

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

ВЛИЯНИЕ ИСКУССТВЕННОГО КРОВОБРАЩЕНИЯ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И МЕТАБОЛИЗМ КСЕНОБИОТИКОВ В ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

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

В работе представлены данные о влиянии искусственного кровообращения (ИК) на перекисное окисление липидов (ПОЛ) и монооксигеназную функцию печени (МФП) у 26 больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях ИК. Контрольную группу составили 11 пациентов после операции на работающем сердце. МФП оценивали по данным фармакокинетики антипирина (АР), ПОЛ — по показателям малонового диальдегида, сопряженных триенов, церулоплазмينا и каталазы плазмы. В первые сутки после операции в основной группе отмечены выраженная активация ПОЛ, а также снижение МФП в полтора раза по сравнению с исходными данными. В контрольной группе выявлено лишь незначительное снижение содержания церулоплазмينا, остальные показатели ПОЛ и МФП не отличались от исходных значений. На третьи-четвертые и десятые-двенадцатые сутки после операции в основной группе интенсивность ПОЛ снижалась, а МФП восстанавливалась до исходного уровня. В контрольной группе на этих этапах показатели ПОЛ и МФП не отличались от исходных значений. Корреляционный анализ выявил прямую связь длительности ИК с интенсивностью ПОЛ и периодом полувыведения АР. Следовательно, ИК активирует окислительный стресс и снижает МФП.

Ключевые слова: искусственное кровообращение, перекисное окисление липидов, монооксигеназная функция печени, ишемическая болезнь сердца.

Известно, что операция на открытом сердце у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) приводит к выраженной активации окислительного стресса [1, 2]. При этом ведущая роль в нарушении баланса в проантиоксидантной системе и интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ) отводится искусственному кровообращению (ИК) и реперфузии миокарда [2–4]. Избыточная генерация активных форм кислорода инициирует цепную реакцию пероксидации ненасыщенных жирных кислот и может вызывать существенные структурные нарушения мембран эндоплазматического ретикула гепатоцитов [5–8], которые имеют в своем составе цитохром Р-450-зависимые микросомальные монооксигеназы печени, ответственные за биотрансформацию большинства ксенобиотиков и эндогенных соединений [9–11]. 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 [12, 13]. В этой связи представляет-

ся актуальным исследование у больных ИБС влияния ИК на интенсивность окислительного стресса и монооксигеназные реакции в печени.

Материалы и методы

Обследовано 26 больных ИБС в возрасте $52,7 \pm 9,5$ лет (функциональный класс по NYHA $1,8 \pm 0,6$), оперированных в условиях ИК. Продолжительность перфузии составила $147,1 \pm 52,6$ мин, температура ИК — $34,6 \pm 1,9$ °С, время окклюзии аорты (ОА) — $96,7 \pm 39,1$ мин. Всем пациентам была выполнена операция аорто- и маммарокоронарного шунтирования под общим обезболиванием. Контрольную группу составили 11 больных ИБС, оперированных на работающем сердце (off pump) и имеющих примерно аналогичный функциональный класс по NYHA ($1,9 \pm 0,5$).

Интенсивность ПОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) липидов изучали по показателям малонового диальдегида, сопряженных триенов, церулоплазмينا и каталазы плазмы [14–17]. Активность микросомальных монооксигеназ печени (монооксигеназная функция) оценивали по показателям фармакокинетики антипирина

Таблица 1

Динамика показателей ПОЛ-АОЗ и МФП у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения, $M \pm t$

Показатели	Первые сутки (n = 26)	Третьи-четвертые сутки (n = 21)	Десятые-двенадцатые сутки (n = 24)
СТ, ед. опт. пл	1,12 ± 0,58	1,1 ± 0,62	1,18 ± 0,79
Δ %	1,69 ± 0,56* +50,9	1,82 ± 0,71* +65,5	1,37 ± 0,84 +16,1
МДА, нмоль/мл	6,42 ± 1,14	6,08 ± 0,96	5,74 ± 0,82
Δ %	8,5 ± 2,1* +32,4	7,7 ± 0,84* +26,6	6,9 ± 1,0* +20,2
ЦП, г/л	0,35 ± 0,06	0,39 ± 0,12	0,38 ± 0,15
Δ %	0,23 ± 0,08* -34,3	0,42 ± 0,14 +7,7	0,47 ± 0,23 +23,7
КТ, мкат/л	71,3 ± 37,1	66,4 ± 30,9	76,3 ± 32,9
Δ %	136,5 ± 42,7* +91,5	106,9 ± 21,5* +60,9	88,5 ± 29,6 +16
T ¹ / ₂ AP, ч	14,7 ± 4,6	15,2 ± 4,2	14,8 ± 4,7
Δ %	23,8 ± 15,7* +61,9	15,4 ± 4,3 +1,3	15,9 ± 10,1 +7,4
Cl AP, мл/кг/ч	5,8 ± 11,8	33,1 ± 9,8	35,4 ± 11,2
Δ %	24,9 ± 13,5* -30,5	37,8 ± 22,1 +14,2	36,2 ± 18,7 +2,3
Vd AP, л/кг	0,70 ± 0,14	0,72 ± 0,13	0,74 ± 0,12
Δ %	0,68 ± 0,26 -2,9	0,67 ± 0,19 -6,9	0,69 ± 0,15 -6,8

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

(AP) [18], рассчитывая период его полувыведения ($T^{1/2}$ AP), клиренс (Cl AP) и объем распределения (Vd AP). Показатели ПОЛ-АОЗ и монооксигеназной функции печени (МФП) изучали при поступлении, в первые, третьи-четвертые и на десятые-двенадцатые сутки после кардиохирургического вмешательства. Анализ данных проводили с помощью программы “Statistika 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 на больных выполнены неинвазивными методами с информированного согласия испытуемых и соответствовали этическим нормам биоэтического комитета НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н.Мешалкина, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией (2000 г.).

Результаты

Установлено, что у пациентов, оперированных на открытом сердце, в первые сутки после операции содержание сопряженных триенов

(СТ), малонового диальдегида (МДА) и активность каталазы (КТ) увеличивались на 50,9, 32,4 и 91,5 % соответственно, концентрация церулоплазмина (ЦП) снижалась на 34,3 % по сравнению с исходным периодом. Исследование показателей МФП показало, что $T^{1/2}$ AP увеличивался на 61,9 %, Cl AP снижался на 30,5 % (табл. 1). В группе больных, оперированных off pump, содержание ЦП в первые сутки после операции снижалось на 26,1 %. При этом остальные показатели ПОЛ-АОЗ, а также данные фармакокинетики AP достоверно не отличались от исходных значений (табл. 2).

На третьи-четвертые сутки после операции в основной группе содержание СТ и МДА превышало исходный уровень на 65,5 и 26,6 %, активность КТ несколько снижалась по сравнению с предыдущим периодом, превышая дооперационные значения на 60,9 %, концентрация ЦП возрастала до исходного уровня. При исследовании МФП установлено, что показатели фармакокинетики AP соответствовали исходным значениям (табл. 1). На этом же этапе в контрольной группе концентрация ЦП увели-

Таблица 2

Динамика показателей ПОЛ-АОЗ и МФП у больных ИБС, оперированных в условиях off pump, $M \pm m$

Показатели	Первые сутки (n = 11)	Третьи-четвертые сутки (n = 6)	Десятые-двенадцатые сутки (n = 8)
СТ, ед. опт. пл	1,15 ± 0,69	1,17 ± 0,72	0,86 ± 0,52
Δ %	1,03 ± 0,22 -10,4	1,08 ± 1,03 -7,7	1,07 ± 0,48 +24,4
МДА, нмоль/мл	6,51 ± 1,64	6,46 ± 1,92	6,41 ± 0,43
Δ %	7,03 ± 0,89 +8,0	7,41 ± 0,84 +14,7	8,62 ± 2,68 +34,5
ЦП, г/л	0,46 ± 0,14	0,45 ± 0,13	0,47 ± 0,07
Δ %	0,34 ± 0,12* -26,1	0,46 ± 0,18 +2,2	0,52 ± 0,11 +10,6
КТ, мкат/л	73,4 ± 29,7	65,4 ± 27,8	76,8 ± 36,5
Δ %	81,6 ± 40,5 +11,2	90,8 ± 44,1 +38,8	85,9 ± 37,6 +11,8
$T^{1/2}$ AP, ч	14,6 ± 4,9	13,4 ± 5,2	14,9 ± 5,7
Δ %	18,1 ± 5,7 +24,0	16,0 ± 16,4 +19,4	14,1 ± 4,6 -5,4
Cl AP, мл/кг/ч	35,1 ± 12,1	41,6 ± 9,1	36,5 ± 3,8
Δ %	27,9 ± 14,6 -20,5	48,3 ± 26,3 +16,1	38,1 ± 4,9 +4,4
Vd AP, л/кг	0,66 ± 0,13	0,71 ± 0,12	0,65 ± 0,12
Δ %	0,68 ± 0,11 +3,0	0,76 ± 0,11 +7,0	0,71 ± 0,18 +9,2

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

чивалась и вместе с остальными показателями оксидативного стресса и фармакокинетики антипирина достоверно не отличалась от дооперационных значений (табл. 2).

На десятые-двенадцатые сутки после реваскуляризации миокарда в основной группе содержание СТ, КТ и ЦП достоверно не отличалось от исходных значений, уровень МДА уменьшался по сравнению с предыдущим этапом, превышая дооперационный уровень на 20,2 %. Данные фармакокинетики AP соответствовали исходным значениям (табл. 1). В этот же период в контрольной группе показатели ПОЛ-АОЗ, также как и метаболизма AP, достоверно не отличались от дооперационного уровня (табл. 2).

При проведении корреляционного анализа в основной группе установлено, что в первые сутки после операции имелась прямая зависимость концентрации СТ от длительности ИК и времени ОА ($r = 0,69$; $r = 0,74$; $P < 0,05$), прямая связь активности КТ с временем ИК и длительностью ОА ($r = 0,32$, $r = 0,29$; $P < 0,05$), а также обратная зависимость содержания ЦП от продолжительности ИК и времени ОА ($r =$

$-0,31$; $r = -0,34$; $P < 0,05$). Кроме этого, в первые сутки после реваскуляризации миокарда выявлена прямая зависимость между $T^{1/2}$ AP и продолжительностью ИК ($r = 0,51$; $P < 0,05$), обратная связь между содержанием МДА и показателями Cl AP ($r = -0,53$; $P < 0,05$), а также обратная зависимость между величиной $T^{1/2}$ AP и температурой ИК ($r = -0,29$; $P < 0,05$). Исследование корреляционной связи на третьи-четвертые сутки после реваскуляризации миокарда обнаружило отрицательную зависимость между содержанием СТ и температурой ИК ($r = -0,36$; $P < 0,05$), а также обратную связь $T^{1/2}$ AP с температурой перфузии ($r = -0,47$; $P < 0,05$). На десятые-двенадцатые сутки после операции выявлена прямая связь величины МДА с длительностью ИК и временем ОА ($r = 0,41$; $r = 0,33$; $P < 0,05$), а также обратная связь показателей МДА с температурой перфузии ($r = -0,43$; $P < 0,05$).

Обсуждение

В первые сутки после операции у больных основной группы отмечены выраженная активация процессов ПОЛ и антиперекисного звена АОЗ с уменьшением содержания ЦП.

Исследование МФП выявило замедление микросомального окисления в печени примерно в полтора раза по сравнению с исходными данными. Отличительно, что у пациентов контрольной группы в этот же период имелось лишь незначительное снижение концентрации ЦП (антирадикального звена системы АОЗ). Остальные показатели окислительного стресса, а также интенсивность МФП соответствовали дооперационному уровню.

На третьи-четвертые сутки после операции у пациентов основной группы сохранялась высокая активность ПОЛ с усилением интенсивности антирадикальной составляющей АОЗ. При изучении фармакокинетики АР установлено, что уровень печеночного метаболизма заметно повышался по сравнению с предыдущим этапом и достоверно не отличался от исходного. При этом показатели окислительного стресса, а также скорость микросомального окисления в печени соответствовали дооперационному уровню.

На десятые-двенадцатые сутки после операции в основной группе имелось заметное уменьшение интенсивности ПОЛ с дальнейшим увеличением концентрации ЦП (антиперекисного звена системы АОЗ). При исследовании МФП выявлено, что активность микросомальных ферментов печени существенно не менялась и соответствовала исходным данным. Отличительно, что в контрольной группе в этот же период интенсивность окислительного стресса и МФП достоверно не отличались от дооперационного уровня.

Таким образом, операция на открытом сердце сопровождается, с одной стороны, более выраженной активацией процессов ПОЛ и подавлением системы АОЗ, с другой — замедлением печеночного метаболизма (первые сутки) по сравнению с операцией на работающем сердце. Полученные данные вполне объяснимы индуцирующим влиянием ИК на интенсивность образования свободных радикалов, способных подавлять активность цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ печени. В связи с этим определенный интерес представляют данные корреляционного анализа. Выявленные при этом зависимости показателей перфузии с интенсивностью окислительного стресса и печеночного метаболизма свидетельствуют как об активирующем влиянии ИК на процессы ПОЛ, так и о повреждающем действии перфузии на систему микросомальных монооксигеназ печени. С другой стороны, достоверная связь между показателями ПОЛ и МФП указывает на по-

давливающий эффект пероксидации липидов на печеночный метаболизм. Характерно, что увеличение времени перфузии и ишемии миокарда, а также снижение температуры ИК приводит к более выраженному окислительному стрессу и замедлению метаболизма в печени.

Выводы

1. ИК у больных ИБС активирует окислительный стресс и снижает МФП.

2. Степень интенсификации окислительного стресса и замедления микросомального окисления в печени имеет прямую зависимость от длительности ИК и времени ишемии миокарда.

3. Активация процессов ПОЛ является одной из основных причин замедления биотрансформации ксенобиотиков в печени после реваскуляризации миокарда.

THE INFLUENCE OF CARDIOPULMONARY BYPASS ON OXIDATIVE STRESS AND METABOLISM OF XENOBIOTICS IN THE LIVER IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

V.A. Nepomniachshikh, V.V. Lomivorotov, M.N. Deryagin, L.G. Kniazkova, A.A. Yefimov, M.A. Novikov, V.N. Lomivorotov

The paper represent the data on the influence of cardiopulmonary bypass (CPB) on lipid peroxidation (LPO) and monooxygenase liver function (MLF) in 26 coronary artery disease patients operated under CPB. The control group consists of 11 patients operated off-pump. MLF was evaluated by halftime of antipyrine elimination ($T^{1/2}$ AP) and antipyrine clearance, LPO was studied by evaluating the level of malon dialdehyde, coupled triens, ceruloplasmin and catalase activity.

During the first day after the operation in main group the marked activation of LPO was observed, there was also a decrease in MLF by 1,5 times as to compare to the initial values. In control group the decrease in CP level was not so marked, changes in LPO and MLF was not observed. On 3–4 and 10–12 day after the operation in main group the intensity of LPO was decreased, the activity of MLF restored to the preoperative values. In the control group at the same period the activity of LPO and MLF was at the initial values. The correlation analysis made it possible to identify a positive relationship between the duration of CPB and intensity of LPO and $T^{1/2}$ AP. As our results showed, CPB causes activation of LPO and a decrease in MLF.

Литература

1. Караськов А.М., В.В. Ломиворотов. Биохимическая адаптация после кардиохирургических вмешательств. Новосибирск, 2004. 287 с.
2. Трубицина Е.С. Применение антиоксиданта мексидола у больных ишемической болезнью сердца оперированных в условиях искусственного кровообращения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2006.
3. Скопец А.А. Метаболические сдвиги у больных приобретенными пороками сердца, оперированных в условиях гипотермической и нормотермической перфузии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2004.
4. Gottlieb R.A. Cytochrome P450: major player in reperfusion injury // Arch Biochem. Biophys. 2003. 420. 2. 262–267.
5. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. РАМН. 1998. 7. 43–51.
6. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. М., 2001. 343 с.
7. El-Kadi A., Bleau A., Dumont I. et al. Role of Reactive Oxygen Intermediates in the Decrease of Hepatic Cytochrome P450 Activity by Serum of Humans and Rabbits with an Acute Inflammatory Reaction // Drug Metabolism and Disposition. 2000. 28. 9. 1112–1120.
8. Lee S. H., Lee S.M. Suppression of hepatic cytochrome P450-mediated drug metabolism during the late stage of sepsis in rats // Shock. 2005. 23. 2. 144–149.
9. Angiolillo D., Fernandez-Ortiz F., Bernardo E. Contribution of gene sequence variations of the hepatic cytochrome P450 3A4 enzyme to variability // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2006. 26. 8. 1895–1900.
10. Harbrecht B., Frye R., Zenati M. Cytochrome P-450 activity is differentially altered in severely injured patients // Crit. Care Med. 2005. 33. 3. 541–546.
11. Nebert D., Russell D. Clinical importance of the cytochromes P450 // Lancet. 2002. 360. 9340. 1155–1162.
12. Carcillo J., Dougty L. Cytochrome P450 mediated-drug metabolism is reduced in children with sepsis-induced multiple organ failure // Intensive Care Med. 2003. 29. 6. 980–984.
13. Murrau M., Petrovic N. Cytochromes P450: decision-making tools for personalized therapeutics // Curr. Opin. Mol. Ther. 2006. 8. 6. 480–486.
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М., 1977. 66–68.
15. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г. и др. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопросы медицинской химии. 1989. 1. 127–131.
16. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. Минск, 1982. 198–200.
17. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. 1. 16–19.
18. Неделькина С.В., Дианова И.И., Субботина Р.С. и др. Непрямой метод определения активности ферментов, метаболизирующих лекарственные вещества и его применение в клинике // Вопр. мед. химии. 1977. 6. 844–847.