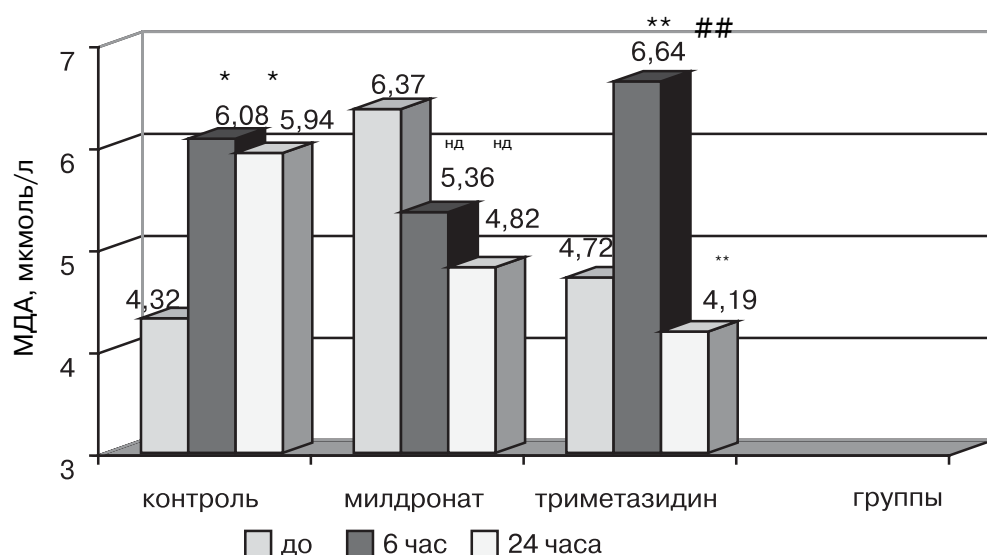
Valentine W.N. с помощью спектрофотометрической регистрации [11].

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

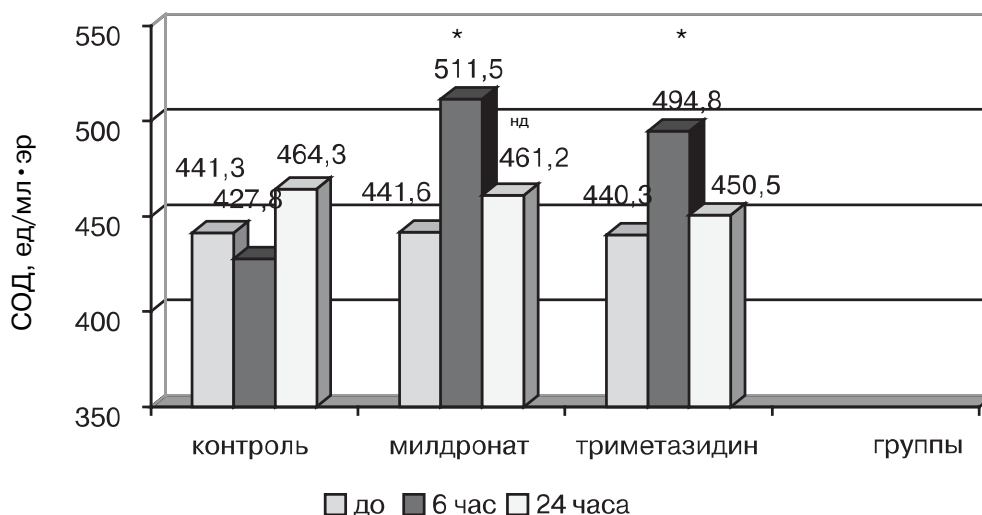
В контрольной группе после проведения коронарного шунтирования отмечалось резкое увеличение в плазме крови содержания вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида – наряду с угнетением антиоксидантных ферментов СОД и ГП при их исследовании в эритроцитах крови. Показатель МДА в крови достоверно увеличился 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/мл • 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-



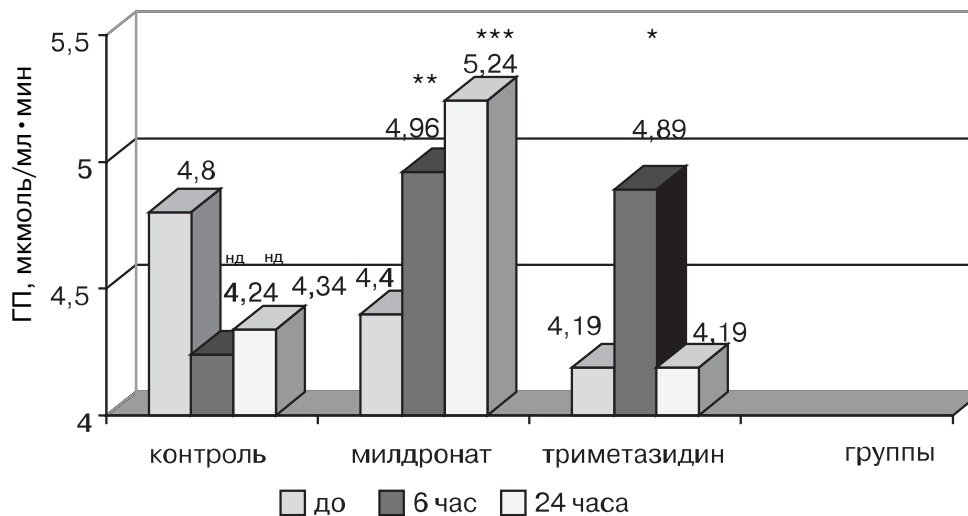
**Рис. 1.** Динамика уровня малонового диальдегида

**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](http://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](mailto: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.