



На правах рукописи

Лупач Наталья Михайловна

Метаболическая функция эндотелия и оксидантный статус у лиц с гиперхолестеринемией и у больных с различными формами ишемической болезни сердца

14.01.04-внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

20 ОКТ 2011

Владивосток – 2011

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования "Владивостокский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации"

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор кафедры гериатрии и медико-социальной экспертизы ГОУ ДПО «Российская медицинская академия последиplomного образования Росздрава» **Потапов Владимир Николаевич**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии с курсом эндокринологии и лучевой диагностики ГОУ ВПО "Владивостокский государственный медицинский университет" **Дубиков Александр Иванович**

доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией восстановительного лечения НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения СО РАМН **Антонюк Марина Владимировна**

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ: ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», кафедра клинической и социальной гериатрии ФПК МР РУДН, г. Москва

Защита диссертации состоится 10.11.2011 2011 года в 10 часов на заседании диссертационного совета К 208.007.01 при ГОУ ВПО "Владивостокский государственный медицинский университет" по адресу: 690002, г. Владивосток, пр. Острякова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Владивостокского государственного медицинского университета.

Автореферат разослан «7» октября 2011 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Шестакова Н.В.

Актуальность исследования

Атеросклероз – процесс, лежащий в основе большинства заболеваний сердечно-сосудистой системы. Он является главной причиной ишемической болезни сердца (ИБС) – заболевания, являющегося наиболее частой причиной смертности населения во всех развитых странах (Д.М. Аронов, 2000; Р. Libby, 2003). Внимание многих исследователей направлено на развитие профилактического направления, связанного с изучением факторов риска, рискометрией различных групп пациентов с ИБС (В.О. Константинов, 2006; В.З. Ланкин, 2004). Особое внимание для ранней профилактики заболеваемости и смертности от ИБС привлекают лица с гиперхолестеринемией как группы риска развития и прогрессирования атеросклероза.

Многие авторы рассматривают атеросклероз как “свободнорадикальную патологию” (Бабак О.Я., 2004; Белая О.Л., 2006; Каминный А.И., 2005; Ланкин В.З., 2006). Как показали исследования последних лет (К. Kameda, 2003; M.L. Koschinsky, 2005) факторы риска реализуют свое повреждающее действие через усиление процессов оксидативного стресса, интенсивная продукция свободных радикалов нарушает баланс между защитными и повреждающими воздействиями на стенку сосуда.

Термин “эндотелиальная дисфункция” отражает генерализованный дефект всех механизмов, поддерживающих целостность и функциональность сосудистого эндотелия, в том числе, нарушение продукции и биодоступности NO в сочетании с нарушением баланса между синтезом сосудорасширяющих и сосудосуживающих медиаторов. Одним из маркеров эндотелиальной дисфункции являются матриксные металлопротеиназы (ММП). В последнее время большое внимание уделяется роли ММП в патогенезе атеросклероза и ИБС (ZS Galis, JJ Khatri, 2002; U. Skeda, K. Shimada, 2004; Гайковая Л.Б., 2009). На современном этапе практическое значение имеет исследование структурной изменчивости сывороточных альбуминов при различных формах ИБС. Разработка новых ранних маркеров ишемии миокарда является

в настоящее время весьма перспективной. Одним из таких маркеров может являться ишемически измененный сывороточный альбумин.

Терапевтические воздействия, направленные на нормализацию функции эндотелия, межклеточного матрикса, коррекцию окислительного стресса и структурной изменчивости альбумина являются актуальными и приоритетными в профилактике и лечении атеросклероза и ИБС. С этих позиций нами уделено внимание препаратам метаболического действия, способным оптимизировать внутриклеточный энергообмен и противостоять окислительному стрессу.

Цель исследования: оценить нарушения метаболической функции эндотелия и оксидантного статуса у лиц с гиперхолестеринемией и у больных с различными формами ИБС, определить возможности ранней профилактики ИБС с использованием природного регулятора клеточного метаболизма на основе Эхинохрома А.

Задачи исследования:

1. Изучить состояние общей оксидантной и антиоксидантной функции у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС и у больных с различными клиническими формами ИБС (стабильной стенокардией 3 функционального класса и инфарктом миокарда).

2. Оценить концентрацию метаболитов NO-синтазы как показателя нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия сосудов у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС и у больных с различными клиническими формами ИБС.

3. Изучить концентрации комплекса металлопротеиназы-9/тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (ММП-9/ТИМП-1) как маркера ремоделинга межклеточного матрикса у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС, у больных стабильной стенокардией 3 функционального класса и инфарктом миокарда

4. Определить содержание ишемически измененного альбумина у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС, у больных стабильной стенокардией 3 функционального класса и инфарктом миокарда.

5. Выявить взаимосвязи показателей оксидантного статуса, концентрации комплекса ММП-9/ТИМП-1, нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия, ишемически измененного альбумина у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС и у больных с различными формами ИБС.

6. Определить возможности ранней профилактики нарушений метаболической функции эндотелия и оксидантного статуса у лиц с гиперхолестеринемией с использованием природного регулятора клеточного метаболизма «Тимарин».

Научная новизна

Впервые разработан «Способ оценки оксидантного статуса организма» (патент № 2407450). Впервые разработан «Способ коррекции нарушения липидного обмена» (патент № 2337696), «Способ коррекции эндотелиальной дисфункции» (патент № 2359686) с использованием препарата на основе Эхинохрома А.

Впервые ишемически измененный альбумин и комплекс ММП-9/ТИМП-1 определены как маркеры риска эндотелиальной дисфункции при гиперхолестеринемии и ИБС.

Впервые выявлена патогенетически значимая связь между оксидантным статусом и нитрооксидпродуцирующей функцией эндотелия у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС.

Впервые выявлены патогенетически значимые взаимосвязи между оксидантным статусом, ремоделингом межклеточного матрикса и кобальт-связывающей способностью альбумина у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС.

Впервые определено влияние природного метаболического корректора «Тимарин» на дисфункцию эндотелия, оксидантный статус, структурную

изменчивость альбумина и функцию межклеточного матрикса у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС.

Личный вклад автора состоит в формировании репрезентативных групп наблюдения, сборе и анализе всех клинических данных запланированного исследования, личном проведении лабораторных исследований оксидантного статуса, нитропродуцирующей функции эндотелия, ишемически измененного альбумина у лиц контрольной группы, лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС и у больных с различными формами ИБС, статистическом анализе материала и оценке полученных результатов, а также оформлении 3 патентов на изобретения.

Практическая значимость

Определены ранние маркеры риска развития ИБС у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС: увеличение комплекса ММП-9/ТИМП-1 $> 5,64$ нг/мл, снижение ИИА $< 76\%$.

У больных стабильной стенокардией напряжения определен ранний показатель прогрессирования воспаления и дестабилизации течения ИБС по степени выраженности ишемически измененного альбумина в сочетании с нарушением нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия.

Разработаны критерии определения степени эндотелиальной дисфункции по показателям содержания комплекса ММП-9/ТИМП-1 в плазме крови, оксидативному индексу, базальной секреции оксида азота и кобальт-связывающей способностью сывороточного альбумина.

Определение комплекса ММП-9/ТИМП-1 и ишемически измененного альбумина у пациентов со стабильной стенокардией позволяет выделить группу риска, угрожаемую по развитию неблагоприятных исходов ИБС, оценить прогрессирование атеросклероза, не применяя инвазивные вмешательства.

Предложена ранняя профилактика метаболических нарушений функции эндотелия, оксидатного статуса, ремоделинга межклеточного матрикса у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС природным

метаболическим корректором на основе Эхинохрома А, а также разработаны показания для его использования в комплексной терапии у больных с различными формами ИБС.

Для практического использования предложены “Способ коррекции нарушения липидного обмена”, “Способ коррекции эндотелиальной дисфункции”, а также “Способ коррекции оксидантного статуса организма”.

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в практику работы Приморской краевой клинической больницы №1.

Полученные данные по выявлению маркеров ремоделирования эндотелия и взаимосвязи дисфункции с оксидантным статусом, имеющие теоретическое значение для патогенеза развития атеросклероза и рискметрии пациентов с гиперлипидемией и ишемической болезнью сердца, включены в лекционный материал для студентов, клинических ординаторов и интернов на кафедре госпитальной терапии с курсом фтизиопульмонологии ГОУ ВПО ВГМУ, для врачей на кафедре гериатрии и МСЭ ГОУ ДПО РМАПО.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. У лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС выявляются изменения оксидантного статуса, которые сочетаются с эндотелиальной дисфункцией и изменениями нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия.

2. Показатели ишемически измененного альбумина во взаимосвязи с ремоделингом межклеточного матрикса являются ранними маркерами эндотелиальной дисфункции у лиц с гиперхолестеринемией как группы риска развития ИБС.

3. Степень выраженности дисфункции эндотелия, характеризуемая модификацией межклеточного матрикса и изменением кобальт-связывающей способности альбумина, позволяют среди больных стабильной стенокардией напряжения выделить группу риска, прогностически

неблагоприятную в плане дестабилизации атеросклеротической бляшки и развития ИМ.

4. Использование природного метаболического корректора на основе Эхинохрома А дает возможность проводить раннюю профилактику метаболических нарушений функции эндотелия, оксидантного статуса, ремоделинга межклеточного матрикса у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС.

Апробация результатов исследования

Материалы диссертации представлены на VI, VII, VIII Тихоокеанских научно-практических конференциях студентов и молодых ученых с международным участием (Владивосток, 2005, 2006, 2007), на II региональной конференции “Исследование в области физико-химической биологии и биотехнологии” (Владивосток, 2006), на XIV Российском национальном конгрессе “Человек и лекарство” (Москва, 2007), на заседании Приморского краевого терапевтического общества (Владивосток, 2007), на заседании Приморской ассоциации кардиологов (Владивосток, 2007, 2009). Работа прошла апробацию на заседании проблемной комиссии по внутренним болезням ГОУ ВПО ВГМУ Минздрава (Владивосток, 2010).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 работ, при этом 4 – в журналах, их которых 2 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Оформлено 3 патента.

Объем и структура диссертации

Материал диссертации изложен на 134 страницах машинописного текста на русском языке и состоит из списка сокращений, введения, 6 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка цитируемой литературы, включающего в себя 235 источников (80 – отечественных авторов и 155 – зарубежных авторов). Материал иллюстрирован 6 таблицами и 6 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Под нашим наблюдением находились лица с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС и больные с различными формами ИБС, проходившие обследования в краевой консультативной поликлинике и поступавшие в кардиологическое отделение ПККБ №1 города Владивостока на стационарное лечение, в период с октября 2005 по март 2007 гг.

Всего было обследовано 115 человек, которые сформировали следующие группы: I - лица с гиперхолестеринемией, в количестве 30 человек (средний возраст 56,5 лет). У данной категории лиц были факторы риска (курение, избыточная масса тела, дислипидемия), но не было заболеваний сердечно-сосудистой системы; II - больные со стабильной стенокардией напряжения 3 функционального класса, в количестве 30 человек (средний возраст 51,9 лет). III - больные с острым инфарктом миокарда (крупноочаговый), в количестве 30 человек (средний возраст 54,8 лет); IV - группу контроля составили 25 человек сопоставимого с пациентами возраста, не курильщики, без артериальной гипертензии и ИБС, с нормальными показателями холестерина.

Исследование было одобрено Независимым междисциплинарным этическим комитетом Владивостокского государственного медицинского университета. Объем исследований для каждой группы не различался. Пациенты давали письменное согласие на участие в исследовании. Всем больным были заполнены анкеты, включающие в себя оценку жалоб, анамнез, данные объективного статуса, лабораторные биохимические исследования (функциональные пробы печени, уровень глюкозы в крови, коагулограмма и липидограмма), функциональные исследования – ЭКГ, нагрузочный тест для больных стабильной стенокардией напряжения.

Больные со стабильной стенокардией 3 функционального класса, инфарктом миокарда получали по показаниям медикаментозную терапию, отвечающую современным стандартам оказания амбулаторной и

стационарной медицинской помощи: β -адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, антиагреганты, нитраты, статины.

Лицам с гиперлипидемией проводился 3-недельный курс с применением природного метаболического корректора на основе Эхинохрома А «Тимарин».

Специальные методы исследования.

Для оценки суммарного уровня метаболитов NO использовали колориметрический метод с помощью реактива Грейса. Определение стабильных метаболитов проводилось согласно протоколу, утвержденному фирмой "Biogenesis" (Великобритания). Определение общей оксидантной и общей антиоксидантной активности в сыворотке крови в нашем исследовании проводилось по модифицированной нами стандартной методике с уменьшением объема инкубационных сосудов и реагентов в них (патент № 2407450). Определение уровня комплекса матриксная металлопротеиназа-9/тканевой ингибитор металлопротеиназ-1 проводили согласно протоколу, утвержденному фирмой "R&D Systems" (USA). Определение ишемически измененного альбумина проводилось по модифицированному тесту, определяющему кобальт-связывающую способность сывороточного альбумина (вариант постановки реакции на планшетах).

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0. for Windows (версия 6.0). Сравнение двух независимых групп с нормальным распределением количественных признаков производили с использованием t-критерия Стьюдента для независимых признаков. Исследование взаимосвязи нормально распределённых количественных признаков проводилось с использованием параметрического корреляционного анализа Пирсона. Статистически значимыми считались показатели с $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа показателей общей оксидантной и антиоксидантной активности сыворотки крови показали, что у больных с различными формами ИБС, а также у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС имеется дисбаланс между системами оксидации и антиоксидантной защиты по сравнению с группой контроля (табл. 1).

Таблица 1

Показатели общей оксидантной и антиоксидантной активности сыворотки крови, комплекса матриксная металлопротеиназа-9/тканевой ингибитор металлопротеиназ-1, уровня метаболитов NO и ишемически измененного альбумина у лиц с гиперхолестеринемией и больных с различными формами ИБС ($M \pm m$)

Показатель	Контроль n=25	Лица с гиперхолестеринемией n=30	Больные СН 3 ФК n=30	Больные ИМ n=30
1	2	3	4	5
ОАА, %	10,95 ± 0,37	14,50 ± 0,29 p<0,001	15,10 ± 0,25 p<0,001 p ₁ >0,05	17,43 ± 0,21 p<0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
ОАА, %	124,10 ± 1,05	114,20 ± 0,98 p<0,001	111,54 ± 0,47 p<0,001 p ₁ <0,05	102,89 ± 0,19 p<0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
ОИ (ОАА/ОАА)	0,088 (0,054 - 0,122)	0,13	0,14	0,16
Уровень метаболитов NO, мкмоль/л	47,02 ± 0,43	39,94 ± 0,78 p<0,001	37,48 ± 0,40 p<0,001	29,26 ± 0,41 p<0,001

Примечание: n – число наблюдений; p – различия показателей больных и контрольной группы; p₁ – различия показателей больных СН 3 ФК и лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС; p₂ – различия показателей больных ИМ и лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС; p₃ – различия показателей больных ИМ и СН 3 ФК.

Анализ оксидантного статуса в зависимости от формы ИБС показал, что активация окислительных процессов и подавление активности антиоксидантной системы зависят от тяжести течения ИБС. Более

выраженное повышение интенсивности свободнорадикальных процессов и истощение антиоксидантной защиты установлено в группе лиц с инфарктом миокарда. Полученные данные говорят о том, что при ишемии с повреждением миокарда довольно велик прооксидантный потенциал плазмы за счет избытка различных прооксидантов, так как из-за повреждения и подавления ферментных систем и их утилизации в ишемизированных клетках при ИМ происходит резкое возрастание содержания АФК, что способствует образованию более активных липидных радикалов. При стабильной стенокардии 3 ФК, в отличие от ИМ, отмечены менее выраженные изменения в оксидантном статусе.

Обращает внимание наличие статистически значимого дисбаланса в оксидантном статусе в группе лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС с повышенными значениями оксидативного индекса (0,13) при верхней границе нормы 0,12, что подтверждает участие свободнорадикальных процессов на ранних этапах патогенеза и прогрессирования атеросклероза.

Нарушение функционального состояния эндотелия во всех исследуемых группах сопровождалось существенным снижением секреции активных метаболитов NO (табл. 1). Следует подчеркнуть, что, по нашему мнению, уже на доклинической стадии ИБС в результате повреждения эндотелия происходит нарушение баланса – уменьшение синтеза оксида азота и, следовательно, усиление продукции веществ с вазоконстрикторным эффектом. Максимальное снижение нитрооксидпродуцирующей функции, как и ожидалось, установлено в группе лиц с ИМ.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что у больных ИБС выявляются достоверные признаки воспаления в виде повышения уровня комплекса ММП-9/ТИМП-1. Причем, нарастание уровня этого комплекса происходит пропорционально тяжести ИБС, достигая максимально высоких значений в группе больных с инфарктом миокарда по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$) (табл. 2). Учитывая, что в основе этого патологического

состояния лежит нестабильность атеросклеротической бляшки, выявленные изменения свидетельствуют о прогрессировании атеросклеротического процесса с развитием воспалительного процесса и тромбоза, что позволяет оценивать комплекс ММП-9/ТИМП-1 как маркер системного воспаления.

Таблица 2

Показатели комплекса матриксная металлопротеиназа-9/тканевой ингибитор металлопротеиназ-1 и ишемически измененного альбумина у лиц с гиперхолестеринемией и больных с различными формами ИБС (M±m)

Показатель	Контроль n=25	Лица с гиперхолестеринемией n=30	Больные СН 3 ФК n=30	Больные ИМ n=30
ММП-9/ТИМП-1, нг/мл	2,77 ± 0,12	5,64 ± 0,16 p<0,001	6,81 ± 0,15 p<0,001 p ₁ <0,001	10,26 ± 0,12 p<0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
ИИА. %	80,86 ± 0,56	76,59 ± 0,67 p<0,001	72,46 ± 0,36 p<0,001 p ₁ <0,05	62,03 ± 0,48 p<0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001

Примечание: n—число наблюдений; p – различия показателей больных и контрольной группы; p₁ – различия показателей больных СН 3 ФК и лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС; p₂ - различия показателей больных ИМ и лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС; p₃ - различия показателей больных ИМ и СН 3 ФК.

Анализируя результаты исследования концентрации комплекса ММП-9/ТИМП-1 в сыворотке крови обследованных пациентов, выявлено, что при наличии клинических проявлений ИБС (СН 3 ФК, ИМ) этот показатель статистически значимо и значительно увеличивается по сравнению с контрольной группой (p<0,01) в 2,4 и 3,7 раза соответственно. Но при этом обращает на себя внимание повышение уровня комплекса ММП-9/ТИМП-1 и в группе лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС, которое достоверно отличается от значения в контрольной группе (p<0,001) и превышает его в 2 раза. Это может свидетельствовать о степени

эндотелиальной дисфункции и высоком риске развития и прогрессирования атеросклероза. Кроме того, данный тезис подтверждается тем, что на фоне увеличения концентрации комплекса ММП-9/ТИМП-1 уровень общего холестерина статистически значимо ($p < 0,001$) возрастает в группе лиц с гиперхолестеринемией и у больных СН 3 ФК и значительно снижается при развитии ИМ.

Таким образом, анализируя имеющиеся данные литературы и полученные результаты нашего исследования, мы рассматриваем комплекс ММП-9/ТИМП-1 как ранний маркер дестабилизации атеросклеротической бляшки, маркер фиброза или ремоделирования миокарда, а также как маркер для стратификации группы высокого риска внезапной кардиоваскулярной смерти среди больных стабильной стенокардией.

В проведенных нами исследованиях выявлена значимая корреляционная связь между состоянием оксидантного статуса и уровнем комплекса ММП-9/ТИМП-1. Согласно полученным данным, состояние эндогенной антиоксидантной системы определяется формой ИБС. Уровень антиоксидантной защиты у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС статистически значимо выше таковой у больных стабильной стенокардией напряжения 3 функционального класса, и достигает наиболее низких значений при развитии инфаркта миокарда. Уровень прооксидантов крови находится в обратной корреляционной связи с нитропродуцирующей функцией эндотелия и в прямой корреляционной связи с уровнем комплекса ММП-9/ТИМП-1. Таким образом, прооксиданты угнетают экспрессию эндотелиальных клеток и активность NO-синтазы. В нашем исследовании эта зависимость увеличивается согласно классу тяжести стенокардии, степени поражения коронарного русла и достигает максимальных значений у больных с инфарктом миокарда. Наличие сильных корреляционных связей между уровнем комплекса ММП-9/ТИМП-1 и оксидантным статусом свидетельствует о роли окислительного стресса в активации металлопротеиназ и развитии эндотелиальной дисфункции.

При анализе уровня ишемически измененного альбумина наиболее выраженные структурно-конформационные сдвиги в молекуле альбумина выявлены в группе больных с инфарктом миокарда, они нашли отражение в значительном снижении кобальт-связывающей способности альбумина (табл. 2). При этом обращает внимание снижение кобальт-связывающей активности альбумина по линии нарастания степени тяжести ИБС. В условиях ишемии усиливаются катаболические процессы, возрастает количество окисленных продуктов, активных форм кислорода, происходит активация ПОЛ, а также развиваются различные конформационные изменения структуры молекулы сывороточного альбумина, в т.ч. изменение структуры VI связывающего центра и, соответственно, значительно снижается кобальт-связывающая способность альбумина, что отражает ишемически измененный альбумин.

Обнаружено, что у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС уже отмечаются изменения в молекуле альбумина, что может свидетельствовать о скрытой ишемии.

При анализе корреляционных взаимосвязей в системе сывороточного альбумина, оксидантного статуса, функции эндотелия и межклеточного матрикса отмечается наличие сильных и средних прямых и обратных связей между изученными системами, что позволяет говорить о значимости этих систем в развитии эндотелиальной дисфункции и прогрессировании атеросклероза, позволяет предложить диагностически значимые маркеры для оценки риска атеросклеротического поражения и проводить контроль лечения.

К настоящему времени имеется немало противоречивых исследований, отражающих данные о влиянии антиоксидантов на конечные точки терапии ИБС: инфаркт миокарда, внезапную смерть. В литературе имеются единичные сообщения об антиоксидантных и кардиопротективных свойствах препаратов нового класса водорастворимых антиоксидантов – полигидроксиафтохинонов, которые являются природными пигментами и содержатся в панцирях и иглах морских ежей (А.Н. Закирова, 1996). В последние годы в Тихоокеанском институте биоорганической химии ДВО

РАН разработан и испытан антиоксидант нового класса “Тимарин”, обладающий выраженной антиоксидантной активностью за счет двух основных компонентов – аскорбиновой кислоты и эхинохрома А. В нашей работе оценено влияние “Тимарина” на оксидантный статус, нитропродуцирующую функцию эндотелия, уровень комплекса ММП-9/ТИМП-1 и кобальт-связывающую способность альбумина у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС.

В ходе проведенного исследования выявлено положительное влияние “Тимарина” на оксидантный статус с увеличением степени антиоксидантной защиты и снижением уровня прооксидантов у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС (табл. 3).

Таблица 3

Показатели общей оксидантной и антиоксидантной активности, комплекса ММП-9/ТИМП-1, изменения нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия, уровня ишемически-измененного альбумина у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС ($M \pm m$)

Показатель	Контроль n=25	До лечения “Тимарином” n=30	После лечения “Тимарином” n=30
1	2	3	4
ОАА, %	10,95 ± 0,37	14,50 ± 0,29 p < 0,001	11,00 ± 0,32 p > 0,05 p ₁ < 0,001
ОАА, %	124,10 ± 1,05	114,20 ± 0,98 p < 0,001	121,10 ± 0,85 p < 0,05 p ₁ < 0,001
Уровень метаболитов NO, мкмоль/л	47,02 ± 0,43	39,94 ± 0,78 p < 0,001	43,70 ± 0,80 p < 0,001 p ₁ < 0,001
МТ, нг/мл	2,77 ± 0,12	5,64 ± 0,16 p < 0,001	4,10 ± 0,24 p < 0,001 p ₁ < 0,001
ИИА, %	80,9 ± 0,56	76,6 ± 0,68 p < 0,001	78,70 ± 0,76 p < 0,05 p ₁ < 0,05
ОИ	0,088 ± 0,004 (0,054-0,122)	0,13 ± 0,004	0,09 ± 0,003

Примечание: n – число наблюдений, p – различия показателей больных и контрольной группы, p₁ – различия показателей больных до лечения и после лечения “Тимарином”.

В основе антиоксидантной активности препарата, очевидно, лежит его свойство выполнять роль перехватчика свободных радикалов. Эхинохром А за счет продуцирования H_2O_2 активирует эндотелиальную NO-синтазу, катализирующую получение NO из аргинина. Нами подтверждено данное свойство “Тимарина”. В группе лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС после приема “Тимарина” в течение 3-х недель отмечалось статистически значимое увеличение в плазме стабильных метаболитов NO на 8 % от исходных значений, приближаясь, таким образом, к показателям контрольной группы ($p < 0,001$).

Эхинохром А за счет ингибирования транспорта аскорбиновой кислоты уменьшает образование в организме норадреналина, обладающего вазоконстрикторным действием, что, следовательно, позволяет говорить об увеличении биодоступности NO и улучшении нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС на фоне приема “Тимарина”. Нами достигнуто улучшение липидного профиля у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС на фоне приема “Тимарина” в виде снижения общего холестерина и снижения уровня ЛПНП. Возможно, что улучшение нитропродуцирующей функции эндотелия связано и с гипополипдемическим действием “Тимарина”.

В нашей работе также оценено влияние “Тимарина” на уровень комплекса ММП-9/ТИМП-1 и кобальт-связывающую способность альбумина. Прием “Тимарина” в течение 3-х недель приводит к улучшению функции межклеточного матрикса и коррекции кобальт-связывающей способности альбумина, в виде уменьшения концентрации комплекса ММП-9/ТИМП-1 на 30 % от исходных значений и увеличения показателя кобальт-связывающей активности альбумина на 2,6 %, что приближается к таковым значениям в контрольной группе и статистически значимо отличается от исходных показателей (табл. 3).

Выявленное нами влияние “Тимарина” на функцию межклеточного матрикса и связывающую способность альбумина важно с точки зрения профилактики скрытой ишемии при развивающемся атеросклерозе, как процессе воспаления с реакцией эндотелия на повреждение.

Анализ полученных результатов позволил выявить взаимосвязь окислительного стресса, выражающегося в угнетении оксидантной активности у больных с прогрессирующим атеросклерозом, со снижением нитропродуцирующей функции эндотелия и повышением воспалительной реакции, достигающей своего пика у больных с инфарктом миокарда. Выявленные взаимосвязи и закономерности подчеркивают значимость изученных систем в развитии эндотелиальной дисфункции и прогрессирующем атеросклерозе, позволяют предложить диагностически значимые маркеры оценки риска, проведения мониторинга и контроля лечения. Возможности метаболической коррекции эндотелиальной дисфункции природным антиоксидантом с кардиопротекторными свойствами у лиц с гиперхолестеринемией и высокого риска прогрессирования ИБС является новым и перспективным направлением в практической кардиологии.

ВЫВОДЫ

1. У лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС, как и у больных с различными формами ИБС, имеется дисбаланс в оксидантном статусе в сторону усиления процессов перекисного окисления липидов и снижения антиоксидантной защиты. Выраженность оксидативного стресса нарастает в ряду “гиперхолестеринемия – стабильная стенокардия – инфаркт миокарда” и свидетельствует в пользу активного участия свободнорадикальных процессов в патогенезе атеросклероза.

2. При анализе нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия выявлено статистически значимое снижение уровня метаболитов NO, начиная с группы лиц с гиперхолестеринемией и нарастая по степени тяжести ИБС (стенокардия-инфаркт миокарда). Выявленное нами снижение уровня метаболитов NO (до $39,9 \pm 0,78$ мкмоль/л, $p < 0,001$) у лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС подтверждает факт развития дисфункции эндотелия задолго до развития клинически значимого атеросклероза.

3. Увеличение концентрации комплекса ММП-9/ТИМП-1, отмеченное уже в группе лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС, ассоциировано с повышением атерогенных липидов. Увеличение уровня ММП-9/ТИМП-1 происходит пропорционально тяжести ИБС, достигая

максимально высоких значений в группе больных с инфарктом миокарда, т.е. данный маркер ремоделинга межклеточного матрикса указывает на степень повреждения сосудистой стенки.

4. Наиболее выраженные изменения кобальт-связывающей способности альбумина обнаруживаются у больных с инфарктом миокарда, при этом более низкие значения ишемически измененного альбумина у больных стабильной стенокардией напряжения являются прогностически неблагоприятными в плане прогрессирования ИБС и развития инфаркта миокарда.

5. Выявленные взаимосвязи между изученными показателями как в группе лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС, так и у больных с различными формами ИБС подтверждают развитие эндотелиальной дисфункции на фоне активации процессов свободно-радикального окисления, снижения нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия с вовлечением в процесс ферментов межклеточного матрикса и снижения кобальт-связывающей способности альбумина.

6. При использовании природного метаболического корректора “Тимарин” у лиц с гиперхолестеринемией при 3-хнедельном курсе лечения отмечена нормализация показателей оксидантного статуса, улучшение функциональной активности альбумина и нитропродуцирующей функции эндотелия, снижение уровня ММП-9/ТИМП-1 на 30% от исходных значений. Эти данные обосновывают целесообразность применения “Тимарина” в группе повышенного риска для ранней профилактики атеросклероза, а также в сочетании с липидкорректирующей терапией у больных ИБС.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Среди лиц с гиперхолестеринемией без клинических проявлений ИБС целесообразно выделять группу повышенного риска развития ИБС по критериям метаболической дисфункции эндотелия и, прежде всего, ишемически измененного альбумина и уровня комплекса ММП-9/ТИМП-1. При увеличении комплекса ММП-9/ТИМП-1 $> 5,64$ нг/мл и снижении ишемически измененного альбумина $< 76,59$ % лиц с гиперхолестеринемией следует отнести к группе риска развития ИБС.

2. Для определения степени эндотелиальной дисфункции рекомендуется определять уровень комплекса ММП-9/ТИМП-1 в плазме крови,

оксидативный индекс, уровень базальной секреции оксида азота и кобальт-связывающую способность сывороточного альбумина.

3. В качестве ранних критериев дестабилизации течения ИБС у больных стабильной стенокардией напряжения 3 ФК рекомендуется определять уровень ишемически измененного альбумина в сочетании с нарушением нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия и уровнем комплекса ММП-9/ТИМП-1. Снижение уровня ишемически измененного альбумина менее 72,46 % при снижении уровня метаболитов NO < 37,48 мкмоль/л и увеличении уровня комплекса ММП-9/ТИМП-1 > 6,81 нг/мл свидетельствует о прогрессирующем течении ИБС и риске развития инфаркта миокарда.

4. У лиц с гиперхолестеринемией без кинических проявлений ИБС рекомендуется проводить раннюю профилактику метаболических нарушений функции эндотелия, оксидантного статуса, ремоделинга межклеточного матрикса природным метаболическим корректором на основе Эхинохрома А “Тимарин” (“Способ коррекции нарушения липидного обмена” патент № 2337696 опубликовано 10.11.2008 Бюл. №31; “Способ коррекции эндотелиальной дисфункции” патент № 2359686 опубликовано 27.06.2009 Бюл. №18).

5. Для характеристики состояния оксидантной системы для лабораторной практики предлагается “Способ оценки оксидантного статуса организма” (патент № 2407450 опубликовано 27.12.2010 Бюл. № 36).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Эндovasкулярные методы лечения у больных со стабильной стенокардией / Е.А. Хлудеева, Н.М. Лупач, В.В. Верин и др. // Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины : тез. докл. VI-й Тихоокеан. науч.-практич. конф. студ. и молодых ученых с междунар. участием Владивосток, 27 апреля 2005 г. / Владивост. гос. мед. ун-т ; отв. ред. Т.Н. Лемешко. – Владивосток, 2005. – С. 56-57.

2. Коррекция оксидантного статуса у больных ишемической болезнью сердца / В.Н. Потапов, Н.М. Лупач, Е.А. Хлудеева и др. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2006. – Т. 5, № 6. – С. 301.

3. Прооксидантные и антиоксидантные системы у больных ишемической болезнью сердца, артериальной гипертонией и влияние статинов на оксидантный статус / Е.А. Хлудеева, В.Н. Потапов, Г.И. Суханова, Н.М. Лупач и др. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2006. – Т. 5, № 6. – С. 410.

4. Влияние антиоксидантного комплекса “Тимарин” на липидный профиль больных ишемической болезнью сердца / Н.М. Лупач, Е.А. Хлудеева, Е.В. Дробитько, И.А. Масло // Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины : тез. докл. VII-й Тихоокеан. науч.-практич. конф. студ. и молодых ученых с междунар. участием Владивосток, 20 апреля 2006 г. / Владивост. гос. мед. ун-т ; ред. С.С. Юдин. – Владивосток, 2006. – С. 68-69.
5. Эндотелиальная дисфункция и ее коррекция у больных ИБС / Е.А. Хлудеева, Н.М. Лупач, Э.А. Сарванова и др. // Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины : тез. докл. VII-й Тихоокеан. науч.-практич. конф. студ. и молодых ученых с междунар. участием Владивосток, 20 апреля 2006 г. / Владивост. гос. мед. ун-т ; ред. С.С. Юдин. – Владивосток, 2006. – С. 77-78.
6. Матриксные металлопротеиназы у больных ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией и влияние статинов / Н.М. Лупач, Е.А. Хлудеева, В.Н. Потапов, П.А. Лукьянов // Человек и лекарство : мат. IV Дальневост. регион. конгресса с междунар. участием, Владивосток, 27-28 сентября 2007 г. / науч. ред. В.Б. Шуматов; сост. В.А. Невзорова, Е.В. Елисеева, Н.М. Кондрашова и др. – Владивосток : Медицина ДВ, 2007. – С. 142–143.
7. Взаимосвязь уровня комплекса матриксная металлопротеиназа-9/тканевой ингибитор-1 с оксидантным статусом / Е.А. Хлудеева, Н.М. Лупач, В.Н. Потапов, П.А. Лукьянов // Человек и лекарство : мат. IV Дальневост. регион. конгресса с междунар. участием, Владивосток, 27-28 сентября 2007 г. / науч. ред. В.Б. Шуматов; сост. В.А. Невзорова, Е.В. Елисеева, Н.М. Кондрашова и др. – Владивосток : Медицина ДВ, 2007. – С. 237.
8. Оксидантный статус и эндотелиальная дисфункция у больных стабильной стенокардией / Н.М. Лупач, В.Н. Потапов, Е.А. Хлудеева, Я. Баофен и др. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – Вып. 25. – 2007. – С. 51-54.
9. Состояние оксидантного статуса и уровень матриксных металлопротеиназ у больных с различными формами ишемической болезни сердца / Е.А. Хлудеева, Н.М. Лупач, В.Н. Потапов и др. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – Вып. 25. – 2007. – С. 71-74.
10. Матриксные металлопротеиназы, оксидантный статус и дисфункция эндотелия у лиц с гиперхолестеринемией и у пациентов с различными формами ишемической болезни сердца / Н.М. Лупач, Е.А. Хлудеева, В.Н. Потапов, П.А. Лукьянов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2010. – № 4. – С. 71-74.
11. Матриксные металлопротеиназы и ишемически измененный альбумин у лиц с гиперхолестеринемией и у больных с различными формами ишемической болезни сердца / Н.М. Лупач, Ю.В. Кулаков, П.А. Лукьянов // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 35-38.

Список патентов.

1. Пат. 2337696 Российская Федерация, МПК А 61 К 35/56, А 61 Р 3/06. Способ коррекции нарушения липидного обмена / Потапов В.Н., Лупач Н.М., Веселкина Е.Ю., Хлудеева Е.А., Артюков А.А., Курика А.В., Козловская Э.П., Рассказов В.А., Долгих С.Н. ; заявители и патентообладатели ГОУ ВПО Владивостокский государственный медицинский университет Росздрава и Тихоокеан. ин-т биоорганической химии ДВО РАН. – № 2007109006/14 ; заявл. 12.03.2006 ; опубл. 10.11.08, Бюл. № 31. – 6 с.

2. Пат. 2359686 Российская Федерация, МПК А61К 35/56, А61Р 9/00. Способ коррекции эндотелиальной дисфункции / Потапов В.Н., Лупач Н.М., Веселкина Е.Ю. и др. ; заявители и патентообладатели ГОУ ВПО Владивостокский государственный медицинский университет Росздрава и Тихоокеан. ин-т биоорганической химии ДВО РАН. – № 2007125205/14 ; заявл. 03.07.2007 ; опубл. 27.06.2009, Бюл. № 18. – 9 с.

3. Пат. № 2407450 Российская Федерация, МПК А61В 10/00, G01N 33/52. Способ коррекции оксидантного статуса организма / Лукьянов П.А., Потапов В.Н., Лупач Н.М., Веселкина Е.Ю., Хлудеева Е.А. ; заявители и патентообладатели ГОУ ВПО ВГМУ Росздрава, Тихоокеан. ин-т биоорганической химии ДВО РАН. – № 2009129981/14 ; заявл. 04.08.2009 ; опубл. 27.12.2010, Бюл. № 36. – 6 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИИА – ишемически измененный альбумин

ИМ – инфаркт миокарда

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ММП – матриксные металлопротеиназы

ММП-9/ТИМП-1 – комплекс матриксная металлопротеиназа-9/тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы-1

ОАА – общая антиоксидантная активность

ОИ – оксидативный индекс

ООА – общая оксидантная активность

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СН – стабильная стенокардия

ФК – функциональный класс

H₂O₂ – перекись водорода

NO – оксид азота

**ЛУПАЧ
НАТАЛЬЯ МИХАЙЛОВНА**

**МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС У
ЛИЦ С ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ И У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ
ФОРМАМИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА**

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Подписано к печати 22.07.2011 г.
Формат 60x90/16. Печать офсетная.
Усл. п. л. 1,0. Уч.-изд. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ 204

Отпечатано в типографии издательства «Дальнаука» ДВО РАН
690041, г. Владивосток, ул. Радио, 7