



УДК 616.12-009.72-085:576.311.347

ВЛИЯНИЕ ТРИМЕТАЗИДИНА НА АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ПАЦИЕНТОВ СО СТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИЕЙ НАПРЯЖЕНИЯ

О.В. РОМАЩЕНКО*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет**e-mail: Romashenko@bsu.edu.ru*

При исследовании индивидуальной чувствительности митохондрий лейкоцитов 56 пациентов со стабильной стенокардией напряжения к введению триметазидина в тестах *in vitro* обнаружили два варианта реагирования – в виде активации (у 48% пациентов) либо угнетения функциональной активности митохондрий (у 52% больных). Чувствительность митохондрий к введению триметазидина оказалась зависимой от индивидуального состояния органов – мишеней, нейрогуморальной регуляции, степени тканевой гипоксии, исходной активности митохондрий и уровня энергообеспечения организма больных, что свидетельствует о необходимости персонализации назначения триметазидина в комплексном лечении пациентов со стабильной стенокардией напряжения.

Ключевые слова: митохондрии, триметазидин, стабильная стенокардия напряжения.

Актуальность настоящего исследования обусловлена широкой распространённостью, смертностью и высокой социальной значимостью ишемической болезни сердца, особенно в России по сравнению с западноевропейскими странами [1, 2]. Принятые стандарты лечения стенокардии напряжения препаратами из групп антиагрегантов, антикоагулянтов, бета-адреноблокаторов, статинов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, нитратов, антагонистов кальция имеют высокий уровень доказательности, однако не обеспечивают в полной мере эффективности лечения [3, 4].

Попыткой существенно повысить эффективность комплексного лечения ишемической болезни сердца является внедрение в клиническую практику метаболической фармакотерапии с целью обеспечения кардиоцитопroteкции [5, 6, 7]. С 1998 года в стандарт лечения стенокардии напряжения вошел метаболически активный препарат – триметазидин, который может быть использован в дополнение к стандартным средствам или в качестве альтернативы им при плохой переносимости [3]. Триметазидин относится к классу рекомендаций II b, для которого показатели пользы и эффективности не совсем убедительны. За рубежом препараты, не доказавшие своего влияния на продолжительность жизни, «сомнительного» или «философского» типа действия не вызывают особого доверия, о чём свидетельствует низкая (не более 1%) частота назначения метаболических средств для лечения больных стенокардией в странах Европы, в отличие от нашей страны, где их используют достаточно широко [8]. На ограниченную эффективность данной группы препаратов указывают работы ряда авторов [9, 10, 11], в практической медицине к ним сложилось неоднозначное отношение – от восторженного принятия к абсолютному непринятию. Возможным решением указанной проблемы может стать персонализация назначения препаратов метаболического ряда в комплексном лечении пациентов с ИБС.

Целью настоящего исследования явилось определение индивидуальной чувствительности митохондрий пациентов со стабильной стенокардией напряжения к введению триметазидина.

Объект и методы исследования. Было проведено рандомизированное открытое контролируемое клиническое исследование 56 пациентов со стабильной стенокардией напряжения различных функциональных классов в возрасте от 37 лет до 81 года. У большинства больных стенокардия сочеталась с гипертонической болезнью (89,4%), нарушениями ритма (24,4%), постинфарктным кардиосклерозом (48,8%), хронической сердечной недостаточностью (94,4%), у некоторых – с сахарным диабетом II типа (23,1%), средний возраст больных составил $59,26 \pm 0,74$ лет.

Проводили общие клинические методы исследования, инструментальные и лабораторные, для постановки диагноза и лечения стабильной стенокардии согласно рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов (2008) [3]. Выполняли также специфические методы исследования нейрогуморального профиля пациентов путём определения концентрации кортизола, инсулина, циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) в сыворотке крови и уровня эндотелиальной синтазы окиси азота



(eNOS) в лизате эритроцитов больных методом иммуноферментного анализа на аппарате BioRad с помощью наборов реактивов фирмы «Биохиммак». Метаболический статус пациентов оценивали по концентрации аденозинтрифосфата (АТФ) и аденозиндифосфата (АДФ) в эритроцитах, о степени тканевой гипоксии судили на основании показателя 2,3 дифосфоглицерата (2,3-ДФГ), уровень которого определяли в эритроцитах биохимическими методами [12]. Исследование индивидуального влияния триметазида на митохондрии человека выполняли по разработанной нами методике в тестах *in vitro* [13] с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии на аппарате Nikon Eclipse Ti по специализированной программе Nikon C1 [14].

Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с расчетом средних арифметических величин и их ошибок, проведением регрессионного анализа, оценкой достоверности различий по *t*-критерию Стьюдента, изучением характера взаимосвязи между факторами графическим методом трехмерного плоттинга с помощью программ “Microsoft Excel 2007”, “SPSS for Windows 11.0” и “STATISTICA’99Edition” [15].

Результаты и их обсуждение. При исследовании индивидуальной чувствительности митохондрий лейкоцитов пациентов со стабильной стенокардией напряжения к введению триметазида обнаружили два варианта реагирования – в виде активации (у 27 [48%] пациентов) либо угнетения функциональной активности митохондрий (у 29 [52%] больных).

Проводили сравнительный анализ между группами пациентов с различными вариантами реагирования митохондрий на введение триметазида, получили ряд достоверных отличий (таблица).

Таблица

Влияние триметазида на митохондрии человека

Показатель	Активирует митохондрии, n=27	Угнетает митохондрии, n=29
Микроальбуминурия, г/л	0,015±0,006***	0,175±0,015***
АСТ, МЕ	23,38±1,42*	29,78±1,54*
Калий крови, ммоль/л	4,31±0,11*	4,73±0,14*
Суммарный вольтаж зубца R в стандартных отведениях, мм	21,09±1,84**	14,50±1,22**
Соотношение кортизол/инсулин сыворотки крови	0,27±0,07*	0,96±0,23*
Соотношение цАМФ/цГМФ сыворотки крови	2,25±2,25	12,89±5,21
Уровень эндотелиальной синтазы окиси азота в лизате эритроцитов, пг/мл	1481,01±524,65	393,14±107,67
флюоресценция митохондрий, окраска ширеном, усл.ед.	267,99±24,61***	463,56±29,09***
АДФ эритроцитов, мкмоль/л	315,29±4,96*	300,55±4,06*
2,3ДФГ эритроцитов, мкмоль/мл	6,08±0,13**	6,64±0,13**

Примечание. Достоверность различий **p*<0,05; ***p*<0,01; ****p*<0,001.

Обнаружили следующие условия активации митохондрий под влиянием триметазида: нормальная функция печени и почек, средний уровень калия в крови, нормальный вольтаж на ЭКГ, низкие значения соотношений кортизол/инсулин и цАМФ/цГМФ в сыворотке крови, высокий уровень эндотелиальной синтазы окиси азота в лизате эритроцитов, исходно низкая активность митохондрий, наличие признаков гипозергоза при достаточном количестве энергетических субстратов (АДФ) и небольшая степень тканевой гипоксии по значению 2,3 ДФГ эритроцитов. Введение триметазида влечёт за собой угнетение митохондрий при условии: нарушения функции печени и почек, тенденции к повышению уровня калия в крови, наличия признаков миокардиодистрофии на ЭКГ, высоких показателей соотношений кортизол/инсулин и цАМФ/цГМФ в сыворотке крови, низкого уровня эндотелиальной синтазы окиси азота в лизате эритроцитов, исходно высокой активности митохондрий с отсутствием признаков гипозергоза, выраженной тканевой гипоксии по значению 2,3 ДФГ эритроцитов.

Изменение активности митохондрий может иметь как положительное, так и отрицательное влияние на жизнеспособность клетки. Это положение объясняется следующим физиологическим явлением: нормальная активация митохондрий сопровождается активацией клеточного дыхания, а избыточная активация – генерацией перекиси водорода, т.к. если в митохондриях присутствуют субстраты окисления, кислород и АДФ, дыхание активируется; когда АДФ исчерпывается, дыхание замедляется, уровень восстановленности никотинамидаденинди-

нуклеотида увеличивается и происходит генерация перекиси водорода [16, 17]. Возможным механизмом разрушения клеток при переактивации митохондрий и избытке АТФ может быть угнетение АТФ – зависимых калиевых каналов мембран митохондрий, что влечёт за собой накопление ионов водорода, воды внутри органелл, вследствие чего они разбухают и подвергаются лизису лизосомами клетки [18, 19]. Разрушение митохондрий сопровождается острым дефицитом внутриклеточной энергии и последующей гибелью клетки по типу онкоза или апоптоза [20]. В ряду исследований показано, что ингибирование АТФ – зависимых калиевых каналов мембран митохондрий может приводить к клеточному апоптозу путём открытия Ca^{2+} -активируемой митохондриальной поры и, напротив, активация АТФ – зависимых калиевых каналов предотвращает апоптоз, играет существенную роль в защите миокарда от ишемических повреждений [18, 21, 22]. Возможность угнетения митохондрий под влиянием стимуляторов энергообмена обусловлена физиологическим явлением торможения ключевых ферментов цикла Кребса при возрастании соотношения АТФ/АДФ внутри клеток [23].

Доказательством правомочности изложенных выше пояснений обнаруженных нами явлений, на наш взгляд, является характер взаимосвязей между показателями активности митохондрий, тканевой гипоксии и интенсивности клеточного дыхания (рисунок).

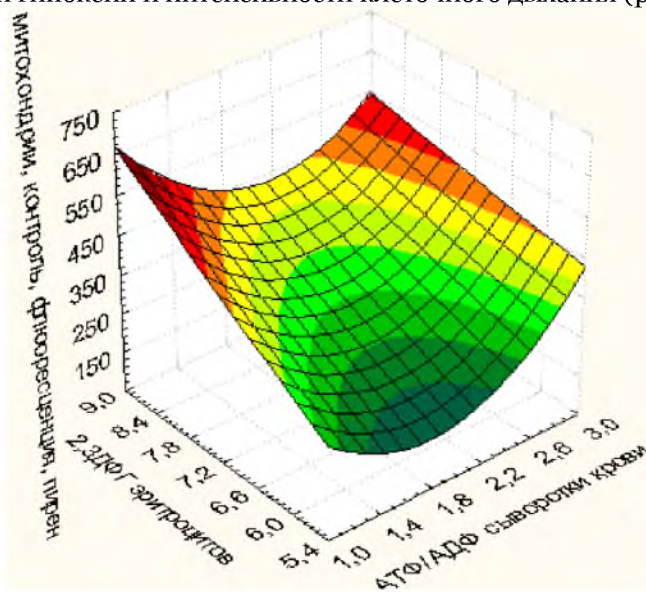


Рис. Взаимосвязь между интенсивностью флюоресценции митохондрий (окраска – пирен, отн. ед.), уровнем 2,3ДФГ эритроцитов (мкмоль/л) и соотношением концентраций АТФ/АДФ сыворотки крови пациентов с ИБС

На рисунке 1 видно, что у митохондрий есть два пика максимальной активности (а не один): первый ассоциируется с высоким соотношением АТФ/АДФ сыворотки крови и с низким уровнем 2,3 ДФГ в эритроцитах, т.е. с высоким уровнем энергообеспечения клетки и низкой степенью тканевой гипоксии, а второй пик активности митохондрий связан с низким соотношением АТФ/АДФ сыворотки крови и с высоким уровнем 2,3 ДФГ в эритроцитах, т.е. с состоянием гипоэргоза и тканевой гипоксии. Характер взаимосвязей нелинейный, в двухмерной плоскости описывается полиномиальным графиком регрессионной кривой: между флюоресценцией митохондрий и 2,3ДФГ уравнение регрессии имеет следующий вид $y = -1E-14x^6 + 3E-11x^5 - 3E-08x^4 + 1E-05x^3 - 0,0035x^2 + 0,4379x - 14,751$, коэффициент детерминации $R^2 = 0,2602$; между 2,3 ДФГ и соотношением АТФ/АДФ сыворотки крови – $y = -2,8955x^6 + 125,44x^5 - 2255,7x^4 + 21547x^3 - 115297x^2 + 327657x - 386289$, $R^2 = 0,4046$; между флюоресценцией митохондрий и соотношением АТФ/АДФ сыворотки крови – $y = -2E-15x^6 + 4E-12x^5 - 4E-09x^4 + 2E-06x^3 - 0,0005x^2 + 0,0599x - 0,4661$, $R^2 = 0,1299$.

Обнаруженная нами способность триметазида оказывать различное влияние на активность митохондрий пациентов в зависимости от индивидуального состояния их органов-мишеней, нейрогуморальной регуляции, степени тканевой гипоксии, исходной активности митохондрий и уровня энергообеспечения, на наш взгляд, объясняет возможность неоднозначной эффективности данного метаболического корректора и свидетельствует о необходимости персонализации назначения триметазида в комплексном лечении пациентов со стабильной стенокардией напряжения.



Выводы:

1. Триметазидин в тестах *in vitro* показал способность как активировать, так и угнетать митохондрии пациентов со стабильной стенокардией напряжения.

2. Условиями активации митохондрий под влиянием триметазида явились: нормальная функция печени и почек, средний уровень калия в крови, нормальный вольтаж на ЭКГ, низкие значения соотношений кортизол/инсулин и цАМФ/цГМФ в сыворотке крови, высокий уровень эндотелиальной синтазы окиси азота в лизате эритроцитов, исходно низкая активность митохондрий, наличие признаков гипоэргоза при достаточном количестве энергетических субстратов (АДФ) и небольшая степень тканевой гипоксии по значению 2,3 ДФГ эритроцитов.

3. Условиями угнетения митохондрий под действием триметазида явились: нарушения функции печени и почек, тенденция к повышению уровня калия в крови, наличие признаков миокардиодистрофии на ЭКГ, высокие показатели соотношений кортизол/инсулин и цАМФ/цГМФ в сыворотке крови, низкий уровень эндотелиальной синтазы окиси азота в лизате эритроцитов, исходно высокая активность митохондрий с отсутствием признаков гипоэргоза, выраженная тканевая гипоксия по значению 2,3 ДФГ эритроцитов.

4. Обнаруженная способность триметазида оказывать различное влияние на активность митохондрий пациентов в зависимости от индивидуального состояния их органов-мишеней, нейрогуморальной регуляции, степени тканевой гипоксии, исходной активности митохондрий и уровня энергообеспечения свидетельствует о необходимости персонализации назначения триметазида в комплексном лечении пациентов со стабильной стенокардией напряжения.

Работа выполнена при поддержке гранта НИУ «БелГУ»: Проект № 419112011 от 17 января 2012 года «Клинико-фармакологические подходы к персонализации назначения препаратов метаболического ряда при лечении пациентов с ишемической болезнью сердца», выполняемый вузом в рамках государственного задания.

Литература

1. Ратманова А. Сердечно-сосудистая заболеваемость и смертность – статистика по европейским странам (2008) // *Medicine Review*. – 2009. – №1(6). – С.6-12.
2. Харченко В.И., Какорина Е.П., Корякин М.В. и др. Сверхсмертность населения Российской Федерации от болезней системы кровообращения по сравнению с развитыми странами // *Проблемы прогнозирования*. – 2006. – №5(12). – С.138-151.
3. Диагностика и лечение стабильной стенокардии. Российские рекомендации (второй пересмотр). Разработаны Комитетом экспертов Всероссийского научного общества кардиологов // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. – 2008. – Приложение 4. – Т.7, №8. – 40с.
4. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary. The task force of the management of stable angina pectoris of the European Society of Cardiology // *Eur. Heart J.* – 2006. – Vol.27. – P.1334-1381.
5. Амосова Е.Н. Метаболическая терапия повреждения миокарда, обусловленного ишемией: новый подход к лечению ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности // *Укр. кардіол. журн.* – 2000. – №4. – С.85-92.
6. Асташкин Е.И., Глезер М.Г. Метаболические цитопротекторы и механизмы их действия. – Москва. – 2009. – 13с.
7. Мкртчян В.Р. Клиническая фармакология средств, улучшающих энергетический метаболизм миокарда: (учеб. пособие). – М.: Grindex, 2003. – 24с.
8. Мазур Н.А. Терапия больных хронической ишемической болезнью сердца и реальное состояние проблемы в практическом здравоохранении // *Клиническая медицина*. – 2007. – №8. – С.19-25.
9. Тюриков П.Ю. Влияние милдроната и предуктала в сочетании с комплексной антиангинальной терапией на уровень продуктов перекисного окисления липидов, состояние эндотелиальной дисфункции и физическую толерантность больных ИБС. Автореф. дис канд.мед.н. 14.00.06 – кардиология / ГОУ ВПО «Курский Орден трудового красного знамени государственный медицинский университет, Курск, 2005. – 22с.
10. Казярян Н.Б. Влияние миокардиального цитопротектора триметазида на систолическую и диастолическую функцию левого желудочка у больных с ишемической болезнью сердца. Автореф. дис... канд.мед.н. 14.00.06 – кардиология / Ростов-на-Дону, 2004. – 20с.
11. Хобот В.В. Длительное применение триметазида у больных в постинфарктном периоде. Автореф. дис... канд.мед.н. 14.00.06 – кардиология / Москва, 2005. – 25с.
12. Мранова И.С. Определение 2,3ДФГ и АТФ в эритроцитах // *Лабораторное дело*. – 1975. – №7. – С.652-654.
13. Ромащенко О.В. Способ определения индивидуальной реактивности митохондрий человека под действием препаратов метаболического ряда в пробах *in vitro*. Свидетельство о ноу-хау № 125 от 12.09.2013.
14. *Methods in cell biology*. Vol .70. Cell biological applications of confocal microscopy. 2-nd ed. Ed. B.Matsumoto. Acad.Press. – 2002. – 507 p.



15. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика / А.Петри, К.Сэбин; пер. с англ. под ред. В.П. Леонова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 168с.
16. Boveris A., Oshino N., Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide // *Biochem J.* – 1972. – Vol.128. – P.617-630.
17. Кареева А.В. Генерация перекиси водорода митохондриями: ферменты и их активности. Диссертация. – Москва, 2010. – 56с.
18. Качаева Е.В. Митохондриальный АТФ-чувствительный калиевый канал и его роль в адаптации организма к гипоксии. Автореф. дис. канд. биол. наук. /03.00.04- биохимия/ Пушчинский государственный университет. – Пушкино, 2007. – 20с.
19. Митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал. II. Роль канала в защите сердца от ишемии /Г.Д. Миронова, Е.В. Качаева, И.Б. Крылова и др.// *Вестник Российской АМН.* – 2007. – №2. – С.44-50.
20. Скулачев В.П. Явление запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода // *Соросов. образоват. журн.* – 2001. – Т.7, №6. – С.4-10.
21. Takashi E., Wang Y., Ashraf M. Activation of mitochondrial KATP channel elicits late preconditioning against myocardial infarction via protein kinase C signaling pathway // *Circ. Res.* – 1999. – Vol.85. – P.1146-1153.
22. Akao M., O'Rourke B., Kusuoka H. et al. Differential actions of cardioprotective agents on the mitochondrial death pathway // *Circ. Res.* – 2003. – Vol.92. – P.195-202.
23. Чиркин А.А., Данченко Е.О. Биохимия: Учебное руководство. – М.: Мед. лит., 2010. – 624с.

INFLUENCE OF TRIMETAZIDINE ON MITOCHONDRIAL ACTIVITY OF PATIENTS WITH THE STABLE ANGINA PECTORIS

O.V. ROMASHENKO

*Belgorod National
Research University*

e-mail: Romashenko@bsu.edu.ru

At the research of individual sensitivity of leukocytes' mitochondria of 56 patients with a stable angina pectoris to introduction of trimetazidine in tests in vitro have found out two variants of reaction – in the form of activation (in 48 % of patients) or oppressions of mitochondria functional activity (at 52 % of patients). Sensitivity of mitochondria to introduction of trimetazidine has appeared dependent on an individual condition of bodies-targets, neurohumoral regulation, tissue hypoxia degree, initial mitochondrial activity and level of power supply of an organism of patients that testifies to necessity of personification of trimetazidine appointment in complex treatment of patients with a stable angina pectoris.

Key words: mitochondria, trimetazidine, a stable angina pectoris.