

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНТЕНСИВНОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ Q-ИНФАРКТОМ МИОКАРДА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Н. В. Карташева, А. В. Тараканов, Н. П. Милютин

*Ростовский государственный медицинский университет*

*Аннотация:* при сравнительном анализе результатов биохимического исследования, полученных от пациентов с острым Q-инфарктом миокарда различной степени тяжести по Killip показано, что наблюдаемые при ишемии интенсификация генерации активных форм кислорода (АФК), выраженная активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) на фоне ингибирования основных звеньев антиоксидантной защиты находятся в прямой зависимости от тяжести патологического процесса и выраженности ишемического повреждения миокарда. Развивающиеся вследствие активации свободнорадикальных процессов нарушения структурной организации мембран эритроцитов, также пропорциональны тяжести клинической картины.

*Ключевые слова:* инфаркт миокарда, ишемические повреждения миокарда, биохимическое исследование, активные формы кислорода, перекисное окисление липидов.

В настоящее время одной из наиболее актуальных проблем в кардиологии остается коронарная болезнь сердца, в том числе острый инфаркт миокарда (ОИМ), что обусловлено распространенностью сердечно-сосудистых заболеваний и их вкладом в структуру смертности.

В патогенезе ишемического повреждения миокарда, а также атерогенезе и повреждении атеросклеротических бляшек большую роль играет активация свободнорадикальных процессов на фоне одновременного повреждения и подавления ферментных систем их утилизации. Такое состояние обозначается как "окислительный стресс" [8]. В наиболее острой форме он возникает на начальной стадии реперфузии и служит одной из основных причин повреждения клетки.

Проводимые в нашей стране школами Н. М. Эммануэля, Е. Б. Бурлаковой, а также Ю. А. Владимировым и его учениками исследования токсической роли активных форм кислорода (АФК) привели к пониманию опасности для целостности клетки активации свободнорадикального окисления клеточных мембран. Процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), как было показано в литературе, сопровождают, усугубляют, и, возможно, вызывают многие патоло-

гические процессы [1]. Накопление продуктов ПОЛ при ОИМ вызывает деструкцию мембран, разобщает окислительное фосфорилирование, провоцирует спазм коронарных сосудов [4].

В этой связи становится актуальным исследование свободнорадикального окисления липидов плазмы крови и эритроцитов как модели мембраны у больных с ОИМ в зависимости от тяжести клинического проявления заболевания.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить интенсивность свободнорадикальных процессов и механизмов антиоксидантной защиты у больных с острым Q-образующим инфарктом миокарда в зависимости от тяжести клинической картины заболевания.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей работе осуществлен анализ результатов клинико-лабораторного исследования, проведенного у 77 пациентов с острым Q-образующим инфарктом миокарда, находившихся на лечении в кардиологических отделениях БСМП № 2, Северо-Кавказского окружного военного госпиталя, 20-й Городской больницы г. Ростова-на-Дону в период с 2000 по 2004 гг.

В исследовании приняли участие 64 мужчины и 13 женщин. Диагноз ОИМ был верифицирован клинически и лабораторно-инструментальными методами (в соответствии с рекомендациями экспертов ВОЗ, 1998).

Время от начала ангинозного приступа до поступления в стационар составило от 2 до 24 часов. Средний возраст больных – 58,2 года.

Все пациенты были рандомизированы по степени сердечной недостаточности в остром периоде ОИМ, которая определялась по классификации Killip (на основе Killip T. And Kimball J., 1967, [7]). По классу тяжести больные распределены следующим образом: у 17 человек (22 %) установлен первый класс тяжести, у 32 (41 %) – второй, у 22 пациентов (29 %) – третий класс тяжести, и у 6 (8 %) – четвертый.

Среди принявших участие в настоящем исследовании 45 (58 %) человек имели в анамнезе ишемическую болезнь сердца длительностью от 1 до 20 лет, причем 11 (14 %) пациентов перенесли ранее ОИМ, 32 (42 %) человека заболели впервые. Наибольшую часть в группе имеющих в анамнезе ишемическую болезнь сердца составляют пациенты с первым (27 %) и вторым (44 %) классом тяжести, тогда как из заболевших впервые большее количество больных со вторым (38 %) и третьим (38 %) классом тяжести, также велик в этой группе процент больных с наиболее тяжелым, четвертым классом тяжести (9 %).

Биохимические исследования проводились в НИИ биологии при Ростовском государственном университете.

Оценка активности генерации АФК проводилась с помощью метода хемилюминесценции. Количество диеновых конъюгатов (ДК) определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232 нм, уровень вторичного молекулярного продукта – малонового диальдегида (МДА) по методике И. Д. Стальной и Т. Д. Горишвили [6]. Для определения содержания шиффовых оснований использовали метод Bligh, Dyer [9]. Степень активности первичного звена антиоксидантной защиты клетки оценивалась по уровню суперсиддисмутазы (СОД) и каталазы в эритроцитах [10]. Количество внеэритроцитарного гемоглобина – гемоглобинцианидным методом [3] при длине волны 540 нм.

В качестве контрольных показателей, отражающих состояние исследуемых звеньев гомеостаза, использовали результаты обследования 36 здоровых добровольцев соответствующего возраста.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе полученных данных не было выявлено существенных статистических отличий в группах больных с первым и вторым классами тяжести по Killip, а также в группах пациентов с третьим и четвертым классами тяжести. Это позволило нам объединить эти группы при представлении результатов исследования. Таким образом, в настоящей работе выделены две группы

больных: первая – пациенты с минимальными признаками или отсутствием сердечной недостаточности (1–2 класс по Killip), вторая – пациенты с выраженной сердечной недостаточностью (3–4 класс по Killip).

В нашем исследовании установлено, что при ОИМ в крови пациентов наблюдается повышение интенсивности свободнорадикального окисления (СРО), выраженное в большей степени у больных с более тяжелым клиническим течением заболевания.

Это подтверждается нарастанием динамики параметров хемилюминесценции (ХЛ): в плазме крови первой группы больных ОИМ интенсивность быстрой вспышки ХЛ (Н, мм) увеличивается на 19 %, во второй группе – на 68 % относительно контроля, что указывает на повышенный уровень генерации АФК – гидроксильного радикала (ОН), а также супероксидного анионрадикала ( $O_2^-$ ), которые обладают цитотоксическим действием и способны инициировать ПОЛ (табл.1).

Светосумма ХЛ, вероятно, указывает на скорость расходования липидных радикалов вследствие их взаимодействия друг с другом или с эндогенными антиоксидантами [2]. Светосумма (Sm) индуцированной ХЛ плазмы крови больных первой группы повышается незначительно, тогда как у больных второй группы достоверно увеличивается на 61 % относительно контрольного значения.

Следует отметить, что прирост показателей  $H_2O_2$  – люминоиндуцируемой хемилюминесценции Н и Sm – у пациентов второй группы составил 41 и 45 % соответственно относительно пациентов первой группы, что указывает на наличие корреляции между тяжестью клинической картины заболевания и интенсификацией образования АФК.

Таким образом, при ОИМ в плазме крови больных ОИМ наблюдается повышенная генерация АФК, которые способны инициировать ПОЛ в биомембранах и плазме крови, о чем свидетельствует накопление молекулярных продуктов ПОЛ (см. табл. 1).

В плазме крови уровень первичных продуктов ПОЛ – ДК в первой группе больных ОИМ достоверно повышается на 77 %, во второй группе – на 135 % относительно контроля.

Содержание малонового диальдегида оказывается существенно увеличенным в первой и второй группах больных ОИМ на 102 и 130 % соответственно, а уровень шиффовых оснований – конечных продуктов ПОЛ – повышается в первой группе на 23 %, тогда как во второй группе – на 88 % по сравнению с уровнем доноров.

Таким образом, прирост вторичных продуктов ПОЛ – МДА и конечных – шиффовых оснований (ШО) во второй группе составил 14–53 % соответственно по отношению к первой группе больных ОИМ. Считается, что продукты ПОЛ типа МДА относятся к бифункциональным попеременно действующим реагентам и способствуют образованию высокомолекулярных конечных продуктов – шиффовых оснований, что приводит к необратимому нарушению метаболизма.

**Интенсивность  $H_2O_2$  – люминоиндуцируемой хемилюминесценции (ХЛ) и ПОЛ  
в плазме крови больных РИМ,  $M \pm m$**

Показатель	Контроль ( $n = 36$ )	Первая группа ( $n = 42$ )	Вторая группа ( $n = 24$ )
ХЛ Н, мм	44,2±4,2	52,8±3,9	74,4±6,9
$p$ % изменений		$p > 0,1$ (+19 %)	$p < 0,001$ (+68 %)
$p_1$ % изменений			$p_1 < 0,001$ (+41 %)
ХЛ $8 \cdot 10^4$ , отн.ед.	84,1±2,1	93,5±8,7	135,4±22,8
$p$ % изменений		$p > 0,1$ (+11 %)	$p < 0,05$ (+61 %)
$p_1$ % изменений			$p_1 < 0,05$ (+45 %)
ДК, нмоль/мл.	12,38±1,71	21,91±0,82	29,12±1,74
$p$ % изменений		$p < 0,001$ (+77 %)	$p < 0,001$ (+135 %)
$p_1$ % изменений			$p_1 < 0,001$ (+33 %)
МДА, нмоль/мл.	20,87±1,58	42,06±1,62	47,99±1,24
$p$ % изменений		$p < 0,001$ (+102 %)	$p < 0,001$ (+130 %)
$p_1$ % изменений			$p_1 < 0,01$ (+14 %)
ШО, отн.ед./мл.	1,06±0,09	1,30±0,09	1,99±0,21
$p$ % изменений		$0,05 < p < 0,1$ (+23 %)	$p < 0,001$ (+88 %)
$p_1$ % изменений			$p_1 < 0,005$ (+53 %)

Примечание. Здесь и в табл. 2:  $p$  – достоверность различий по сравнению с контролем,  $p_1$  – достоверность различий между группами.

Ключевым звеном тонко сбалансированной системы антиоксидантов, регулирующей процессы СРО в организме, являются ферментативные антиоксиданты СОД и каталаза эритроцитов. В нашем исследовании установлено, что в условиях острой ишемии миокарда в эритроцитах наблюдалось ингибирование активности СОД на 31 % у пациентов первой группы и на 26 % у пациентов второй группы; активность сопряженного фермента каталазы уменьшается на 13 % по сравнению с контролем во второй группе, тогда как в первой группе изменения недостоверны (табл. 2).

Свободнорадикальные процессы являются важнейшими регуляторами структурного состояния биомембран, оказывая действие на липидный бислой и мембранные белки.

Закономерным следствием активации ПОЛ является нарушение стабильности и структурной

организации мембран эритроцитов. Внеэритроцитарный гемоглобин (ВЭГ) и суммарная пероксидазная активность (СПА), как чувствительные и информативные показатели стабильности мембран эритроцитов [5], претерпевают выраженные изменения при ОИМ (см. табл. 2).

Уровень ВЭГ в плазме крови достоверно повышался у больных первой и второй группы на 30 и 68 % соответственно по сравнению с контрольным показателем.

СПА, характеризующая состояние пероксидазных компонентов плазмы крови, у пациентов второй группы возросла на 38 % относительно контроля, а в первой группе различия недостоверны.

Таким образом, при ОИМ у пациентов обеих исследованных клинических групп наблюдается выраженная дестабилизация МЭ, связанная с резким повышением их проницаемости.

Таблица 2

**Активность антиоксидантных ферментов и структурное состояние мембран эритроцитов  
у больных ОИМ,  $M \pm m$**

Показатель	Контроль ( $n = 36$ )	Первая группа ( $n = 42$ )	Вторая группа ( $n = 24$ )
СОД, ед/мг НБ	3,62 ± 0,06	2,49 ± 0,08	2,65 ± 0,13
$p$ % изменений		$p < 0,001$ (-31 %)	$p < 0,001$ (-26 %) $p_1 > 0,1$
$p_1$ % изменений			
Каталаза, нмоль $H_2O_2$ /мг НБ	27,9 ± 1,1	26,3 ± 1,2	24,2 ± 1,6
$p$ % изменений		$p > 0,1$	$0,05 < p < 0,1$ (-13 %) $p_1 > 0,1$
$p_1$ % изменений			
ВЭГ, мкмоль/л.	4,80 ± 0,29	6,24 ± 0,62	8,06 ± 0,96
$p$ % изменений		$p < 0,05$ (+30 %)	$p < 0,01$ (+68 %) $p_1 > 0,1$
$p_1$ % изменений			
СПА, ед./мл	5,0 ± 0,6	5,8 ± 0,6	6,9 ± 0,81
$p$ % изменений		$p > 0,1$	$0,05 < p < 0,1$ (+38 %) $p_1 > 0,1$
$p_1$ % изменений			

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При остром инфаркте миокарда наблюдается повышенная генерация активных форм кислорода и существенное повышение интенсивности ПОЛ на фоне дисбаланса антиоксидантной защиты.

Некомпенсированная активация ПОЛ и накопление его продуктов способствуют дестабилизации мембран эритроцитов, о чем свидетельствует выраженное повышение уровня внеэритроцитарного гемоглобина в плазме крови.

Активность генерации активных форм кислорода и свободнорадикального окисления, а также степень нарушения структурного гомеостаза находится в прямой зависимости от клинической тяжести острого инфаркта миокарда по Killip.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А. А. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 320 с.
2. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И. и др. // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. – М., 1991. – Т. 29. – 252 с.

3. Каракашов А. В., Вичев Е. П. Микрометоды в клинической лаборатории. – София.: Медицина и физкультура, 1973. – 256 с.

4. Ланкин В. З., Тихадзе А. К., Беленков Ю. Н. // Кардиология. – 2000. – № 7. – С. 48–58.

5. Лукаш А. И., Внуков В. В., Ананян А. А. и др. Металлосодержащие соединения плазмы крови при гипербарической оксигенации. – Ростов н/Д., 1996. – 107 с.

6. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Д. // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.

7. Тейлор Д. Д. Основы кардиологии. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 368 с.

8. Ambrosio G., Flaherty J. T. // Cardiovasc. Drugs and Therapy. – 1992. – Vol. 6. – P. 623.

9. Bligh E., Dyer W. L. // Can. J. Biochem. Physiol. – 1999. – № 8 (37). – P. 911 – 917.

10. Fried R. // Bio-chemic. – 1975. – Vol. 57, № 5. – P. 657–660.