

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ АВТОНОМНОЙ КАРДИАЛЬНОЙ НЕЙРОПАТИЕЙ

М. Е. Стаценко, С. В. Туркина, С. С. Шалаева, Г. П. Дудченко

Волгоградский государственный медицинский университет

В статье описаны особенности перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной защиты у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и диабетической автономной кардиальной нейропатией.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, хроническая сердечная недостаточность, диабетическая автономная кардиальная нейропатия.

SPECIFICS OF LIPID PEROXIDATION AND ENZYMATIC ACTIVITY IN ANTIOXIDANT PROTECTION IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE AND AUTONOMOUS DIABETIC CARDIAL NEUROPATHY

M. E. Statsenko, S. V. Turkina, S. S. Shalaeva, G. P. Dudchenko

The paper describes the specifics of lipid peroxidation and enzymatic activity in antioxidant protection in patients with chronic heart failure and autonomous diabetic cardiac neuropathy.

Key words: lipid peroxidation, chronic heart failure, autonomous diabetic cardiac neuropathy.

Как хроническая сердечная недостаточность (ХСН), так и сахарный диабет типа 2 (СД 2) являются распространенными, прогрессирующими и прогностически неблагоприятными заболеваниями, представляющими собой серьезную проблему для здравоохранения всех стран мира. По данным эпидемиологических исследований, в 2002 г. в России насчитывалось 8,1 млн человек с четкими признаками ХСН [1], и, по данным государственного регистра России от 01.01.2011, 3,357 млн больных СД 2, а приблизительно еще 6 млн россиян имеют СД, но не знают об этом, и, следовательно, не получают лечения [2].

В настоящее время получены доказательства отчетливой причинно-следственной связи между двумя рассматриваемыми заболеваниями и достоверного ухудшения прогноза при их сочетании. СД 2 является одним из факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний вообще и ХСН в частности [1], увеличивая ее частоту до 15—30 %. Это связано с непосредственным влиянием метаболических нарушений, присущих СД на состояние сердечной мышцы, что приводит к возникновению «метаболического ремоделирования» миокарда и нарушению функции левого желудочка, даже в отсутствии артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца. Кроме того, важную роль в формировании дисфункции сердца играют присущие СД микро- и макроангиопатии, нейропатия и, прежде всего, автономная кардиальная нейропатия (АКН), распространенность которой, по данным различных эпидемиологических исследований, варьирует от 20 до 65 %, увеличиваясь с возрастом пациента и длительностью диабета. Сочета-

ние АКН и ХСН у больных СД не только способствует возникновению преимущественно диастолической сердечной недостаточности, но и ухудшает прогноз для жизни, увеличивает риск внезапной смерти вследствие фатальных нарушений ритма, безболевого инфаркта миокарда, апноэ во сне, «кардиореспираторных арестов».

В основе формирования АКН лежат как сосудистые (роль которых возрастает с возрастом), так и метаболические нарушения (гиперинсулинемия, неадекватный гликемический контроль, процессы избыточного гликирования, активизация полиолового пути, нарушение обмена свободных жирных кислот, развитие гипертриглицеридемии, дисфункции эндотелия). Но особую роль в патогенезе развития АКН играет оксидативный стресс, развивающийся при нарушении равновесия между свободными радикалами и активностью антиоксидантных ферментов, сниженной при СД. С другой стороны, неоспоримым в настоящее время является и тот факт, что наряду с активацией нейрогормонов важная роль в патогенезе ХСН также принадлежит интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), опосредованным иммуновоспалительными реакциями с повышенной экспрессией провоспалительных цитокинов. Таким образом, по данным литературы, не вызывает сомнения важная роль окислительного стресса в формировании как АКН [10], так и ХСН, однако в доступной литературе мы не встретили результатов оценки особенностей нарушений процессов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов у больных ХСН ишемического генеза с АКН.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить особенности ПОЛ и активности ферментов антиоксидантной защиты у пациентов с ХСН и диабетической АКН.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование носило сравнительный характер в параллельных группах. Обследовано 98 пациентов в возрасте 45—70 лет с СД 2, целевыми уровнями гликозилированного гемоглобина в соответствии с рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов 2011 [2] и ХСН II—III функционального класса (ФК) по классификации ОССН (2002) в раннем постинфарктном периоде (4-я неделя от развития инфаркта миокарда с зубцом Q или без него). Все больные получали базисную терапию ХСН эналаприлом, бисопрололом, аспирином и клопидогрелем, симvastатином, при необходимости назначались диуретики и антагонисты альдостерона, нитраты. Для коррекции нарушений углеводного обмена использовались глибенкламид ± метформин. После проведения клинико-лабораторного обследования было сформировано 2 группы больных. Пациенты основной — 1-й группы ($n = 68$) имели признаки АКН различной степени тяжести (начальное, несомненное, грубое поражение, атипичная форма) [8]. Контрольная — 2-я группа ($n = 30$) была представлена пациентами с ХСН и СД 2 без признаков АКН. Группы больных были сопоставимы по возрасту, характеру проводимой базисной и гипогликемизирующей терапии. Исходная характеристика групп больных представлена в табл. 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика групп больных

Параметр	Первая группа (ХСН и СД, с АКН)	Вторая группа (ХСН и СД, без АКН)
Количество больных	68	30
Возраст, лет	62,23 ± 1,40	61,3 ± 1,5
Мужчины / женщины	17/51	13/17
Длительность ГБ, лет	14,8 ± 0,9	14,6 ± 1,1
Длительность СД, лет	6, 13 ± 1,30	5,4 ± 1,6
Длительность ИБС (стенокардии), лет	5,9 ± 1,8	5,8 ± 2,0
ИМ с зубцом Q / без зубца Q	16/52	6/24
ИМТ, кг/м ²	31,2 ± 0,8	32,3 ± 1,2
Гликозилированный гемоглобин, %	7,65 ± 0,80	7,57 ± 0,70
ФК по NYHA, баллы	2,34 ± 0,30	2,19 ± 0,10
Дистанция 6-минутной ходьбы, м	335,08 ± 11,40	362,5 ± 13,4
ЧСС, мин.	70,3 ± 1,2*	66,3 ± 1,2
САД, мм рт. ст.	124,1 ± 6,6	124,05 ± 6,30
ДАД, мм рт. ст.	74,02 ± 4,59	70,78 ± 5,10
Средняя доза эналаприла, мг	15,2 ± 2,0	18,1 ± 2,3
Средняя доза бисопролола, мг	7,2 ± 1,7	7,6 ± 1,9
Средняя доза аспирина, мг	110,4 ± 4,3	103,6 ± 3,8

Окончание таблицы 1

Параметр	Первая группа (ХСН и СД, с АКН)	Вторая группа (ХСН и СД, без АКН)
Средняя доза симvastатина, мг	14,2 ± 2,3	13,9 ± 3,1
Средняя доза глибенкламида, мг	10,2 ± 3,4	8,2 ± 3,0
Средняя доза метформина, мг	994,0 ± 27,2	1050,0 ± 25,4

*Достоверность различий между группами $p < 0,05$.

Для верификации ФК ХСН были использованы критерии ОССН (2002) и тест с шестиминутной ходьбой (ТШХ). Диагноз автономной кардиальной нейропатии верифицировали на основании тестов Ewing D. J. (1998). Состояние антиоксидантной системы (АОС) обследуемых оценивали путем определения активности антиоксидантных ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза) в эритроцитах и плазме крови. Активность каталазы (КТ) в эритроцитах (Er) определяли методом М. А. Королук (1988) с соавт. [4], активность супероксиддисмутаза (СОД) — методом В. А. Костюк с соавт. (1990) [5]. ПОЛ оценивали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА). ДК определяли модифицированным методом Z. Placer, et al. (1976) [3], МДА модифицированным методом И. Д. Стальной (1977) [6].

Статистическую обработку результатов проводили методами параметрической и непараметрической статистики. Статистически значимыми считали отклонения при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все пациенты, включенные в исследование, имели клинические проявления ХСН, при этом статистически значимых различий по ФК ХСН между группами не выявлено, что нашло отражение в результатах ТШХ: (335,08 ± 11,4) м vs (362,5 ± 13,4) м в 1-й и 2-й группах соответственно. Однако среди пациентов 1-й и 2-й группы были выявлены определенные различия: в группе пациентов с ХСН и АКН отмечена достоверная отрицательная корреляция средней силы между показателями теста Шелонга (оценка активности симпатической нервной системы) и ФК ХСН ($r = -0,65$, при $p < 0,05$) и пробой ЧСС max — ЧСС min уд/мин по ЭКГ при дыхании (оценка активности парасимпатической нервной системы) ($r = -0,6$, при $p < 0,05$), что может свидетельствовать о вкладе повышения активности симпатической и снижении активности парасимпатической нервной системы в формирование тяжести ХСН.

Оценка показателей ПОЛ у больных ХСН и СД 2 выявила отчетливую активацию процессов ПОЛ у пациентов как первой, так и второй группы (табл. 2). Следует отметить, что у пациентов с ХСН и СД с АКН отмечен достоверно более высокий уровень содержания вторичных (МДА) продуктов пероксидации. Средние значения содержания ДК в плазме крови больных ХСН и СД 2 с АКН составили

(0,41 ± 0,02) ед. ($p > 0,05$), МДА — (7,18 ± 0,35) ммоль/л vs (6,17 ± 0,3) ммоль/л ($p < 0,05$) соответственно. По данным литературы, именно МДА (а не ДК) является одним из ранних биологических маркеров окислительного стресса из группы продуктов окислации [91]. Увеличение уровня МДА может быть следствием нарушений в ферментативных механизмах антиоксидантной защиты.

В проведенном исследовании было отмечено достоверное снижение активности КТ и повышение активности СОД как в 1-й, так и во 2-й группе больных (табл. 2). Однако, следует отметить, что в группе больных ХСН и СД 2 с АКН выявлены достоверно более высокие показатели активности СОД.

Таблица 2

Показатели ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов у больных ХСН и СД 2

Показатель	Первая группа	Вторая группа	Δ %
ДК, ед. А/мл	0,41 ± 0,02	0,38 ± 0,01	-7,32
МДА, ммоль/л	7,18 ± 0,30	6,17 ± 0,30	-14,07
Каталаза Ег, мкмоль/Н ₂ О ₂ /мл мин	574,68 ± 12,00	607,81 ± 9,00	5,76
СОД Ег, % ингибиции	38,9 ± 1,2	43,0 ± 0,9	10,57

*Достоверность различий между первой и второй группой, где $p < 0,05$.

Для многих ферментов, в том числе для супероксиддисмутазы и каталазы, характерно явление перекрестной регуляции активности. Для каталазы супероксидный анион-радикал является отрицательным эффектором, а Н₂О₂ — положительным, для СОД — наоборот. Выявленное разнонаправленное изменение активности этих двух ферментов позволяет предположить в первую очередь смещение соотношения активных форм кислорода в клетке, а именно Н₂О₂ и супероксидного анион-радикала в сторону последнего. Вместе с тем, количество Н₂О₂ в группах больных с ХСН и СД 2 может превышать содержание этого показателя у здоровых лиц вследствие снижения активности каталазы. Накопление супероксидного анион-

радикала и Н₂О₂ в свою очередь приводит к инициации ПОЛ, о чем свидетельствует накопление промежуточных и конечных продуктов окислации, отмеченное нами в группе больных с ХСН и СД 2 с АКН. Кроме того, согласно данным литературы, такого типа разнонаправленное изменение активности обсуждаемых ферментов антиоксидантной защиты характерно для гипоксии [7]. Существует мнение о том, что восстановление пероксида водорода может служить дополнительным источником молекулярного кислорода [7]. Каталаза, выполняя антиоксидантную функцию, компенсаторно повышает коэффициент полезного использования экзогенного кислорода в энергетических целях вследствие частичного возвращения в метаболические цепи окислительного фосфорилирования того молекулярного кислорода, который восстанавливается в организме по одноэлектронному пути. Поэтому отмеченное нами в исследовании снижение активности каталазы можно расценить как признак нарастающих гипоксических изменений.

В ходе исследования была проведена оценка показателей, характеризующих состояние ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в зависимости от степени тяжести АКН. С этой целью все пациенты, имеющие клинические признаки АКН, по степени тяжести были разделены на следующие подгруппы по Ewing D. J. (1985) [8]: *начального поражения* (результаты одного из трех «ЧСС-тестов» положительные или результаты двух тестов положительные) ($n = 9$), *несомненного поражения* (результаты двух или более «ЧСС-тестов» положительные) ($n = 8$), *грубого поражения* (положительные результаты двух или более «ЧСС-тестов» плюс положительные результаты одного или двух «АД-тестов» или пограничные результаты обоих «АД-тестов») ($n = 31$), *атипичный вариант* (любая другая комбинация положительных результатов тестов) ($n = 18$). Показатели кардиоваскулярных тестов по D. Ewing у больных с ХСН и СД 2, в зависимости от тяжести АКН, представлены в табл. 3.

Полученные результаты свидетельствуют о нарастании выраженности дисбаланса между процессами ПОЛ и нарушениями активности антиоксидантных ферментов по

Таблица 3

Показатели кардиоваскулярных тестов по D. Ewing у больных с ХСН и СД типа 2, в зависимости от тяжести АКН

Параметр	Норма	Начальная стадия	Несомненное поражение	Грубое поражение	Атипичная форма
Соотношение 30:15	>1,04	1,05 ± 0,20	1,03 ± 0,30	1,0 ± 0,1	1,06 ± 0,30
ЧСС max-ЧСС min уд/мин по ЭКГ при дыхании (разница уд/мин)	>15	13,11 ± 1,00	12,88 ± 1,30	10,68 ± 1,10	15,17 ± 1,02 [#]
Проба Вальсальвы (коэффициент)	>1,21	1,23 ± 0,20	1,15 ± 0,20	1,11 ± 0,40**	1,26 ± 0,30
АД при изотонической нагрузке, мм рт. ст. (ДАД)	>15	18,0 ± 1,0	15,88 ± 0,80*	11,39 ± 0,90***	16,06 ± 0,70 [#]
Ортоstaticкая проба Шелонга, мм рт. ст. (САД)	>20	12,22 ± 1,70	18,63 ± 1,50*	21,13 ± 2,08**	14,61 ± 1,80 [#]

*Достоверность различий между начальным и несомненным поражением; **достоверность различий между начальным и грубым поражением; ***достоверность различий между несомненным и грубым поражением; [#]достоверность различий между грубым поражением и атипичным вариантом, где $p < 0,05$.

мере утяжеления АКН (табл. 4). По мере утяжеления АКН отмечается нарастание содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ — ДК и МДА, снижения активности КТ, а также уменьшение изначально высокой активности СОД эритроцитов (исключение составляет атипичный вариант АКН), что может свидетельствовать об истощении компенсаторных возможностей антиоксидантной системы.

Проведенный корреляционный анализ выявил зависимость между уровнем содержания продуктов ПОЛ и активностью ферментов антиоксидантной защиты и ФК ХСН, а также степенью выраженности клинических симптомов АКН, свидетельствующих о вовлеченности в патологический процесс симпатической и парасимпатической нервной системы. Были отмечены корреляционные взаимосвязи слабой силы между активностью каталазы и ФК ХСН ($r = 0,38$ при $p < 0,05$).

В группе больных с начальными проявлениями АКН достоверных корреляционных взаимоотношений между показателями ПОЛ, АОС и кардиоваскулярными тестами выявлено не было. В группе больных с несомненным поражением отмечены достоверные прямые связи средней силы между содержанием ДК и пробой Вальсальвы ($r = 0,65$ при $p < 0,05$), ортостатической пробой Шелонга и активностью КТ ($r = 0,68$ при $p < 0,05$). В группе с грубым поражением выявлена достоверная прямая связь умеренной силы между содержанием ДК и показателями пробы «соотношение 30:15» ($r = 0,39$ при $p < 0,05$).

Таким образом, полученные результаты подтверждают важную патогенетическую роль процессов

ПОЛ и нарушений активности антиоксидантных ферментов в формировании диабетической автономной кардиальной нейропатии у больных с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза, а также являются обоснованием для использования препаратов миокардиальной цитопротекции антиоксидантного действия в комбинированной терапии ХСН у пациентов СД типа 2 и автономной кардиальной нейропатией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У больных ХСН и СД 2 с АКН отмечено более высокое содержание как первичных, так и вторичных продуктов липопероксидации — диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, а также дисбаланс активности антиоксидантных ферментов — повышение активности супероксиддисмутазы и снижение активности каталазы по сравнению с пациентами с ХСН и СД 2 без проявлений АКН.

2. Отмеченные у больных с ХСН и СД 2 с АКН нарушения активности антиоксидантных ферментов и накопление продуктов ПОЛ нарастают по мере утяжеления автономной кардиальной нейропатии.

3. У больных с ХСН и СД 2 с автономной кардиальной нейропатией ФК ХСН коррелирует с клиническими проявлениями дисбаланса симпатической и парасимпатической нервной системы.

4. Снижение активности каталазы у больных с ХСН и СД 2 и АКН коррелирует с ФК ХСН.

Таблица 4

Состояние ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов у больных ХСН и СД в зависимости от степени тяжести АКН

Показатель	Начальное поражение	Несомненное поражение	Грубое поражение	Атипичный вариант
ДК, ед. А/мл	0,35 ± 0,01	0,36 ± 0,02	0,40 ± 0,02* ^{##}	0,47 ± 0,05 ^{###}
МДА, ммоль/л	6,80 ± 0,12	6,92 ± 0,20	7,33 ± 0,18*	7,28 ± 0,15 ^{##, ###}
КТ Ег, мкмоль/Н ₂ О ₂ /мл мин	583,98 ± 7,40	578,13 ± 5,00	559,09 ± 10,40*	594,3 ± 5,1
СОД Ег, % ингибиции	42,08 ± 0,70	39,86 ± 0,60	36,16 ± 0,90*	41,19 ± 0,40*

*Достоверность различий между начальным и грубым поражением; ^{##}достоверность различий между грубым поражением и атипичным вариантом; ^{###}достоверность различий между начальным поражением и атипичным вариантом, где $p < 0,05$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агеев Ф. Т., Даниелян М. О., Мареев В. Ю. и др. // Сердечная недостаточность. — 2004. — № 5 (1). — С. 4—7.
2. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. 5-й выпуск // Сахарный диабет. — 2011. — № 3 (прил.). — 72 с.
3. Камышников В. С. Система «перекисное окисление липидов — антиоксидантная защита организма». Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник. — Т. 2., 2-е изд. — Минск, 2003. — С. 195—211.
4. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарева В. Е. // Лабораторное дело. — 1988. — № 1. — С. 16—19.
5. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. // Вопросы медицинской химии. — 1990. — № 2. — С. 88—91.
6. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбиту-

ровой кислоты. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. — М., 1977. — С. 66—68.

7. Сторожук П. Г. // Вестник интенсивной терапии. — 2003. — № 3. — С. 8—13.

8. Ewing D. J., Martyn C. N., Young R. J., et al. // Diabetes Care. — 1985. — № 8. — С. 491—498.

9. Hwang E. S., Kim G. H. // Toxicology. — 2007. — № 229. — С. 1—10.

10. Schultz J. J., Harris A. K., Rychly D. J., et al. // Cardiovascular diabetology. — 2005. — Vol. 4 (1). — P. 5.

Контактная информация

Стаценко Михаил Евгеньевич — д. м. н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней педиатрического и стоматологического факультетов, ВолГМУ, e-mail: mestatsenko@rambler.ru