

Л. Б. Ким, А. Н. Лайвин, Г. А. Березовская, Л. П. Цыба, И. И. Котова, В. Ю. Куликов

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ И АКТИВНОСТЬ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА У БОЛЬНЫХ В ПРОЦЕССЕ РАННЕГО ПОСТИНФАРКТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
Муниципальная больница скорой медицинской помощи № 2, Новосибирск

При обследовании больных острым инфарктом миокарда и нестабильной стенокардией выявлено повышенное содержание гликозаминогликанов в сыворотке крови, отражающее в первые сутки госпитализации глубину повреждения миокарда, в последующие – скорость и выраженность репаративного процесса после ишемии и некроза миокарда. В процессе лечения отмечалась тенденция к снижению уровня гликозаминогликанов у больных инфарктом миокарда, не достигающая значений контрольной группы. У больных с нестабильной стенокардией уровень гликозаминогликанов и активность церулоплазмина оставались повышенными во все сроки наблюдения. Динамика активности церулоплазмина у больных инфарктом миокарда в процессе лечения зависела от клинической формы: при трансмуральном инфаркте наблюдалось повышение, при крупноочаговом – снижение активности.

Таким образом, можно полагать, что развитие осложнений инфаркта миокарда на этапе раннего постинфарктного ремоделирования левого желудочка может зависеть от интенсивности и скорости синтеза гликозаминогликанов.

Ключевые слова: гликозаминогликаны, церулоплазмин, инфаркт миокарда

Современное представление о ремоделировании миокарда значительно расширилось в связи с приходом эры ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента в кардиологии. Ремоделирование – сложный процесс, происходящий в миокарде после его повреждения вследствие ишемии и некроза, воспаления, интоксикации. В благоприятном варианте течения ремоделирование обеспечивает приближение (восстановление) прежних структурно-геометрических размеров левого желудочка, в других случаях – патологических – развитие сердечной недостаточности, миокардиальной дисфункции, формирование аневризмы вплоть до разрывов миокарда. Клинические аспекты постинфарктного ремоделирования миокарда широко изучаются в последние годы [1, 15, 22], тогда как патофизиологические механизмы процесса ремоделирования, особенно в ранние сроки инфаркта миокарда (ИМ), его детерминанты до сих пор остаются неясными. Максимальные нарушения сократительной и насосной функций миокарда левого желудочка развиваются в первые трое суток заболевания, а изменение геометрии левого желудочка в виде его дилатации и нарастания сферичности происходит с 5–7 суток [10]. Не вызывает сомнения, что основную нагрузку в процессе ремоделирования несет внеклеточный матрикс (ВМ), который обеспечивает репаративный фиброз после ишемии и некроза либо реактивный фиброз при старении и синдроме артериальной гипертензии. Во всех случаях обязательно участвуют структурные, адгезивные белки, гликозаминогликаны (ГАГ) и протеоглики ВМ, а триггерным

моментом для запуска сложной системы регуляции протеазно-антипротеазной активности является гибель ишемизированных и некротизированных кардиомиоцитов.

В процессах ингибирования и дезактивации ферментов, освобождающихся при деструкции тканей и клеток, участвуют белки острой фазы. Среди них церулоплазмин (ЦП), относящийся к группе “поздних реактантов”, занимает особое положение, поскольку защитная функция его многогранна и связана, в первую очередь, с антирадикальной способностью белка ингибировать активные кислородные метаболиты [17, 20, 23], предупреждать аутоокисление липидов в разрушенных мембранах клеток. В то же время известно, что в определенной концентрации ЦП способен окислять ЛПНП, проявляя тем самым свойства прооксиданта [6, 18]. Принято считать, что повышенное содержание ЦП является индикатором острофазового ответа и в определенной степени при ИМ может отражать интенсивность деструктивного процесса и размеры очага некроза.

В связи со сказанным цель настоящей работы заключается в оценке содержания гликозаминогликанов и активности церулоплазмина у больных с различными формами ишемической болезни сердца (инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия).

Методика. Обследовались 52 больных острым инфарктом миокарда (ОИМ) в возрасте от 32 до 72 лет (средний возраст $54,0 \pm 1,0$). Среди них 9 женщин. У 16 больных диагностировали трансмуральный ИМ, 40 – крупноочаговый ИМ, 6 – мелкооча-

говый ИМ. Группу контроля составили практически здоровые люди от 34 до 56 лет без клинических признаков ишемической болезни сердца (ИБС), группу сравнения – мужчины с нестабильной стенокардией от 60 до 78 лет (средний возраст $71,3 \pm 1,17$).

Верификация клинического диагноза проводилась в соответствии с рекомендациями ВОЗ на основании типичного ангинозного приступа, характерных изменений данных ЭКГ, эхокардиоскопии, положительного тропонинового теста и результатов оценки активности ряда ферментов, биохимических маркеров некроза миокарда (АСТ, АЛТ, КФК, МВ-КФК).

Кровь для исследования забирали из локтевой вены в первые трое суток, 10–12-е сутки пребывания в стационаре и перед выпиской. Содержание гликозаминогликанов (ГАГ, ммоль/л) оценивали орциновым методом [5]. В работе использовали орцин (Merck), галактозу и маннозу (Fluka). Определение активности церулоплазмينا (ЦП, мг/л мин, КФ 1.16.3.1) в сыворотке крови проводили по Н. Ravin [21] в собственной модификации [4] с использованием р-фенилендиамина (Германия) в качестве субстрата окисления. Ферментативную реакцию останавливали добавлением фтористого натрия (Sigma).

Статистическая обработка материала с использованием t-критерия Стьюдента производилась с помощью программы «Excel-95».

Результаты. Из табл. 1 следует, что максимальные значения ГАГ у больных обнаружены в первые трое суток со снижением к 10–12-м сут наблюдения. Однако перед выпиской из стационара уровень

ГАГ не приходит к норме практически здоровых людей ни у больных с нестабильной стенокардией, ни ОИМ. Перед выпиской уровень ГАГ был более чем в 2 раза выше значений контрольной группы. По данным И.В. Неверова и Н.И. Титоренко [8], у больных ИМ на 28-е сутки уровень ГАГ был в 1,5 раз выше по сравнению с дозорами.

Надо заметить, что при нестабильной стенокардии и крупноочаговом ИМ содержание ГАГ в процессе лечения достоверно не меняется, в то время как в группе больных трансмуральным ИМ наблюдается достоверное снижение ГАГ перед выпиской.

На этапе раннего постинфарктного ремоделирования миокарда происходит не только снижение уровня ГАГ, но и, как показывают результаты морфологических исследований в эксперименте на животных [7], смена одних форм ГАГ другими. При окклюзии средней трети венечных сосудов у собак в первые часы в строме обнаруживали периваскулярный и интерстициальный отек. Через 12 часов изменения касались в основном коллагеновых волокон: они становились рыхлыми и объемными. На вторые сутки в строме миокарда в очагах некробиоза усиливались гемодинамические нарушения в виде отека и кровоизлияний. В коллагеновых волокнах и в стенке венечной артерии дистальнее окклюзии выявляли накопление кислых ГАГ в виде гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфата-С (хондроитин-6-сульфат); при этом фибробластическая реакция не отмечалась. По мнению авторов, происходило не накопление ГАГ, а их топомическое перераспределение в связи с нарушением структуры белково-полисахаридного комплекса. Выявление “свободных” кислых ГАГ в строме поврежденных мышечных волокон свидетельствовало о глубоких необратимых дистрофических и некробиотических изменениях паренхимы в результате локальной гипоксии миокарда.

Лишь на 4–6-е сутки в поврежденных участках миокарда отмечали фибробластическую реакцию с образованием грануляционной ткани [7]. В этот период между некротизированными мышечными волокнами увеличивалось содержание ГАГ в основном за счет хондроитинсульфата-С (хондроитин-6-сульфат) и вкрапления хондроитинсульфата-В (дерматан-сульфат). Наличие гиалуроновой кислоты авторы не отмечали. Очевидно, уменьшение содержания гиалуроновой кислоты может быть связано с активацией синтеза более сложных соединений, протеогликановых агрегатов, в молекуле которых она служит остовом. На 6–8-е сутки наблюдалось усиление фибробластической реакции с появлением других клеток ВМ со значительным увеличением кислых сульфатированных ГАГ, представленных в основном хондроитинсульфатом-В (дерма-

Таблица 1

Содержание гликозаминогликанов у больных различными формами ишемической болезни сердца ($M \pm m$)

Показатель	ГАГ, (ммоль/л)		
Сроки исследования, сут	1–3	10–12	21–25
1. Практически здоровые люди (n=28)	0,77±0,07		
2. Больные с нестабильной стенокардией (n=22)	2,48±0,46	2,79±0,33	2,39±0,39
3. Больные с трансмуральным инфарктом миокарда (n=16)	4,74±0,74	3,38±0,66	2,07±0,52
4. Больные с крупноочаговым инфарктом миокарда (n=40)	2,83±0,32	2,84±0,31	2,56±0,56
p1–2	<0,001	<0,001	<0,001
p1–3	<0,001	<0,001	<0,05
p1–4	<0,001	<0,001	<0,01
p2–3	<0,05		
p3–4	<0,05		

тан-сульфат). Авторами продемонстрирована временная связь между количеством хондроитинсульфата-В (дерматан-сульфата) и пролиферацией клеток ВМ, которая оценивалась по содержанию РНК, ДНК, ГАГ и формированием первых коллагеновых волокон. В последующем образование рубца миокарда происходит путем склерозирования грануляционной ткани, причем вначале образуются аргирофильные волокна, затем они коллагенизируются. На 10–12-е сут количество сульфатированных ГАГ снижалось по сравнению с периодом интенсивного коллагеногенеза. На 15–20-е сутки по мере завершения процессов коллагенообразования и созревания рубца количество ГАГ продолжало уменьшаться. На 30-е сутки формирование рубцовых очагов, построенных на базе грануляционной ткани, заканчивалось.

Следует подчеркнуть то обстоятельство, что экспериментальные данные получены при окклюзии коронарных сосудов у здоровых животных, однако общая тенденция к снижению уровня ГАГ у больных с патологически измененными сосудами и животных с интактными сосудами сохраняется.

В течение заболевания принято выделять воспалительный, экссудативно-пролиферативный периоды [3], а в последние годы – период формирования постинфарктного рубца [2]. Такое выделение периодов может иметь место, однако оно не отражает сущности сложного процесса восстановления структуры тканей ВМ и миокардиоцитов, включающего смену синтеза одних форм ГАГ другими, участие тканевого и циркулирующего фибронектина. При этом не учитывается важный момент, что формирование рубцовой ткани начинается, как показывают экспериментальные исследования [27], со вторых суток после окклюзии сосудов на фоне ингибирования активности металлопротеиназ и активации тканевых ингибиторов металлопротеиназ. Вероятно, смена гиалуроновой кислоты на хондроитинсульфат-С (хондроитин-6-сульфат) а в последующем – хондроитинсульфат-В (дерматан-сульфат) связана с различной ролью этих ГАГ в динамике репаративного фиброза.

У больных ИМ в первые трое суток отмечен высокий уровень ГАГ, представленный, согласно экспериментальным данным, гиалуроновой кислотой – одним из двух известных представителей несulfатированных ГАГ. Известно, что гиалуроновая кислота предотвращает образование спаек, грубых рубцов [9], нормализует кровоснабжение [24], обладает противоотечным действием и вследствие этого вызывает снижение болевых ощущений [13]. Гиалуронан и богатый им протеогликан верзикан могут способствовать миграции и митозу путем ослабления клеточно-поверхностной адгезии и влиять на клеточную форму, несмотря на стерическое исключение и вязкостные способности гиалуронан-протеогликановых гелей [19]. Сле-

дует заметить, что максимальные нарушения сократительной и насосной функций левого желудочка [10] совпадают с наиболее высоким содержанием ГАГ.

Неожиданными оказались, на первый взгляд, данные об отсутствии различий по уровню ГАГ у больных с нестабильной стенокардией и крупноочаговым ИМ. Однако, как показывают исследования И. М. Сычевой с соавт. [12], это явление может иметь место. Так, у больных ИБС хронического течения без ИМ обнаружены данные, свидетельствующие о возможности некроза ткани миокарда при кратковременных, но повторных нарушениях коронарного кровотока. В миокарде при ИБС без ОИМ патоморфологи обнаруживают мелкоочаговые фиброзные изменения, которые могут быть следствием мелкоочаговых некрозов. Кроме того, методом сцинтиграфии с пирофосфатом, меченным ^{99m}Tc , позволяющим проводить прижизненные исследования некротических процессов в сердечной мышце, выявлено повышенное поглощение и накопление пирофосфата кардиомиоцитами. Известно, что пирофосфат поступает в кардиомиоциты вследствие нарушения проницаемости мембран и соединяется внутри клеток с ионом Ca , количество которого в необратимо поврежденных клетках резко увеличивается. У больных ИБС без ИМ находили доказательства необратимого повреждения кардиомиоцитов в местах накопления пирофосфата. Но пирофосфат может накапливаться не только при некрозе, но и при ишемии.

Этими же авторами в хроническом опыте у животных с коронарной недостаточностью (10–15 мин пережатие через 2–3 дня) в препаратах сердец у собак выявляли очажки некроза различной степени давности. В окружности одних очажков была клеточная реакция с наличием инфильтратов лимфоцитов и плазматических клеток, вокруг других – преобладали фибробласты. Старые очаги некроза подверглись организации с развитием соединительной ткани и участками обызвествления.

Таким образом, несмотря на отсутствие острого ИМ у больных с нестабильной стенокардией различий в содержании ГАГ, важного компонента ВМ, выполняющего не только структурную, трофическую, репаративную функции [11], но и, как показано в экспериментальных исследованиях [16], обеспечивающего антиоксидантную, антирадикальную защиту клеток, в сравнении с группой больных крупноочаговым ИМ не выявлено. Максимально высокое содержание ГАГ, превышающее более чем в 5 раз контрольные значения, выявлено у больных трансмуральным ИМ.

Реакция ВМ на ишемию и некроз при крупноочаговым ИМ и нестабильной стенокардией по уровню ГАГ однонаправлена и не отличается по интенсивности. Оценка острофазного белка ЦП,

отражающего активность деструктивных процессов, подтвердила это положение (табл. 2).

Активность ЦП повышена у всех больных независимо от наличия или отсутствия ИМ. Если у больных с нестабильной стенокардией активность ЦП существенно не меняется в процессе лечения, оставаясь достоверно высокой, то у больных ИМ динамика активности зависит от клинической формы ИМ. При трансмуральной форме ИМ отмечалась тенденция к росту активности, при крупноочаговой – к снижению, однако она не достигала контрольных значений. В то же время есть данные о нормализации содержания ЦП у больных ОИМ через 4 недели лечения [14, 25]. Это обстоятельство свидетельствует о важности оценки активности фермента, а не концентрации.

Стабильно высокая активность ЦП при нестабильной стенокардии связана, во-первых, непосредственно с хронической коронарной недостаточностью, во-вторых, – с возрастом больных, так как эту группу составили мужчины со средним возрастом 71 год. Известно, что у людей старше 65 лет снижение активности ферментов антиоксидантной защиты может компенсироваться увеличением ЦП [26], отражая характер мобилизации в системе антиоксидантной защиты.

Заключение. У больных острым инфарктом миокарда и нестабильной стенокардией выявлено повышенное содержание гликозаминогликанов в сыворотке крови. В первые сутки госпитализации оно отражает глубину повреждения миокарда, в последующие – скорость и выраженность репаративного процесса. В ходе лечения отмечалась тенденция к снижению уровня гликозаминогликанов

у больных инфарктом миокарда. У больных с нестабильной стенокардией уровень гликозаминогликанов и активность церулоплазмينا оставались повышенными во все сроки наблюдения.

Динамика активности церулоплазмينا у больных инфарктом миокарда в процессе лечения зависела от размеров повреждения миокарда: при трансмуральном инфаркте наблюдалось повышение, при крупноочаговом – снижение активности.

Можно предположить, что развитие осложнений инфаркта миокарда на этапе раннего постинфарктного ремоделирования левого желудочка зависело от интенсивности и скорости синтеза гликозаминогликанов.

DYNAMICS OF GLYCOSAMINOGLYCANS CONTENT AND CERULOPLASMIN ACTIVITY IN PATIENTS AT EARLY POSTINFARCTION REMODULATION OF THE LEFT VENTRICLE OF HEART

L.B. Kim, A.N. Laivin, G.A. Berezovskaya, L.P. Tsyba, I.I. Kotova, V.Yu. Kulikov

An increased glycosaminoglycans content in blood serum, showing the degree of myocardial damage during the first days of admission and the velocity and evidence of reparative process after myocardial ischemia and necrosis during the following days has been revealed at, examination of patients with acute myocardial infarction and instable angina. A tendency to decrease of glycosaminoglycans level in the patients with myocardial infarction as compared to the control group is observed at treatment. The patients with instable angina have an increased glycosaminoglycans level and ceruloplasmin activity at a whole period of observation. The dynamics of ceruloplasmin activity in the patients with myocardial infarction depended on a clinical form, namely, it increased at transmural myocardial infarction, it decreased at largefocal myocardial infarction.

Thus it can be supposed that complications of myocardial infarction at the stage of early postinfarction remodulation of the left ventricle of heart depend of intensity and velocity of glycosaminoglycans synthesis.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнов Г.П., Розанов А.В., Степанова Л.В. и др. // Кардиология. 2001. № 3. С. 13–16.
2. Виноградов А.В., Журавлева И.А., Воеводина Н.Ю. и др. // Кардиология. 1999. № 2. С. 39–40.
3. Воеводина Н.Ю., Журавлева И.А., Никифорова Н.А. и др. // Кардиология. 1990. № 9. С. 20–22.
4. Ким Л.Б., Филатова Т.Г., Калмыкова Е.Ю. и др. // Бюл. СО РАМН. 2001. № 3. С. 75–78.
5. Кляцкин С.А., Лифшиц Р.И. // Лаб. дело. 1989. № 10. С. 51–53.
6. Мазаев В.П., Шевченко А.О. // Лаборатория. 2001. № 4. С. 3–5.
7. Мыш Г.Д., Непомнящих Л.М. Ишемия миокарда и реваскуляризация сердца. Новосибирск, 1980. 293 с.
8. Неверов И.В., Титоренко Н.И. // Лаб. Дело. 1979. № 6. С. 323–325.
9. Радаева И.Ф., Костина Г.А., Змиевский А.В. // Прикладн. Биохимия и микробиология. 1997. Т. 30. № 2. С. 133–137.
10. Рябова Т.В., Рябов В.В. // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2001. № 4. С. 66–69.

Таблица 2

Активность церулоплазмينا у больных различными формами ишемической болезни сердца

Показатель	ЦП, (мг/л мин)		
	1–3	10–12	21–25
Сроки исследования, сут	1–3	10–12	21–25
1. Практически здоровые люди (n=28)	3,07±0,25		
2. Больные с нестабильной стенокардией (n=21)	4,68±0,38	4,29±0,30	4,35±0,60
3. Больные с трансмуральным инфарктом миокарда (n=16)	4,44±0,65	5,45±0,49	5,25±0,43
4. Больные с крупноочаговым инфарктом миокарда (n=40)	4,39±0,41	3,84±0,32	3,58±0,36
p1–2	<0,001	<0,05	
p1–3		<0,001	<0,001
p1–4	<0,01		
p2–3		<0,05	
p3–4		<0,01	<0,01

11. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. М., 1981. 312 с.
12. Сычева И.М., Виноградов А.В., Розин В.М. и др. // Кардиология. 1990. № 9. С. 9–12.
13. Толстикова Т.Г., Воевода Т.В., Масычева В.И. и др. // Докл. Рос. АН. 1996. Т. 350. № 4. С. 557–559.
14. Чаяло П.П., Соловьев А.В., Ена А.М. и др. // Врачебное дело. 1992. № 3. С. 15–17.
15. Флоря В.Р. // Кардиология. 1997. № 5. С. 63–70.
16. Albertini R., Passi A., Abuja P.M. et al. // Int. J. Mol. Med. 2000. № 6(2). P. 129–136.
17. Atanasci R.L., Stea L., Mateesci M.A. et al. // Mol. Cell. Biochem. 1998. Vol. 189. P. 127–135.
18. Ehrenwald E., Chisolm G., Fox P. // J. Clin. Invest. 1994. Vol. 93. P. 1493–1501.
19. Evanko S.P., Angello J.C., Wight T.N. // Arterioscler. Thromb Vasc. Biol. 1999. Vol. 19. № 4. P. 1004–1013.
20. Halliwell B., Vasil M., Grootveld M. // Arch. Biochem. and Biophys. 1990. Vol. 280. P. 1–8.
21. Ravin H.A. // J. Lab. Clin. Med. 1961. Vol. 58. P. 161–168.
22. Sabbah H.N., Goldstein S. // Eur. Heart. J. 1993. № 14. P. 24–29.
23. Segelmark M., Person B., Hellmark T. et al. // Clinical. and Experiment. Immunology. 1997. № 108(1). P. 167–174.
24. Shimada M., Uchida T. // J.Soc.Fiber.Sci.and Technol. 1988. Vol. 44. № 2. P. 108–109.
25. Singh A.T.K. // Acta cardiol. 1992. Vol. 47. № 4. P. 321–329.
26. Tokunaga K., Kanno K., Ochi M. et al. // Rinsho Byori. 1998. Vol. 46. P. 783–789.
27. Weber K.T. // Circulation. 1997. Vol. 96. P. 4065–4082.