

УДК 616.12-009.72:577.156.6

Гулага О.І., Тацук В.К., Полянська О.С.

Вплив еплеренону на процеси протеолізу при гострому інфаркті міокарда

Кафедра внутрішньої медицини, фізичної реабілітації, спортивної медицини та фізичного виховання (зав. каф. - проф. В.К.Тацук) Буковинського державного медичного університету

Резюме. Протеолітична система відіграє важливу роль в процесах життєдіяльності організму, одним з них є процес колагеногенезу. Надмірна або недостатня активність протеолітичних ферментів може призводити до прогресування патологічного процесу. В роботі визначено стан протеолітичної системи у хворих на гострий інфаркт міокарда (ГІМ), простежено динаміку на фоні проведеного стандартного лікування та з додаванням антагоністу альдостерону еплеренону. Встановлено зростання протеолітичної активності за азоальбуміном у групі хворих з додаванням антагоністу альдостерону еплеренону (з $0,16 \pm 0,01$ до $0,28 \pm 0,005$ Е440/мл/год; $p < 0,01$). Протеолітична активність за азоказеїном у групі хворих з додаванням антагоністу альдостерону еплеренону зростала до контрольних величин (з $0,17 \pm 0,01$ до $0,29 \pm 0,004$ Е440/мл/год; $p < 0,01$). Виявлено відновлення показника протеолітичної системи за азоколагеном (з $0,02 \pm 0,002$ до $0,03 \pm 0,001$ Е440/мл/год; $p < 0,01$) у хворих під впливом антагоністу альдостерону еплеренону, що є сприятливим для формування оптимальної структури сполучної тканини на місці ушкоджень міокарда.

Ключові слова: гострий інфаркт міокарда, протеоліз, азоальбумін, азоказеїн, азоколаген.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. Протеоліз - ферментативний гідроліз білків та пептидів, що каталізується протеолітичними ферментами (пептид-гідралазами, протеазами) та відіграє важливу роль в регуляції обміну речовин в організмі. З протеолізом пов'язані такі фундаментальні процеси життєдіяльності як внутрішньоклітинний розпад білків та регуляція їх кругообігу, травлення, запліднення, морфогенез, захисні реакції, адаптаційні перебудови обміну. Порушення протеолізу лежить в основі розвитку багатьох патологічних станів [12].

Плазма крові вміщує складний набір протеолітичних ферментів, узгоджена взаємодія яких лежить в основі регуляції кровообігу, гемостазу, фібринолізу, кініногенезу, імунних реакцій та ін. [8]. Зміни протеолітичної активності, як однієї з найбільш значущих регуляторних систем організму, є важливою патогенетичною ланкою в розвитку функціональних порушень серцево-судинної системи, процесів гемостазу [2], що робить актуальними дослідження стану цієї системи при розвитку ГІМ, який розвивається на тлі змін функціональної активності як протеолітичних, так і антипротеолітичних ферментів.

Мета дослідження. З цією метою у хворих на ГІМ з серцевою недостатністю проведено дослідження протеолітичної активності плазми крові, яку визначали за азоальбуміном (лізісом низькомолекулярних білків), азоказеїном (лізісом високомолекулярних білків) та азоколом (лізісом колагену).

Матеріал і методи дослідження

Клінічний матеріал склали 37 хворих віком від 39 до 68 років, середній вік яких склав $51,5 \pm 3,94$ роки. У всіх хворих діагностовано ГІМ. Діагноз верифіковано згідно стандартів Європейської організації кардіологів.

Всім хворим (група I) проводилось стандартне лікування, яке включало: ацетилсаліцилову кислоту, клопидогрель, еноксапарин, гепарин, нітрати, Я-адреноблокатори, інгібітори ангіотензинперетворювального фактору, діуретики та мета-

болічну терапію.

Окремо виділена група (група II) з 8 хворих, яким у комплексне лікування включено антагоніст альдостерону еплеренон, який зареєстрований в Україні компанією «Pfizer» під назвою «Інспра» (реєстраційні свідоцтва № UA/3752/0101, UA/3752/01/02 від 09.11.2005 року). Доза препарату склала 25 мг на добу впродовж 10 днів.

Також було проведено обстеження 10 практично здорових осіб, репрезентативних за віком і статтю до досліджуваних груп.

Протеолітичну активність визначали за показниками лізису за азоальбуміном, азоказеїном та азоколагеном за допомогою наборів реактивів фірми «Simiko Ltd.» (Львів) за методикою О.Л.Кухарчука.

Дослідження проводили на кафедрі фармакології Буковинського державного медичного університету (зав. каф. - проф. І.І.Заморський).

Статистична обробка результатів досліджень проводилась з використанням електронних таблиць Microsoft® Office Excel (build 11.5612.5703) та програми для статистичної обробки Statgraphics Plus5.1 Enterprise edition (©Statistical Graphics corp. 2001). Перевірку закону розподілу вибірок на нормальність проводили при кількості варіант до 50 за допомогою критерію Шапіро-Вілкі.

Результати дослідження

Встановлено (табл.1), що у хворих дослідної групи I має місце вірогідне зниження показників протеолітичної активності порівняно з практично здоровими донорами.

Так, протеолітична активність за азоальбуміном була майже в 1,5 рази нижчою, ніж у контролі у всіх хворих на ГІМ, проте зростала майже до контрольних величин в обох групах після проведеного лікування (з $0,17 \pm 0,003$ до $0,27 \pm 0,005$ Е440/мл/год; $p < 0,01$ в групі I та з $0,16 \pm 0,01$ до $0,28 \pm 0,005$ Е440/мл/год; $p < 0,01$ в групі II)

Це свідчить, що активність протеаз, які гідролізують низькомолекулярні білки (НМБ), в тому числі кініні [10], при розвитку ГІМ явно недостатня, що проявляється порушенням рівноваги між активністю кінінів, дія яких призводить до розширення судин, та ангіотензину, який викликає вазоконстрикторні реакції.

Зважаючи на роль чинників кінінової системи у реалізації захисно-прістосувальної програми при ГІМ [12], зміни процесів їх протеолітичної деградації можуть бути одним з факторів, що сприяють розладам мікроциркуляції, порушенню життєздатності органів і тканин.

Таблиця 1. Динаміка показників протеолітичної активності хворих на гострий коронарний синдром у процесі лікування

Показник	Контроль	I група		II група	
		1	2	3	4
Азоальбумін (мкг /мл за год)	$0,27 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,003$	$0,27 \pm 0,005$	$0,16 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,005$
		$p-1-2^{**}$	$p-2-3^{*}$	$p-1-4^{**}$	$p-4-5^{**}$
Азоказеїн (мкг /мл за год)	$0,29 \pm 0,004$	$0,18 \pm 0,002$	$0,29 \pm 0,008$	$0,17 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,004$
		$p-1-2^{**}$	$p-2-3^{**}$	$p-1-4^{**}$	$p-4-5^{**}$
Азоколаген (мкг /мл за год)	$0,03 \pm 0,001$	$0,01 \pm 0,005$	$0,02 \pm 0,001$	$0,02 \pm 0,002$	$0,03 \pm 0,001$
		$p-1-2^{**}$	$p-2-3^{*}$	$p-1-4^{*}$	$p-4-5^{*}$

Примітка: * - коефіцієнт вірогідності - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ (приведені тільки статистично вірогідні відмінності)

Протеолітична активність за азоказеїном у обстежених хворих була нижчою за контрольні показники в 1,6 раз, проте відновила в процесі лікування (I група – з $0,18 \pm 0,003$ до $0,29 \pm 0,008$ Е440/мл/год; $p < 0,01$, II група з $0,17 \pm 0,01$ до $0,29 \pm 0,004$ Е440/мл/год; $p < 0,01$).

Відомо, що протеїнази проявляють свою дію відносно високомолекулярних білків плазми, серед яких - основні регулятори функції серцево-судинної системи (ренін, ангіотензин, альдостерон, кініні, калікреїни та ін.) [3]. Зниження у обстежених хворих активності протеолізу високомолекулярних пептидів є свідченням, з одного боку, надмірної активації цих біологічно активних субстратів, що й призводить до виникнення та прогресування ГІМ, запуску механізмів компенсаторно-приспосувальних процесів, а з іншого - про відносну недостатність їх синтезу внаслідок гіпоксії [5]. Важливим біологічним ефектом таких процесів є неконтактна активація факторів згортання, в першу чергу XII та VII [7], наслідком чого є тенденція до розвитку гіперкоагуляції, яка є важливою складовою ГІМ.

Слід зауважити, що об'єктом впливу протеаз, які модифікують високомолекулярні білки, є також компоненти системи комплементу [8], активація якого має місце при ГІМ, порушенні функції печінки, процесах утворення сполучної тканини та ін. [6].

Протеолітична активність за азоколагеном у всіх обстежених хворих була в 2,4 рази меншою за контрольні показники. Це є доказом активного формування сполучної тканини, яке відбувається не тільки у зоні ураження міокарда, а й у інших тканинах і структурах. Проте після проведеного лікування показники лізису за азоколагеном зросли в обох дослідних групах (I група - з $0,01 \pm 0,005$ до $0,02 \pm 0,001$ Е440/мл/год; $p < 0,01$), особливо у групі із застосуванням антагоністу альдостерону еплеренону (II група - з $0,02 \pm 0,002$ до $0,03 \pm 0,001$ Е440/мл/год; $p < 0,01$).

Не виключено, що зниження колагеназної активності плазми є одним із факторів, що сприяє активації системи комплементу, C1q компонент якого є колагеноподібним білком [7]. Це може бути однією із передумов розвитку автоімунних реакцій [2], властивих ГІМ [9].

Зниження колагеназної активності при ГІМ є свідченням порушень обміну в сполучній тканині, яка утворює сполучно-тканинну матрицю серця. Активація синтезу патологічних колагенів збільшує жорсткість міокарда, спотворює процеси ремоделювання, сприяє трансформації фенотипу міокарда з експресією фатальних генів, що супроводжується підвищенням синтезу білків, які характерні для ембріонального міокарда, що в свою чергу поглиблює порушення скоротливості міокарда, призводить до зміни маси міокарда, форми та об'єму порожнин і їх геометричної деформації. Проявом таких процесів є суттєве порушення насосної функції міокарда, прогресування серцевої недостатності, що замикає ще одне порочне коло.

Обговорення

Таким чином, проведені дослідження свідчать про суттєві порушення у хворих на ГІМ процесів необмеженого протеолізу, що, на наш погляд, може бути не тільки проявом ішемії міокарда, порушенням синтезу цих ферментних систем, а й ознакою дисбалансу регуляторних систем, які забезпечують компенсаторно-приспосувальні процеси при ГІМ. Стає очевидною доцільність корекції цих порушень в процесі лікування хворих на ГІМ.

Загалом, проведене стандартне лікування хворим на ГІМ суттєво впливає на активність необмеженого протеолізу. У всіх обстежених хворих спостерігалось зростання досліджуваних параметрів протеолітичної актив-

ності плазми крові, однак їх динаміка була різною.

Так, протеоліз за азоальбуміном в обох досліджуваних групах суттєво зростає, однак більш виражено у другій групі (табл. 1), у лікування якої включено антагоніст альдостерону еплеренон.

Така активація протеолізу низькомолекулярних пептидів при ГІМ може відігравати важливе значення. Відомо [11], що через активації симпато-адреналової системи при ГІМ суттєво збільшується активація калікреїн-кінінової системи, фактора некрозу пухлини, ендотеліну, цитокінів, що призводить до затримки солі і води та вазоконстрикції. У результаті тривалої периферичної вазоконстрикції і гіперволемії збільшується перед- і після навантаження на серце, що сприяє розвитку та прогресуванню серцевої недостатності.

Зростання протеолітичної активності за азоальбуміном може бути одним із факторів зменшення цих біологічних субстратів [2].

Протеолітична активність за азоказеїном також зростала в обох групах, але в першій групі на 61%, а в другій на - 70%. Зважаючи на те, що протеолітична активність за азоказеїном відображає розщеплення середньомолекулярних пептидів, таке зростання з нашого погляду є сприятливим при ГІМ.

Відомо [7], що одним із провідних патогенетичних механізмів при ГІМ є порушення нейро-ендокринної регуляції, яка забезпечується середньо- та високомолекулярними пептидами (антидіуретичний гормон, ренін, альдостерон, вазопресин тощо). Активація та інактивація цих пептидів відбувається за допомогою ферментів, що володіють протеолітичною активністю. Виявлене нами зростання протеолітичної активності плазми, на наш погляд, може бути одним із проявів відновлення рівноваги між активаторами та інгібіторами нейрогормонів плазми крові [12].

Надзвичайно важливою є динаміка протеолітичної активності за азоколагеном. Під впливом стандартного лікування у хворих першої групи показник зростає статистично невірогідно і після лікування залишався суттєво нижчим, ніж в контролі. Включення в комплексне лікування антагоністу альдостерону еплеренону призводило до вірогідного зростання протеолізу за азоколагеном, причому цей показник після проведеного лікування не відрізнявся від контрольних величин.

Відомо [4], що при ГІМ важливу роль відіграє апоптоз – запрограмована смерть клітини. Його індукують активні форми кисню, оксид азоту, α -фактор некрозу пухлин, підвищена концентрація вільного цитозольного кальцію тощо [3]. У зоні некрозу проходить активне формування сполучної тканини, яке ініціюють моноцити, макрофаги, плазматичні клітини. Утворення колагенових волокон проходить ряд етапів, направлених на їх структурування, просторову орієнтацію відповідно функціональним потребам. Надмірна активація факторів, що призводить до утворення колагенових структур, може призвести до формування грубої волокнистої сполучної тканини, яка суттєво змінює структуру та форму, тобто його геометрію. При цьому суттєво порушується не тільки скоротлива здатність міокарда, а й його збудливість [9].

При недостатності процесу колагеноутворення і формуванні сполучної тканини втрачається пружність серцевого м'яза, що в подальшому може призводити до формування аневризмічних змін його стінки з прогресуванням серцевої недостатності.

Висновок

Зростання протеолітичної активності за азоколагеном

у досліджуваних хворих є сприятливою ознакою. Це вказує на те, що під впливом антагоністу альдостерону еплеренону колагеназна активність наближається до контрольних показників, що призводить до формування оптимальної структури сполучної тканини на місці ушкоджень міокарда.

Перспективи подальших досліджень

Доцільним є продовження вивчення фібринолітичної системи у хворих на гострий інфаркт міокарда з використанням антагоністу альдостерону еплеренону.

Література

1. Величковский Б. Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б. Т. Величковский // Вестник РАМН. - 2001. - №6. - С.45 - 52.
2. Острая сердечная недостаточность. Новые возможности в решении старой проблемы / Г. В. Дзяк, Н. П. Копица, А. Н. Пархоменко [и др.] // Здоров'я України. - 2007. - № 21. - С.1-3.
3. Показатели ЕКГ высокого разрешения в оценке повреждения миокарда и отдаленного прогноза у больных пароксизмальной мерцательной аритмией при проведении кардиоверсии / Г. Г. Иванов, А. В. Тюрин, В. В. Куяку [и др.] // Функцион. диагн. - 2004. - № 1.- С.27-33.
4. Связь между тяжестью стенокардии, ее стабильностью и уровнем окислительной модификации липидов у больных ишемической болезнью сердца / А. Л. Сыркин, О. А. Азизова, С. В. Дриницина [и др.] // Тер. арх. - 2001. - № 9. - С. 38-42.
5. Черкашина О. Е. Динаміка показників прооксидантно-антиоксидантної системи і метаболічної інтоксикації при хронічній серцевій недостатності / О. Е. Черкашина // Укр. мед. альманах. - 2005. - Т. 8, №2. - С.149-151.
6. Эффективность и безопасность длительного применения спиронолактона у больных с умеренной и тяжелой хронической сердечной недостаточностью, получающих оптимальную терапию / А.А.Скворцов, В.Ю.Мереев, С.М. Челмакина [и др.] // Кардиология. - 2007. - №10. - С.12-23.
7. Batdorf N. J. Month-to-month and year-to-year reproducibility of high frequency QRS EKG signals. / N. J. Batdorf, A. H. Feiveson, T. T. Schlegel // Electrocardiol. - 2004. - Vol.37, №4. - P.289-296.
8. Prevalence of chronic heart failure in Southwestern Europ: the EPICA study / E. Ceia, C. Fonseca, T. Mota [et al.] // Eur. J. Heart Failure -2002.- Vol.4.- P.531 - 539.
9. Real-time 12-lead high-frequency electrocardiography for enhanced detection of myocardial ischemia and coronary artery disease. / T. T. Schlegel, W. D. Kulecz, J. L. DePalma [et al.] // Mayo Clin. Proc. - 2004. -Vol. 79.- P.339.
10. Restoration of diastolic function in senescent rat hearts through adenoviral gene transfer of sarcoplasmic reticulum Ca (2+) ATPase / U.Schmidt, E.del Monte, M. I. Miyamoto [et al.] // Circulation. - 2000. - Vol. 101. - P. 790 - 796.
11. Yoshida Y. Detection of lipid peroxidation in vivo: total hydroxyoctadecadienoic acid and 7-hydroxycholesterol as oxidative stress marker / Y. Yoshida, E. Niki // - Free Radic. Res. -2004.- Vol.8, №8.- P.787-794.

12. Weber K.T. Myocardial fibrosis and the renin-angiotensin-aldosterone system / K. T. Weber, C. G. Brilla // J. Cardiovas. Pharmacology. - 1992. - Vol:1. - P.48-54.

Гулага О.И., Ташчук В.К., Полянська О.С.

Влияние еплеренона на процессы протеолиза при остром инфаркте миокарда

Резюме. Протеолитическая система играет очень важную роль в процессах жизнедеятельности организма, один из них – колагеногенез. Чрезмерная или недостаточная активность протеолитических ферментов приводит к прогрессированию патологического процесса. В работе определено состояние протеолитической системы у больных острым инфарктом миокарда, прослежена динамика на фоне проведенного стандартного лечения, а также с использованием антагониста альдостерона эплеренона. Установлено уменьшение протеолитической активности по азоальбумину в группе больных с добавлением антагониста альдостерона (с $0,16 \pm 0,01$ до $0,28 \pm 0,005$ Е440/мл/год; $p < 0,01$). Протеолитическая активность по азоказеину в группе больных с добавлением антагониста альдостерона эплеренона возросла, достигая контрольных величин (с $0,17 \pm 0,01$ до $0,29 \pm 0,004$ Е440/мл/год; $p < 0,01$). Выявлена нормализация показателя протеолитической системы по азоколагену (с $0,02 \pm 0,002$ до $0,03 \pm 0,001$ Е440/мл/год; $p < 0,01$) у больных под воздействием антагониста альдостерона эплеренона, что есть благоприятным для формирования оптимальной структуры соединительной ткани в месте поражения миокарда.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда, протеолиз, азоальбумин, азоказеин, азоколаген.

Gulaga O.I., Tashchuk V.K., Polyanska O.S.

Influence of Eplerenone on the Processes of Proteolysis in Acute Myocardial Infarction

Summary. The proteolytic system plays an important role in the processes of vital functions of organism, one of them there is a process of kolagenogis. Surplus or insufficient activity of proteolytic enzymes can result in progress of pathological process. In work determined the state of the proteolytic system in patients with the acute myocardial infarction, traced the dynamics on a background the conducted standard treatment and with addition the antagonist of aldosterone eplerenone.

Founded renewal the index of the proteolytic system after azoalbumine (from $0,02 \pm 0,002$ to $0,03 \pm 0,001$ Е440/мл/год; $p < 0,01$), after azokazein (from $0,17 \pm 0,01$ to $0,29 \pm 0,004$ Е440/мл/год; $p < 0,01$), and after (from $0,02 \pm 0,002$ to $0,03 \pm 0,001$ Е440/мл/год; $p < 0,01$) patients under influence antagonist of aldosterone eplerenone that is friendly to forming of optimum structure of connecting tissue in place of myocardium damages.

Key words: acute myocardial infarction, proteoliz, azoalbumine, azokazein, azokolagen.

Надійшла 11.10.2010 року.