

УДК 616.127-005.4-089-008.6:616.36

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС И ЗАМЕДЛЕНИЕ ЦИТОХРОМ Р-450-ЗАВИСИМОГО ПЕЧЕНОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА У БОЛЬНЫХ С ПРИОБРЕТЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

В.А. Непомнящих, В.В. Ломиворотов, М.Н. Дерягин, В.Н. Ломиворотов, Л.Г. Князькова,
М.А. Новиков, С.С. Михайлов

ФГУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина Росмедтехнологий»

cpssc@meshalkinclinic.ru

Ключевые слова: окислительный стресс, монооксигеназная функция печени, антипирин, приобретенные пороки сердца.

Известно, что у кардиохирургических больных операция на открытом сердце приводит к выраженному окислительному стрессу вследствие дисбаланса в про- и антиоксидантной системе организма [8]. Ведущую роль в этом процессе играет искусственное кровообращение (ИК) и реперфузия миокарда [11, 17]. Избыточное образование активных форм кислорода в условиях гипоперфузии и гипоксии оказывает прямое повреждающее действие на белки и липиды биологических мембран, а также, реагируя с ненасыщенными жирными кислотами, инициирует цепную реакцию их перекисидации [12]. Важно, что активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) может вызывать значительные структурные нарушения мембран эндоплазматического ретикула гепатоцитов с подавлением активности цитохром Р-450-зависимых микросомальных монооксигеназ печени (монооксигеназная функция), ответственных за метаболизм многочисленных эндогенных соединений и ксенобиотиков [12, 16]. Возникающие при этом сложные изменения микросомального окисления в печени могут закономерно приводить к замедлению клиренса ксенобиотиков и эндогенных токсинов, сопровождаться кумуляцией лекарственных препаратов и эндогенной токсемией [9]. В связи с этим представляется актуальным исследовать оксидативный стресс и монооксигеназную функцию печени (МФП) у больных приобретенными пороками сердца (ППС) до и после кардиохирургического вмешательства.

зателям сопряженных триенов (СТ), малонового диальдегида (МДА), церулоплазмينا (ЦП) и каталазы (КТ) плазмы крови [1–3, 7]. Состояние МФП оценивали по показателям фармакокинетики антипирина (АР), биотрансформация которого происходит в две фазы (окисление и конъюгация) и отражает в общей форме метаболизм большинства липофильных химических соединений. Имея незначительную скорость метаболизма, АР обладает постоянным печеночным клиренсом, не зависящим от скорости кровотока в печени. В последние годы антипиринотест широко используется в экспериментальных и клинических исследованиях для оценки интегральной активности цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ печени при различных физиологических и патологических состояниях [20]. Обследуемые принимали АР внутрь, из расчета 10 мг на кг массы тела. Забор слюны или крови производили через 3, 6, 9, 12 и 24 ч после приема АР. Концентрацию АР определяли спектрофотометрическим методом [6], рассчитывая

<i>Показатели</i>	<i>Обследуемые больные (n=97)</i>
Возраст, годы	48,7±7,5
Мужчин/женщин	52/45
Недостаточность кровообращения, стадия	
I	1,8%
II А	73,1%
II Б	25,1%
Функциональный класс NYHA	3,3±3,1

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 97 больных ППС. У 68 пациентов осуществлено протезирование одного клапана, 19 – выполнено двухклапанное, 8 больным – трехклапанное протезирование. Двум пациентам проведена операция Росса. Все больные оперированы под общим обезболиванием. Продолжительность перфузии составила 152,7±63 мин, температура ИК – 34,1±2,1 °С, время окклюзии аорты (ОА) – 115,5±51,1 мин. Интенсивность ПОЛ и антиоксидантной защиты липидов (АОЗ) изучали по пока-

<i>Название операции</i>	<i>Кол-во</i>
Протезирование митрального клапана	38
Протезирование аортального клапана	30
Протезирование аортального и митрального клапана	11
Протезирование митрального и трехстворчатого клапана	8
Протезирование аортального, митрального и трехстворчатого клапана	8
Операция Росса	2

период его полувыведения (TS AP), клиренс (Cl AP) и объем распределения (Vd AP). Принято считать, что увеличение TS AP и замедление Cl AP свидетельствует о снижении активности цитохром P-450-зависимых микросомальных монооксигеназ печени.

Показатели ПОЛ-АОЗ и МФП изучали при поступлении, в первые, 3-и–4-е и на 10–12-е сутки после кардиохирургического вмешательства. С помощью этих методов были также обследованы 22 здоровых добровольца.

Анализ данных проводили с помощью программы «Statistica 5.5», используя t-тест для двух зависимых и независимых выборок, а также коэффициент корреляции Пирсона. Результаты представлены как среднее и стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). Статистически значимыми считались различия данных и корреляция при $P < 0,05$. Исследования выполнены в соответствии с этическими стандартами биоэтического комитета ФГУ «НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании оксидативного стресса до операции у больных ППС установлен повышенный уровень метаболитов ПОЛ и ЦП по сравнению со здоровыми лицами. Концентрация СТ и МДА составляла $1,28 \pm 0,61$ ед. опт. пл. и $6,9 \pm 2,0$ нмоль/мл. Содержание ЦП равнялось $0,48 \pm 0,15$ г/л. Активность КТ достоверно не различалась. При исследовании МФП в этот же период выявлено увеличение $T \frac{1}{2}$ AP до $15,2 \pm 11,5$ ч. Показатели Cl AP достоверно не различались по сравнению со здоровыми лицами (табл. 1).

Изучение процессов ПОЛ-АОЗ и МФП после коррекции пороков сердца позволило установить, что в первые сутки после операции концентрация СТ и МДА у больных ППС увеличивалась на 25 и 39%. Содержание ЦП снижалось на 31,3%. Активность КТ повышалась на 121,6% по сравнению с исходным уровнем. На этом же этапе обследо-

вания $T \frac{1}{2}$ AP увеличивался на 95,4%, Cl AP уменьшался на 53,1% по сравнению с дооперационными данными (табл. 2). На 3-и–4-е и 10–12-е сутки после операции концентрация СТ существенно снижалась по сравнению с предыдущим периодом и достоверно не отличалась от исходных значений. Содержание МДА уменьшалось, превосходя дооперационный уровень на 18,3 и 14,9%. Концентрация ЦП на 3-и–4-е сутки достигало исходных значений, а на 10–12-е сутки после операции превышала их величины на 21,3%. Активность КТ на 3-и–4-е сутки значительно снижалась и на 10–12-е сутки после операции достигала дооперационных значений. При исследовании МФП выявлено, что скорость печеночного метаболизма существенно увеличивалась, а показатели $T \frac{1}{2}$ AP и Cl AP на 3-и–4-е и 10–12-е сутки после операции соответствовали исходным значениям (табл. 2).

При проведении корреляционного анализа между показателями ПОЛ-АОЗ и фармакокинетики AP установлена прямая связь между $T \frac{1}{2}$ AP и активностью КТ до операции ($r=0,38$; $P < 0,05$), прямая зависимость $T \frac{1}{2}$ AP с концентрацией СТ и

Таблица 2

Показатели ПОЛ-АОЗ и МФП у больных ППС до и после кардиохирургического вмешательства

Показатели	1-е сутки n=97	3-и–4-е сутки (n=22)	10–12-е сутки (n=72)
СТ, ед. опт. пл	$1,28 \pm 0,61$ $1,6 \pm 0,85^*$	$1,47 \pm 0,71$ $1,26 \pm 0,58$	$1,35 \pm 0,7$ $1,25 \pm 0,59$
Δ%	+25	-14,3	-7,4
МДА, нмоль/мл	$6,9 \pm 2,0$ $9,6 \pm 2,7^*$	$6,93 \pm 2,1$ $8,2 \pm 2,0^*$	$6,85 \pm 2,12$ $7,87 \pm 2,7^*$
Δ%	+39	+18,3	+14,9
ЦП, г/л	$0,48 \pm 0,15$ $0,33 \pm 0,12^*$	$0,47 \pm 0,14$ $0,51 \pm 0,12$	$0,47 \pm 0,18$ $0,57 \pm 0,17^*$
Δ%	-31,3	+8,5	+21,3
КТ, мкат/л	$77,9 \pm 27,5$ $172,6 \pm 60,8^*$	$79,4 \pm 28,9$ $102,5 \pm 34,2^*$	$91,2 \pm 34$ $99 \pm 29,4$
Δ%	+121,6	+29,1	+7,9
$T \frac{1}{2}$ AP, ч	$15,2 \pm 13,5$ $29,7 \pm 25,4^*$	$15,1 \pm 10,1$ $11,6 \pm 4,8$	$14,6 \pm 10,7$ $12,9 \pm 7,2$
Δ%	+95,4	-23,2	-11,7
Cl AP, мл/(кг·ч)	$39,0 \pm 18,9$ $18,3 \pm 11,1^*$	$35,5 \pm 16,0$ $37,5 \pm 14,4$	$37,1 \pm 15,8$ $41,8 \pm 17,9$
Δ%	-53,1	+5,6	+12,7
Vd AP, л/кг	$0,62 \pm 0,15$ $0,54 \pm 0,15^*$	$0,64 \pm 0,15$ $0,56 \pm 0,16$	$0,62 \pm 0,14$ $0,61 \pm 0,16$
Δ%	-12,1	-12,5	-1,6

В первой строке – показатели больных до операции, обследованных на данном этапе. Во второй строке – показатели, соответствующие этапу обследования.
* $P < 0,05$ различия достоверны по сравнению с показателями до операции

Таблица 1

Показатели ПОЛ-АОЗ и МФП у здоровых лиц и больных ППС

Показатели	Здоровые лица (n=22)	Больные ППС (n=97)
СТ, ед. опт. пл.	$0,57 \pm 0,92$	$1,28 \pm 0,61^*$
МДА, нмоль/мл	$5,05 \pm 0,71$	$6,9 \pm 2,0^*$
ЦП, г/л	$0,37 \pm 0,19$	$0,48 \pm 0,15^*$
КТ, мкат/л	$89,8 \pm 21,6$	$77,9 \pm 27,5$
$T \frac{1}{2}$ AP, ч	$10,1 \pm 3,1$	$15,2 \pm 11,5^*$
Cl AP, мл/(кг·ч)	$40,9 \pm 7,2$	$39,0 \pm 18,9$
Vd AP, л/кг	$0,57 \pm 0,097$	$0,62 \pm 0,15$

* $P < 0,05$ различия достоверны по сравнению с показателями у здоровых лиц

МДА в первые сутки после коррекции ППС ($r=0,45$; $r=0,32$; $P<0,05$), а также прямая зависимость между величиной CI AP и ЦП в этот же период ($r=0,48$; $P<0,05$). Корреляционный анализ интенсивности окислительного стресса и МФП с показателями ИК и ОА выявил прямую связь содержания МДА с длительностью перфузии и ишемии миокарда в первые сутки после операции ($r=0,35$; $r=0,36$; $P<0,05$), а также обратную зависимость CI AP с продолжительностью ИК и ОА в этот же период ($r=-0,41$; $r=-0,36$; $P<0,05$).

Таким образом, полученные результаты показали, что у больных ППС до операции имелась умеренная активация пероксидации липидов и антирадикальной составляющей системы АОЗ, что вполне объяснимо гипоперфузией и гипоксией, характерных для сердечной недостаточности. При исследовании МФП выявлено ее незначительное снижение по сравнению с печеночным метаболизмом у здоровых лиц.

В первые сутки после коррекции пороков сердца имелось существенное повышение интенсивности ПОЛ с подавлением антирадикального звена системы АОЗ и активацией ее антиперекисной составляющей. В этот же период установлено выраженное замедление микросомального окисления в печени, примерно в два раза, по сравнению с исходными данными. На 3-и–4-е и 10–12-е сутки после операции отмечено значительное снижение активности ПОЛ и антиперекисного звена системы АОЗ с увеличением интенсивности ее антирадикальной составляющей. Характерно, что в эти же периоды показатели печеночного метаболизма заметно повышались и достоверно не отличались от исходных данных. Можно предположить, что замедление МФП до операции и в первые сутки после коррекции ППС связано с увеличением синтеза свободных радикалов, способных подавлять активность цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ печени. Это подтверждает и динамика показателей ПОЛ и МФП на 3-и–4-е и 10–12-е сутки после операции, когда на фоне заметного снижения окислительного стресса происходило полное восстановление печеночного метаболизма до исходного уровня. В этой связи весьма информативны данные корреляционного анализа. Выявленные при этом зависимости показателей окислительного стресса с интенсивностью микросомального окисления в печени указывают на альтернирующий эффект пероксидации липидов, на каталитическую активность монооксигеназ печени.

Известно, что ИК и реперфузия миокарда приводят к выраженному нарушению баланса в про-антиоксидантной системе с интенсификацией окислительного стресса [11, 17]. В связи с этим определенный интерес представляют данные корреляционного анализа показателей окислительного стресса и печеночного метаболизма с длительно-

стью перфузии и ишемии миокарда. Выявленные при этом зависимости свидетельствуют как об активирующем влиянии ИК и ОА на процессы ПОЛ, так и замедляющем эффекте перфузии и ишемии миокарда на интенсивность метаболизма ксенобиотиков в печени. Полученные данные вполне объяснимы индуцирующим влиянием ИК и реперфузии миокарда на скорость образования свободных радикалов, оказывающих повреждающее действие на мембраны эндоплазматического ретикула гепатоцитов.

Безусловно, что комплекс факторов, определяющих снижение МФП, является более сложным и включает, наряду с оксидативным стрессом, острую воспалительную реакцию, эндотоксемию и сепсис [9, 10, 15]. Так, в наших предыдущих исследованиях показано, что у больных ППС на фоне активации системного воспалительного ответа имелось выраженное замедление печеночного метаболизма ксенобиотиков [5]. Очевидно, что в этом случае значительную роль в снижении активности микросомальных монооксигеназ печени играют воспалительные медиаторы и оксид азота, синтез которых после операции на открытом сердце существенно увеличивается [9, 21].

Отметим, что замедление печеночного метаболизма ксенобиотиков имеет существенное клиническое значение, ибо биотрансформация многих лекарственных препаратов, включая антагонисты кальция, бета-блокаторы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, антикоагулянты, нитраты, барбитураты, транквилизаторы и наркотические анальгетики, происходит с участием цитохром Р-450-зависимой микросомальной системы гепатоцитов [13, 14, 18, 19]. Имеются многочисленные клинические наблюдения, свидетельствующие о замедлении лекарственного клиренса и изменении фармакодинамики при некоторых заболеваниях с выраженным воспалительным компонентом [9, 19].

В ряде исследований показано, что для фармакопрепаратов, метаболизируемых печенью и имеющих узкий терапевтический индекс, имеется существенный риск передозировки и побочных эффектов при грамм-негативных бактериальных инфекциях [15, 19]. J. Carcillo и соавт. (2003) отметили, что у детей с сепсисом и полиорганной недостаточностью имеется острая необходимость пересмотра стандартных доз лекарственных препаратов, метаболизируемых цитохром Р-450-зависимыми монооксигеназами печени [9]. R. Frye и соавт. (2002) указывают, что снижение печеночного метаболизма может существенно изменять эффективность лекарственной терапии и увеличивать риск появления побочных эффектов у больных с застойной сердечной недостаточностью [10]. Нами установлено, что замедление МФП у больных с рефрактерной артериальной гипертензией после хирургической коррекции гиперкортицизма

приводит к значительному снижению толерантности к гипотензивным препаратам, включая нифедипин, пропранолол и капотен [4].

Отметим, что, несмотря на имеющиеся данные, информация об активности микросомальных монооксигеназ печени и ее влиянии на эффективность лекарственной терапии у больных ППС отсутствует. В данном исследовании мы впервые показали, что у больных ППС в первые сутки после операции имелось выраженное снижение МФП, в котором существенную роль играет интенсификация оксидативного стресса. Несомненно, что замедление микросомального окисления в печени может изменять фармакологический ответ и поэтому требует тщательной коррекции доз лекарственных препаратов у больных ППС в раннем послеоперационном периоде.

ВЫВОДЫ

1. У больных ППС в исходном периоде имелись умеренная интенсификация окислительного стресса и незначительное замедление печеночного метаболизма.
2. Кардиохирургическое вмешательство приводит к выраженному подавлению (в два раза) МФП в первые и нормализации ее показателей на 3-и–4-е и 10–12-е сутки после операции.
3. Одной из основных причин замедления биотрансформации ксенобиотиков после коррекции ППС является активация процессов ПОЛ.
4. Искусственное кровообращение и ишемия миокарда усиливает окислительный стресс и потенцирует снижение МФП.
5. Замедление микросомального окисления в печени после операций на открытом сердце может повышать чувствительность больных ППС к лекарственной терапии и требует дифференцированного подхода к ее назначению.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лившиц Р.И. // *Вопросы медицинской химии*. 1989. № 1. С. 127–131.
2. Колб В.Г., Камышников В.С. *Справочник по клинической химии*. Минск, 1982. С. 198–200.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токкарев В.И. // *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
4. Непомнящих В.А., Ломиворотов В.В., Дерягин М.Н. и др. // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2007. № 3. С. 40–45.
5. Непомнящих В.А., Ломиворотов В.В., Дерягин М.Н. и др. *Биотрансформация ксенобиотиков и воспаление у больных ППС после операции на открытом сердце // XI ежегодная сессия НЦСС им. А.Н. Бакулева. М., 2007. С. 155.*
6. Семенюк А.В., Колесникова Л.И., Куликов В.Ю. и др. // *Лабор. дело*. 1982. № 10. С. 607–609.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. *Метод определения малонового диальдегида с помощью ти-*

обарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М., 1977. С. 66–68.

8. Akila, D'souza B., Vishwanath P., D'souza V. // *Clin. Chim. Acta*. 2007. V. 375 (suppl. 1–2). P. 147–152.
9. Carcillo J., Dougty L., Kofos D. et al. // *Intensive Care Med*. 2003. V. 29. № 6. P. 980–984.
10. Frye R., Schneider V., Frye C. et al. // *J. Card. Fail.* 2002. V. 8. № 5. P. 315–319.
11. Gottlieb R.A. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2003. V. 420. № 2. P. 262–267.
12. Halliwell B., Chirico S. // *Am. J. Clin. Nutr.* 1993. V. 57. № 5. P. 715–724.
13. Hoen P., Bijsterbosch M. et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001. V. 299. № 3. P. 921–927.
14. Hung D., Siebert G., Chang P. et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006. V. 290. № 2. P. 343–351.
15. Kiyoyuki K., Li W., Kenji T. et al. // *Antimicrob. Agent Chemother.* 1999. V. 43. № 11. P. 2697–2701.
16. Lee S. H., Lee S. M. // *Shock*. 2005. V. 23. № 2. P. 144–149.
17. Luyten C., Van Overveld J., De Backer L. et al. // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2005. V. 27. P. 611–614.
18. Minamiyama Y., Takemura S., Yamasaki K. et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004. V. 308. № 2. P. 729–735.
19. Renton K. // *Expert. Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2005. V. 1. № 4. P. 629–640.
20. Tanaka E., Breimer D. // *J. Clin. Pharm. Ther.* 1997. V. 22. № 4. P. 237–249.
21. Wei M., Kuukasjarvi P., Laurikka J. et al. // *Aging. Clin. Exp. Res.* 2003. V. 15. № 6. P. 469–474.

OXIDATIVE STRESS AND CYTOCHROME P450-DEPENDENT LIVER METABOLISM DECREASE IN PATIENTS WITH ACQUIRED VALVULAR HEART DISEASE

V.A. Nepomniashchikh, V.V. Lomivorotov,
M.N. Deryagin, V.N. Lomivorotov, L.G. Kniazkova,
M.A. Novikov, S.S. Mikhailov

Aim of investigation. The evaluation of oxidative stress and liver monooxygenase function in patients with acquired valvular heart disease (AVHD) after cardiac surgery. **Methods.** Ninety-seven AVHD patients were studied. Oxidative stress (OS) was quantified with malon dialdehyde (MD), coupled triens (CT), hepatocuprein (HC) and catalase activity (CA). Liver monooxygenase function (LMF) was evaluated with T $\frac{1}{2}$ and clearance of antipyrine (CI AP). **Results.** On the first postoperative day were characterized by high lipid peroxidation activation (MD, CT, CA: +25, +39, +121,6%; HC: -31.3%) and significant decrease in LMF (T S AP: +95.4%; CI AP: -53.1%). On the 3rd-4th and 10th-12th postoperative day were noticed marked OS decrease and LMF increase fitted the baseline. The correlation analysis showed a positive relationship between T $\frac{1}{2}$ AP and OS parameters, and negative relationship between CI AP and duration of cardiopulmonary bypass. **Conclusion.** The cardio-surgical intervention caused significant decrease of MLF (in two times) on the first postoperative day in AVHD patients. Lipid peroxidation activation is one of the main causes of LMF depression. Slowdown of liver microsomal oxidation might change pharmacokinetic response of AVHD patients under drug therapy.

Keywords: oxidative stress, monooxygenase liver function, antipyrine, acquired valvular heart disease.