

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Южный федеральный университет»

*На правах рукописи*



ГВАЛДИН ДМИТРИЙ ЮРЬЕВИЧ

**Процессы воспаления и окислительного стресса в разработке индикаторов патогенеза ишемической болезни сердца после аортокоронарного шунтирования**

03.01.04 – биохимия

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
профессор В.В. Внуков

Ростов-на-Дону

2017

## Содержание

|   |    |
|---|----|
| <b>Список сокращений</b>  | 4  |
| <b>Введение</b>   | 6  |
| <b>Глава 1. Обзор литературы</b>  | 14 |
| 1.1. Молекулярные механизмы патогенеза ишемической болезни сердца   | 14 |
| 1.2. Общая характеристика постперикардиотомного синдрома  | 17 |
| 1.3. Воспаление: механизмы развития системного воспалительного ответа. Взаимосвязь воспаления и окислительного стресса. | 21 |
| 1.4. Общая характеристика окислительного стресса  | 32 |
| <b>Глава 2. Материалы и методы исследования</b>   | 53 |
| 2.1 Материалы исследования  | 53 |
| 2.1.1 Клинические наблюдения и клинические группы   | 53 |
| 2.1.2 Получение биологического материала  | 54 |
| 2.2 Биохимические методы исследования   | 55 |
| 2.2.1 Определение содержания стабильных метаболитов оксида азота нитритов/нитратов                                      | 55 |
| 2.2.2 Получение хлороформного экстракта липидов   | 56 |
| 2.2.3 Определение диеновых конъюгатов   | 56 |
| 2.2.4 Определение шиффовых оснований  | 57 |
| 2.2.5 Определение продуктов ПОЛ (малонового диальдегида), реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой                      | 58 |
| 2.2.6 Определение пероксидазной активности миелопероксидазы   | 59 |
| 2.2.7 Определение активности супероксиддисмутазы и супероксидустраняющей активности                                     | 60 |
| 2.2.8 Определение активности каталазы или скорости утилизации пероксида водорода  | 61 |
| 2.2.9 Определение оксидазной активности церулоплазмينا  | 62 |
| 2.2.10 Определение содержания восстановленного глутатиона   | 62 |
| 2.2.11 Определение активности глутатионпероксидазы  | 63 |
| 2.2.12 Определение активности глутатионредуктазы  | 64 |
| 2.2.13 Определение активности глутатион-S-трансферазы   | 65 |
| 2.2.14 Определение активности аргиназы  | 66 |
| 2.2.15 Определение содержания мочевины  | 67 |
| 2.2.16 Определение арилэстеразной активности параоксоназы   | 68 |
| 2.2.17 Определение концентрации общего белка  | 69 |
| 2.2.18 Определение содержания гемоглобина и внеэритроцитарного гемоглобина  | 69 |
| 2.2.19 Определение суммарной пероксидазной активности   | 69 |
| 2.3 Иммуноферментный анализ   | 70 |
| 2.3.1. Определение содержания интерлейкина-1 $\beta$ , интерлейкина-6 и интерлейкина-8                                  | 70 |
| 2.3.2 Определение содержания асимметричного диметиларгинина   | 71 |
| 2.3.3 Определение содержания пероксиредоксина-1   | 73 |

|  |            |
|--|------------|
| 2.5. Статистическая обработка результатов  | 74         |
| <b>Глава 3. Результаты и их обсуждение</b>   | <b>75</b>  |
| 3.1. Свободнорадикальное окисление в крови и перикардиальной жидкости у больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование   | 75         |
| 3.2 Активность антиоксидантных ферментов и содержание низкомолекулярных антиоксидантов в эритроцитах, плазме и перикардиальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование | 84         |
| 3.3 Содержание внеэритроцитарного гемоглобина и суммарная пероксидазная активность в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование  | 118        |
| 3.4 Активность миелопероксидазы и арилэстеразная активность параоксоназы в плазме и перикардиальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование                            | 123        |
| 3.5 Уровень нитритов/нитратов и медиаторов эндотелиальной дисфункции в плазме и эритроцитах больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование.  | 134        |
| 3.6 Уровень провоспалительных цитокинов в плазме и перикардиальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование   | 141        |
| <b>Заключение</b>  | <b>154</b> |
| <b>Выводы</b>  | <b>156</b> |
| <b>Список литературы</b>   | <b>158</b> |

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АКШ - аортокоронарное шунтирование;
- АТФ - аденозинтрифосфат;
- АФА - активные формы азота;
- АФГ - активные формы галогенов;
- АФК - активные формы кислорода;
- ВЭГ - внеэритроцитарный гемоглобин;
- ГПО - глутатионпероксидаза;
- ГР - глутатионредуктаза;
- GST - глутатион-S-трансферазы;
- ДК - диеновые конъюгаты;
- ИЛ - интерлейкин;
- ИЛ-1 $\beta$  - интерлейкин-1 $\beta$ ;
- ИЛ-6 - интерлейкин-6;
- ИЛ-8 - интерлейкин-8;
- ИЛ-10 - интерлейкин-10;
- ИЛ-1 $\alpha$  - антогинист рецептора интерлейкина-1;
- ИМТ - индекс массы тела;
- ЛПВП - липопротеины высокой плотности;
- ЛПНП - липопротеины низкой плотности;
- МДА - малоновый диальдегид;
- МПО - миелопероксидаза;
- ПКТС - постперикардотомный синдром;
- ПНЖК - полиненасыщенные жирные кислоты;
- ПОЛ - перекисное окисление липидов;
- СВО - системный воспалительный ответ;
- СРП - свободнорадикальные процессы;
- СОД - супероксиддисмутаза;
- СПА - суммарная пероксидазная активность;

СУА - супероксидустраниющая активность;  
ТБК - 2-тиобарбитуровая кислота;  
ХДНБ - 1-хлор-2,4-динитробензол;  
ХСН - хроническая сердечная недостаточность;  
ЦП - церулоплазмин;  
ФНО- $\alpha$  - фактор некроза опухоли- $\alpha$ ;  
AUC - величина площади под ROC-кривой;  
ADMA - асимметричный диметиларгинин;  
DAMP - молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением;  
eNOS - эндотелиальная NO-синтаза;  
GSH - восстановленный глутатион;  
Hb - гемоглобин;  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - перекись водорода;  
HOCl - гипохлорит;  
iNOS - индуцибельная NO-синтаза;  
LOO<sup>•</sup> - пероксильный радикал липида;  
MIP-1 $\alpha$  - макрофагальный белок воспаления 1 $\alpha$ ;  
NF- $\kappa$ B - ядерный фактор каппа В;  
NO - оксид азота;  
NO<sub>x</sub> - метаболиты радикала оксида азота, нитриты/нитраты;  
O<sub>2</sub><sup>•-</sup> - супероксидный анион-радикал;  
ONOO<sup>-</sup> - пероксинитрит;  
PAMP - патоген-ассоциированные молекулярные паттерны;  
PON - параоксоназа;  
Prx1 - пероксиредоксин-1;  
V<sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></sub> - скорость утилизации перекиси водорода.

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на достижения кардиологии и кардиохирургии в плане профилактики и лечения болезней сердца, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются глобальной медико-социальной проблемой. По данным за 2013 год общая заболеваемость ишемической болезнью сердца за 10 лет выросла на 13,25% (Богачевская С.А. и др., 2015). С каждым годом увеличивается объем кардиохирургических вмешательств. По сведениям, поступившим в Научный совет по сердечно-сосудистой хирургии РАМН, в Российской Федерации стабильно растет частота применения хирургических и эндоваскулярных методов лечения больных с ишемической болезнью сердца (в 2,2 раза за последние 5 лет) (Бокерия Л.А., 2012). Наиболее эффективными принято считать методы прямой реваскуляризации миокарда (в частности аортокоронарное шунтирование, АКШ), поскольку они значительно снижают летальность и повышают качество жизни пациента (Гелис Л.Г. и др., 2007). Однако помимо положительного эффекта прямая реваскуляризация несет риск развития постоперационных осложнений, одним из которых является постперикардиотомный синдром (ПКТС).

ПКТС - это специфическая форма травматического перикардита, развивающаяся в рамках системной воспалительной реакции организма (СВО) (Chien N.-C., Shen T.-C., 2006; Игольникова Л.Н., Никулина Е.Г., 2012). Триггерными механизмами, запускающими СВО, являются воздействие хирургической травмы, контакт крови с оксигенатором и аппаратом искусственного кровообращения, ишемическое и реперфузионное повреждение кардиомиоцитов. В свою очередь, реперфузионные повреждения миокарда ассоциируются с интенсификацией свободнорадикального окисления и сверхпродукцией провоспалительных цитокинов (Сидоров Р.В. и др., 2011; Гелис Л.Г. и др., 2007). Известно, что генерация активных форм кислорода (АФК) и продукция цитокинов взаимосвязаны: супероксид-анион радикал  $O_2^{\cdot-}$ , оксид азота  $NO^{\cdot}$  и перекись водорода  $H_2O_2$  опосредуют продукцию таких медиато-

ров воспаления, как фактор некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкин-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ), интерлейкин-6 (ИЛ-6) и интерлейкин-8 (ИЛ-8), а те, в свою очередь, способны регулировать образование АФК (Closa D., Folch-Puy E., 2004; Naik E., Dixit V.M., 2011; Salman K.A., Ashraf S., 2013). Кроме того, свободнорадикальные процессы вызывают нарушение целостности клеточных мембран и запускают перекисное окисление липидов (ПОЛ). Такие антиоксиданты как, супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, церулоплазмин (ЦП), глутатион (GSH), глутатионпероксидаза (ГПО), глутатионредуктаза (ГР), глутатион-S-трансфераза (GST) играют ключевую роль в защите сердца от ишемического повреждения. Однако, усиление ПОЛ и повышенный уровень его продуктов (диеновые конъюгаты (ДК), шиффовые основания (ШО) и малоновый диальдегид (МДА)) ингибируют антиоксидантный потенциал кардиомиоцитов, способствуя развитию деструктивных процессов (Berger M.M. et al., 2007).

Активация прооксидантных ферментов (в частности, миелопероксидазы, МПО) в нейтрофилах, плазме крови и перикардиальной жидкости приводит к сверхпродукции активированных кислородных метаболитов и таким образом, смещает редокс-баланс в сторону окислительных процессов. Так, при соотношении редокс-определяющей пары восстановленной формы (GSH) и окисленной формы глутатиона, равном -150 мV запускаются апоптотические процессы (Watson W.H. et al., 2002). Показано, что апоптоз кардиомиоцитов может коррелировать с развитием послеоперационных осложнений (Gaudino M. et al., 2007; Schmitt J.P. et al., 2002).

Особый интерес представляет перикардиальная жидкость, изменения состава и увеличение объема которой являются характерными признаками постперикардотомного синдрома. При ПКТС отмечается экссудативная форма жидкости. Перикардиальный экссудат характеризуется высоким содержанием белка и увеличением клеточного состава. В перикардиальном выпоте присутствует множество небольших активных молекул (мочевина, мочевая кислота, глюкоза, креатинин, молекулы адгезии и цитокины) (Korcinovic L.M., Culej J., 2014). Немаловажна роль натрийуретического пеп-

тида в перикардиальной жидкости. Показано, что данный пептид способствует увеличению выпота и осуществляет противовоспалительное действие (Мартынова и др., 2008). Противовоспалительный эффект также оказывается параоксоназа (PON), функционально ассоциированная с липопротеинами высокой плотности (ЛПВП). Известно, что снижение арилэстеразной активности и концентрации PON может служить предиктором таких кардиопатологий, как атеросклероз и острый коронарный синдром (Huang Y. et al., 2013, Emami Razavi A. et al., 2013). PON защищает ЛПВП (в особенности, аполипопротеин-1) от окисления. Однако МПО опосредованно и напрямую способна ингибировать PON, приводя к окислению ЛПВП и модификации аполипопротеина-1, что существенно усиливает воспалительные процессы и вызывает значительные нарушения в функционировании защитной системы перикардиальной жидкости (Bergt C. et al., 2001; Zheng L. et al., 2004).

Однако необходимо отметить, что к настоящему моменту остаются не ясны многие патогенетические аспекты ПКТС, и что не менее важно - не до конца определен спектр возможных маркеров, способных предупредить развитие данного синдрома и таких жизнеопасных осложнений, как тампонада сердца.

### **Цель работы**

Исследовать роль окислительного стресса и воспаления в механизмах развития постперикардотомного синдрома у больных ишемической болезнью сердца, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда, и оценить возможность использования отдельных компонентов прооксидантной, антиоксидантной систем и воспалительного процесса в качестве биомаркеров и предикторов постоперационных осложнений на сердце.



## Задачи исследования

1. Определить интенсивность свободнорадикального окисления и содержание продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, шиффовых оснований) в крови и перикардиальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование.

2. Исследовать активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы), оксидазную активность церулоплазмينا и уровень восстановленного глутатиона и пероксиредоксина-1 в крови и перикардиальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование.

3. Оценить состояние эритроцитарных мембран по уровню внеэритроцитарного гемоглобина и суммарной пероксидазной активности в плазме крови больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование.

4. Определить активность миелопероксидазы и арилэстеразную активность параоксоназы в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование.

5. Исследовать содержание стабильных метаболитов оксида азота нитритов/нитратов, асимметричного диметиларгинина и активности аргиназы в крови и перикардиальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование.

6. Определить уровень провоспалительных цитокинов - интерлейкин-1 $\beta$ , интерлейкин-6 и интерлейкин-8 в плазме и перикардиальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование.

## Основные положения, выносимые на защиту

1. В крови и перикардальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование, отмечена интенсификация свободнорадикального окисления и накопление продуктов перекисного окисления липидов. Аортокоронарное шунтирование сопряжено с дестабилизацией эритроцитарных мембран и повышением суммарной пероксидазной активности и уровня внеэритроцитарного гемоглобина.

2. Проведение аортокоронарного шунтирования сопровождается дисбалансом в функционировании супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах, напряженностью в работе глутатион-зависимых ферментов, ингибированием оксидазной активности церулоплазмينا и снижением уровня пероксиредоксина-1, что в дальнейшем обуславливает глубокие редокс-нарушения.

3. В плазме и перикардальной жидкости больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование, установлены активация миелопероксидазы и подавление арилэстеразной активности параоксоназы. Соотношение активности миелопероксидазы и арилэстеразной активности параоксоназы в плазме и перикардальной жидкости служит предиктором развития постперикардотомного синдрома. Повышение активности аргиназы в эритроцитах и уровня асимметричного диметиларгинина в плазме крови свидетельствует об эндотелиальной дисфункции у больных ишемической болезнью сердца, перенесших аортокоронарное шунтирование. Соотношение активности аргиназы в эритроцитах и арилэстеразной активности параоксоназы служит предиктором развития постперикардотомного синдрома.

4. Проведение аортокоронарного шунтирования сопряжено с запуском системного воспалительного ответа и гиперпродукцией провоспалительных цитокинов. Изменения уровня интерлейкина-6 и -8 в плазме крови в

ранние послеоперационные сроки могут свидетельствовать о быстрой форме развития постперикардотомного синдрома.

### **Научная новизна**

Исследовано содержание провоспалительных цитокинов в перикардальной жидкости в послеоперационный период больных ИБС. Впервые установлена прямая корреляционная взаимосвязь между концентрациями ИЛ-1 $\beta$  и Ptx1 в плазме крови пациентов с ПКТС. Изучены факторы эндотелиальной дисфункции в крови и перикардальной жидкости пациентов, перенесших АКШ. Впервые показано увеличение активности аргиназы в эритроцитах и уровня ADMA в плазме крови после прямой реваскуляризации миокарда. Установлены глубокие изменения активности и уровня медиаторов эндотелиальной дисфункции, аргиназы и ADMA, при ПКТС. Обнаружено снижение арилэстеразной активности PON при исследуемом синдроме. Впервые показана обратная корреляционная взаимосвязь между активностью аргиназы в эритроцитах и арилэстеразной активностью PON в плазме крови больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование. Обнаружено ингибирование арилэстеразной активности PON в перикардальной жидкости пациентов с ПКТС. Впервые показаны изменения активности МПО в плазме и перикардальной жидкости при ПКТС. Впервые определена обратная корреляционная взаимосвязь между активностями МПО и PON в плазме крови пациентов с ПКТС. Доказано, что изменения активности аргиназы, МПО и арилэстеразной активности PON могут служить прогностическими маркерами развития постперикардотомного синдрома. Обнаружен дисбаланс в работе антиоксидантных ферментов в крови и перикардальной жидкости больных, перенесших аортокоронарное шунтирование. Впервые показано снижение активности каталазы в эритроцитах, оксидазной активности ЦП в плазме и перикардальной жидкости, активности ГПО в эритроцитах и уровня Ptx1 пациентов с ПКТС. Отмечена напряженность в работе тиолдисульфидной системы на

ранних сроках развития исследуемого синдрома. Впервые проанализированы интенсивность свободнорадикального окисления и изменения уровней продуктов ПОЛ при развитии ПКТС.

### **Практическая значимость**

Исследование роли окислительного стресса и воспаления в развитии постперикардиотомного синдрома после прямой реваскуляризации миокарда внесло вклад в понимание патогенетических механизмов данного осложнения и определило мишени для превентивной терапии.

Предложены наиболее эффективные прогностические тесты развития ПКТС. В работе показано, что соотношение активности миелопероксидазы и арилэстеразной активности параоксоназы в плазме и перикардальной жидкости, а также соотношение активности аргиназы в эритроцитах и арилэстеразной активности PON в плазме крови могут служить предикторами развития исследуемого синдрома. Данные факты отражены в патентных заявках «Способ прогнозирования постперикардиотомного синдрома у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) после аортокоронарного шунтирования» №2016114010 и «Способ прогноза развития постперикардиотомного синдрома у больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование» №2016129678.

Определены показатели, которые позволяют оценить тяжесть протекания постоперационного периода у больных ИБС, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда.

### **Апробация работы**

Материалы диссертации были представлены в виде доклада на VI Международной конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины» (Ростов-на-Дону, 2015 г.), в виде тезисов на XIII, XIV, XV меж-

вузовской биохимической научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2014, 2015, 2016 гг.), V Международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины" (Ростов-на-Дону, 2014 г.), 8-й национальной научно-практической конференции с международным участием (Смоленск, 2014 г.), II Всероссийской XIII Межрегиональной с международным участием научной сессии молодых ученых и студентов (Нижний Новгород, 2015 г.), V Съезде биофизиков России (Ростов-на-Дону, 2015), а также на конкурсах инновационных стартап-проектов: УМНИК от Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере, RussianStartupTour 2015 (Ростов-на-Дону, 3-4 февраля 2015 г.), Startup Tour 2016 (г. Таганрог, 17-18 марта 2016 г.).

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе в изданиях ВАК - 5 статей (из них в БД Scopus – 3 статьи). Получен патент РФ на изобретение - Сидоров Р.В., Милютин Н.П., Гвалдин Д.Ю., Щетко В.Н., Лихачев-Мищенко О.В., Внуков В.В. "Способ прогнозирования постперикардотомного синдрома у больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование" № 2619218 от 12 мая 2017 г. Оформлена патентная заявка - «Способ прогноза развития постперикардотомного синдрома у больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование» №2016129678 от 13.10.16.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 197 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов (5 глав), заключения, выводов, списка литературы (376 источников). Иллюстративный материал включает 15 таблиц и 43 рисунка.

## ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Молекулярные механизмы патогенеза ишемической болезни сердца

Согласно Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ишемической болезнью сердца называется патологическое состояние, для которого характерно относительное или абсолютное нарушение кровоснабжения миокарда вследствие поражения коронарных артерий (Димов А.С. и др., 2013). Существует ряд факторов, значительно повышающих вероятность развития ИБС.

Под названием «ишемическая болезнь сердца» кроется целая группа кардиопатологий. 10-е издание Международной классификации заболеваний (ВОЗ, 2007) содержит следующую классификацию ишемической болезни сердца:

- Стенокардия (включая нестабильную стенокардию)
- Острый инфаркт миокарда
- Постинфарктный кардиосклероз
- Нарушение сердечного ритма
- Коронарный тромбоз, не заканчивающийся инфарктом миокарда
- Синдром Дресслера
- Аневризм
- Ишемическая кардиомиопатия

Пусковым механизмом, обуславливающим развитие ИБС, является гипоксия. Возникают условия, при которых поступающего в сердечную мышцу кислорода недостаточно для ее полноценного функционирования (рис. 1). Гипоксия миокарда сопровождается патологическими нарушениями внутриклеточного метаболизма: снижением уровня аденозинтрифосфата (АТФ) и активацией свободнорадикальных процессов. Причинами активации свободнорадикального окисления служат снижение антиоксидантной емкости и дислипидемия, при которой в крови растет уровень атерогенных липидов

(Воробьева Е.Н. и др., 2010; Воронцова Н.Л. и др., 2012). ПОЛ приводит к накоплению холестерина в стенке артерий и ускоряет прогрессирование атеросклероза (Михин В.П., 2014). Окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП) усиливают экспрессию в эндотелиоцитах хемоаттрактантов типа MCP-1 (Mehta J.L., Li D., 2002), колониестимулирующих факторов типа MCSF (макрофагальный колониестимулирующий фактор), а также адгезивных молекул типа X-LAM (лейкоцитарная адгезивная молекула), E-селектина, молекул адгезии VCAM-1 и ICAM-1, а в макрофагах – экспрессию скэвенджер-рецепторов типа SRA, SR-BI и CD36 (Kunjathoor V.V. et al., 2004). Рецепторы макрофагов связываются с окисленными ЛПНП, таким образом опосредуя накопление в них холестерина и способствуя трансформации макрофагов в пенистые клетки (Parthasarathy S. et al., 2010). Модифицированные ЛПНП осуществляют дифференцировку моноцитов в макрофаги, которые продуцируют провоспалительные цитокины (ФНО- $\alpha$  и интерлейкин-1), активирующие эндотелиальные клетки. Воспалительная реакция сопровождается продукцией ИЛ-6, С-реактивного белка, неоптерина и фибриногена. Дальнейшее усиление воспалительного ответа дестабилизирует атеросклеротическую бляшку (Палеев Ф.Н. и др., 2011). Металлопротеиназы, секретируемые макрофагами и пенистыми клетками, вызывают деградацию матрикса и способствуют перманентному прогрессированию атеросклероза (Воробьева Е.Н. и др., 2010; Vasek T.P. et al., 2015).

Клинические фенотипы, сопутствующие патогенезу ИБС, традиционно подразделяются на острый коронарный синдром и хронический коронарный синдром. Быстрое снижение коронарного кровотока, и следовательно, уменьшение поступления кислорода составляют механизм развития острого коронарного синдрома. Разрыв атеросклеротической бляшки в сочетании с тромбозом, микроэмболией, эндотелиальной дисфункцией и повышенной мышечной реактивностью снижают коронарный кровоток и приводят к острому ишемическому синдрому. Резкое увеличение потребности миокарда в кислороде при недостаточном его поступлении составляет механизм хрони-

ческого коронарного синдрома (Libby P., Theroux P., 2005). Немаловажную роль играют нарушения коагуляции, функций эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Но решающее значение имеют последствия кислородного дисбаланса, поскольку именно они определяют клинический исход пациента. У больных с хроническим коронарным синдромом эпизод ишемии временный (обратимый) и проходит без повреждения миоцитов. Если же ишемический эпизод протекает с повреждением миоцитов, или мионекрозом, или с другими осложнениями, развивается острый коронарный синдром. Угрожающие жизни аритмии характерны для обоих клинических фенотипов, но чаще наблюдается после реперфузии у больных острым коронарным синдромом (Naghavi M. et al., 2003).



Рис. 1. Патогенетические аспекты хронической ишемической болезни сердца (Perine C.J., Nichols W.W., 2007).

Ишемия может проявляться в различных формах. Классическим признаком является боль в грудной области. Боль может быть иррадирующей, распространяющейся на левую руку и левую сторону шеи. Пациенты часто испытывают тошноту, рвоту, потливость и повышенную тревожность. У боль-



ных возможны аритмия и появление отеков как при сердечной недостаточности (Gaze D.C., 2013).

Существует как медикаментозное, так и хирургическое лечение ИБС. Настоящим прорывом в области кардиохирургической практики явилась разработка и развитие методов прямой реваскуляризации миокарда. Согласно многочисленным исследованиям хирургическая реваскуляризация значительно превосходит в эффективности медикаментозную терапию (Alderman E.L., et al., 1990; Brener S. et al., 2002; Hueb W. et al., 2004; Hueb W. et al., 2007). В последние годы наибольшее распространение получило АКШ. Однако при ряде сопутствующих факторов проведение АКШ чревато развитием осложнений в послеоперационный период. Одним из таких осложнений является ПКТС.

## **1.2. Общая характеристика постперикардиотомного синдрома**

ПКТС представляет собой перикардит, характеризующийся перикардиальным и/или плевральным выпотом в течение суток-недель после открытой операции на сердце. По различным литературным данным частота развития ПКТС после оперативного вмешательства сильно варьирует – от 10 до 68% (Игольникова Л.Н., Никулина Е.Г., 2012; Накацева Е.В. и др., 2010; Vusekova E. et al., 2012). Диагностическими признаками считаются: перикардиальная или плевральная боль, шум трения, плевральный или перикардиальный выпот, повышение температуры в первые дни послеоперационного периода (Imazio M. et al., 2013). Для постановки диагноза необходимо не менее двух признаков. Однако нередко развитие ПКТС протекает бессимптомно, что значительно затрудняет диагностику. Отсутствие своевременной и адекватной терапии ведет к развитию осложнений (тампонада сердца и ранняя окклюзия шунтов с клиникой нестабильной стенокардии) с высоким риском летального исхода (Alraies M.C. et al., 2014; Tamarappoo B.K., Klein A.L. 2016).

Вероятность развития ПКТС тесно связана со степенью тяжести исходного состояния пациента, объемом и продолжительностью оперативного вмешательства, операционным материалом. Факторами риска могут выступать:

- Ранее перенесенный инфаркт миокарда;
- Наличие таких патологий, как инфекционный эндокардит, хроническая ревматическая болезнь сердца;
- Легочная гипертензия в послеоперационный период;
- Гипергликемия в послеоперационный период;
- Использование пероральных антикоагулянтов;
- Гемотрансфузия.

Развитие ПКТС протекает в рамках неспецифической системной воспалительной реакции, запуску которой может способствовать АКШ (Sniecinski R.M., Chandler W.L., 2011). АКШ активирует внешний и внутренний пути системы свертывания крови (Casati V. et al., 2001). Необходима системная гепаринизация для предотвращения образования тромбов в экстракорпоральном контуре, которое несет риск активации тромбоцитов (гепарин-индуцированной тромбоцитопении) и ингибирования альдостерона (возникновение гиперкалиемии). Тем не менее, несмотря на то, что гепаринизация предотвращает образование сгустка, активация системы свертывания все же происходит, поскольку гепарин ингибирует лишь последнюю стадию в каскаде (Casati V. et al., 2001).

АКШ активирует фибринолитическую систему. Активация фибринолиза обусловлена высокими уровнями фактора XIIa, калликреина и тканевого активатора плазминогена. Активация фибринолиза оказывает влияние на снижение адгезии и агрегации тромбоцитов за перераспределения гликопротеина Ib и рецепторов IIb/IIIa (Sniecinski R.M., Chandler W.L., 2011).

АКШ активирует систему комплемента. Активация происходит после контакта крови с оксигенатором и аппаратом искусственного кровообращения, после введения протамина и образования комплекса протамин-гепарин и

после реперфузии ишемизированного миокарда (Stahl G.L. et al., 2012). Активация комплемента играет важную роль в развитии послеоперационного тканевого повреждения. Провоспалительные эффекты оказывают конечные продукты расщепления C5 – C5a и C5b-9. C5a является чрезвычайно мощным анафилотоксином, в то время как C5b-9 (мембраноатакующий комплекс) может напрямую лизировать клетки, в том числе кардиомиоциты. C5a и C5b-9 опосредует повреждение клеток, изменение проницаемости сосудов, лейкоцитарный хемотаксис, апоптоз кардиомиоцитов, тромбоз и адгезию (Markiewski M.M., Lambris J.D., 2007).

АКШ активирует лейкоциты. Активация обусловлена высокими уровнями тромбина, калликриена и C5a. C5a генерируется сразу при проведении АКШ и индуцирует хемотаксис нейтрофилов, дегрануляцию и продукцию супероксида. К другим активаторам лейкоцитов относятся ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-8, C5b-9, фактор XIIa, гепарин и гистамин. Активированные нейтрофилы высвобождают цитотоксические ферменты (эластазы нейтрофилов, лизоцимы и МПО). Активированные нейтрофилы напрямую активируют эндотелиальные клетки, тем самым увеличивая периваскулярный отек и осуществляя лейкоцитарную трансмиграцию во внеклеточный матрикс (Day R.S., Taylor K.M., 2005).

АКШ активирует эндотелиальные клетки. Активация осуществляется за счет таких агонистов, как тромбин, C5a, ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ . ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  индуцируют раннюю экспрессию P-селектина и синтез E-селектина, который участвует на начальных стадиях адгезии нейтрофилов и моноцитов. Оба цитокина стимулируют экспрессию молекул адгезии, ICAM-1 и VCAM-1, которые связывают нейтрофилы и моноциты с эндотелием. Локальная вазоконстрикция снижает скорость кровотока сосудистых руслах, позволяя нейтрофилам участвовать в многоступенчатой модели с эндотелием, состоящей из «присоединения», «роллинга», «активации», «адгезии» и «экстравазации» (Day R.S., Taylor K.M., 2005).

АКШ активирует тромбоциты. Многочисленные факторы, связанные с АКШ, способствуют изменениям, которые происходят в тромбоцитах. К ним относятся физические факторы (как например, гипотермия), воздействие искусственных поверхностей, использование экзогенных препаратов, а также высвобождение эндогенных веществ (Varghese S.J. et al., 2004). Механическое разрушение, адгезия к экстракорпоральному контуру, а также секвестрация в органах способствует уменьшению количества тромбоцитов. Тромбоциты обуславливают экспрессию поверхностных молекул, которые осуществляют гемостатическую и воспалительную функции (Herter J.M. et al., 2014). P-селектин усиливает экспрессию тканевого фактора и обеспечивает накопление фибрина, тем самым способствуя образованию тромба (Polgar J. et al., 2005). Активированные тромбоциты могут прикрепляться к сосудистому эндотелию и участвовать в адгезии и трансмиграции нейтрофилов (Day R.S., Taylor K.M., 2005).

При дальнейшем развитии СВО претерпевают значительные изменения листки перикарда – от блестящей почти бессосудистой поверхности до реваскуляризированной ткани с множественными петехиями. Сопутствующие патофизиологические деформации претерпевает плевра (Engle M.A. et al., 1981). В то же время дисфункция эндотелия способствует интенсификации эксудативного выпота в перикардиальной полости и плевре (Roberts W.C., 2005).

Перикардиальная жидкость – продукт инфильтрации плазмы, источником является лимфатическое капиллярное русло. В норме объем перикардиальной жидкости составляет 15-30 мл, отсутствует мутность, цвет – светло-желтый. Клеточный состав представлен следующим образом: мезотелиальные клетки, лимфоциты (53%), гранулоциты (31%), макрофаги (12%), эозинофилы (1,7%) и базофилы (1,2%). Лимфоцитоз является критичным для перикардиальной жидкости и обуславливает патологическое состояние, когда доля лимфоцитов превышает 60%. Содержание общего белка в норме довольно низко, белковые фракции представлены альбумином, макроглобулинами и фибриногеном.

При перикардальном выпоте объем жидкости может достигать 150-200 мл (Maisch V. et al., 2004). Характерными патологическими изменениями перикардальной жидкости являются (Meuys D.G. et al., 1997):

- Повышение концентрации общего белка ( $>30$  г/л);
- Соотношение общего белка в перикардальной жидкости и сыворотке  $> 0,5$ ;
- Активность лактатдегидрогеназы  $> 300$  U/л;
- Соотношение активности лактатдегидрогеназы в перикардальной жидкости и в сыворотке  $> 0,6$  (87%).

ПКТС развивается в рамках СВО, но существует ряд целый ряд факторов оказывающих влияние на патогенез данного заболевания. Одним из них является окислительный стресс. Изучение возможных взаимосвязей между воспалением и окислительным стрессом позволить прояснить некоторые молекулярные механизмы ПКТС.

### **1.3. Воспаление: механизмы развития системного воспалительного ответа. Взаимосвязь воспаления и окислительного стресса**

Термин «системный воспалительный ответ» описывает комплексный патофизиологический ответ на такие факторы, как инфекция, травма, ожоги, панкреатит и другие различные повреждения (Balk R.A., 2014). СВО диагностируют при наличии как минимум двух критериев из перечисленных: жар ( $>38$  °C) или гипотермия ( $<36$  °C), тахикардия ( $>90$  ударов/мин), тахипноэ ( $>20$  вдохов/мин), лейкоцитоз ( $>12 \cdot 10^9$ /л) или лейкопения ( $<4 \cdot 10^9$ /л) (Comstedt P. et al., 2009).

Характерным отличием СВО от септической патологии является широкий диапазон факторов, запускающих патологический процесс. Помимо инфекционного компонента, триггерным механизмом могут также служить возникновение ишемии/реперфузии, механическое повреждение тканей, нарушение целостности клеток вследствие интенсификации ПОЛ, контакт им-

мунокомпетентных клеток с чужеродным материалом (используемом при оперативном вмешательстве), различные фармацевтические препараты. СВО нередко имеет бессимптомный или скрытый характер протекания, что значительно затрудняет своевременную диагностику, и приводит к развитию осложнений. К таким осложнениям можно отнести острое повреждение легких, шок, почечная и полиорганная недостаточность. Операции на сердце также способны инициировать воспалительный ответ, последствиями которого являются ПКТС, тампонада сердца, фибрилляция предсердий и др.

Существуют две модели развития СВО – «продавливание» и «прорыв». Для первого варианта характерен постепенный, пролонгированный переход от классического воспаления к системному. Факторам альтерации требуется несколько суток для преодоления барьеров противовоспалительной резистентности. Данный период отличается отсутствием диагностируемых признаков СВО – предсистемное воспаление. «Прорыв» наблюдается при наиболее критичных травматических повреждениях и проходит с быстрым преодолением буферных систем противовоспалительной резистентности. Такая модель предполагает очень короткий период предсистемного воспаления: переход от классического воспаления к системному занимает несколько часов (Черешнев В.А., Гусев Е.Ю., 2012).

Развитие СВО предполагает пять фаз (Черешнев В.А., Гусев В.А., 2012):

I – фаза развития системного воспаления. Фаза характеризуется преодолением противовоспалительной резистентности факторами повреждения. При варианте «продавливание» длительность фазы достигает нескольких суток. В случае «прорыва» для реализации фазы необходимо от 2 до 12 ч.

II – фаза первичного флогогенного удара. На данной стадии наблюдается сверхпродукция провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ ) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-1 $\rho$ ).

III – депрессивная фаза. Для фазы характерен невысокий уровень про- и противовоспалительных цитокинов. Однако активность индуцибельной синтазы оксида азота и уровень NO значительно повышаются. Отмечаются так-

же клинические и клинико-лабораторные проявления микроциркуляторных расстройств.

IV – фаза вторичного флогогенного удара. Стадия сопряжена с воздействием агентов вторичного повреждения и в случае «продавливания» проявляется на 5-8 сутки. Данная фаза чревата развитием опасных осложнений.

V – фаза разрешения. Особенностью является умеренная гиперцитокинемия. Длительность фазы составляет от нескольких дней до нескольких недель.

Ключевыми участниками СВО являются цитокины. Они относятся к большому семейству полипептидных сигнальных молекул, которые секретируются в ответ на активирующие стимулы. Цитокины – небольшие белковые молекулы ( $\approx 25$  кДа), способные взаимодействовать со специфическими рецепторами аутокринным, паракринным и/или эндокринным образом (Jaffer U. et al., 2010).

Цитокины реализуют свой потенциал каскадным путем. Первыми при СВО экспрессируются ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ . Они стимулируют дальнейшую продукцию других белков. Основными провоспалительными цитокинами выступают ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 и макрофагальный белок воспаления 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ). Увеличение уровня соответствующих медиаторов воспаления по сравнению с противовоспалительными цитокинами обуславливает развитие СВО и последующих осложнений (рис. 2).

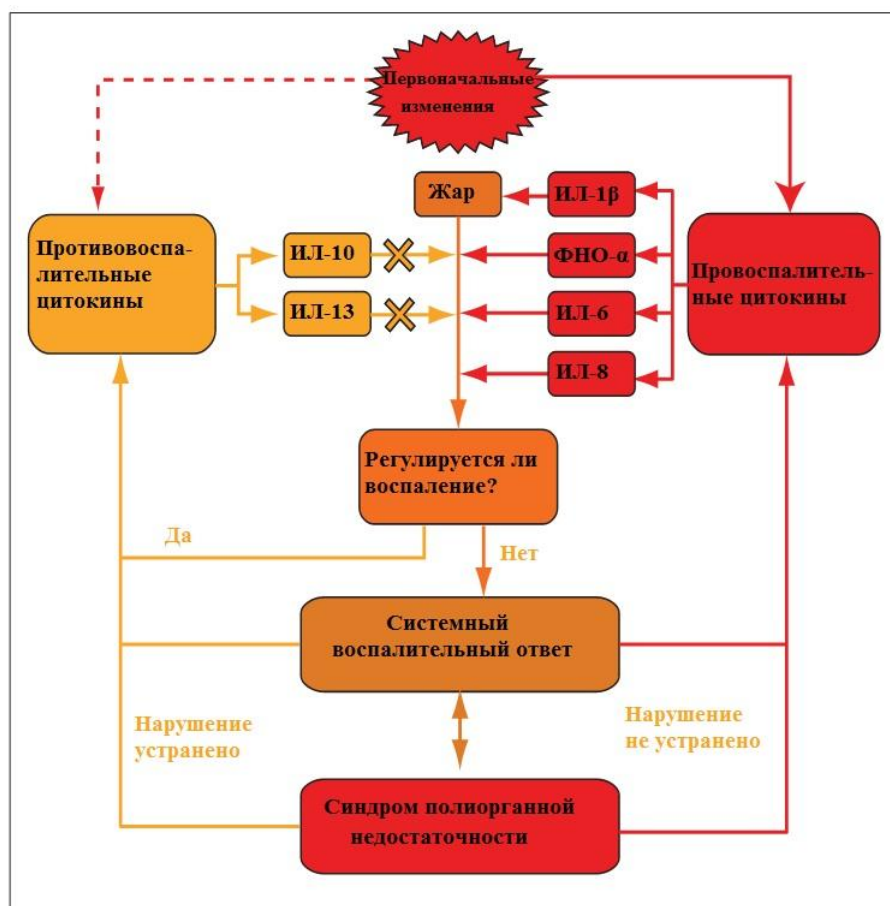


Рис. 2. Дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов (Jaffer U. et al., 2010).

ИЛ-1 был первым исследованным цитокином. Он является системой из трех молекул: ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-1Ra (рецепторный антогонист ИЛ-1). Очень сходны по строению ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  (гомология структуры составляет порядка 26%). Между ними происходит конкуренция за общий рецептор. Синтезируются оба интерлейкина в виде предшественников (про-ИЛ-1 $\alpha$ ) с молекулярной массой 31 кДа. Зрелые формы отличаются клеточной локализацией, механизмами созревания и секреции (Ильина А.Е. и др., 2011). Существует два способа преобразования про-ИЛ-1 $\beta$  в активный цитокин. Первый из них определяется как зависимый от инфламмосомы (Afonina I.S. et al., 2015). За дозревание ИЛ-1 $\beta$  ответственны NLR-инфламмосомы (в частности, NLRP3). Активация NLR3-инфламмосомы осуществляется посредством двух сигналов. Первый сигнал начинается с толл-подобного рецептора 4. Рецептор



при взаимодействии с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP) и молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMP), фосфорилируется и активирует ядерный фактор каппа В (NF-κB). Будучи в ядре, NF-κB обеспечивает экспрессию про-ИЛ-1β, который в неактивном состоянии остается в цитоплазме. К факторам, обуславливающим второй сигнал, относятся аденозинтрифосфат (АТФ), АФК, фагоцитоз, повреждения митохондрий и нарушение аутофагии. При участии данных факторов происходит формирование олигомерного комплекса, представленного неактивной NLRP3, адаптерного белка ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) и прокаспазы 1. Комплекс катализирует трансформацию прокаспазы 1 в каспазу 1, участвующую в образовании и секреции ИЛ-1β (Насонов Е.Л., Елисеев М.С., 2016). Другим способом является нейтрофил-опосредованная активация ИЛ-1β – независимый от инфламмосомы способ. В механизме принимают участие следующие ферменты: нейтрофильная сериновая протеаза, эластаза, химаза, катепсин G (Netea M.G. et al., 2015). ИЛ-1β обладает многофункциональностью: участвует в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета, один из первых реагирует на присутствие патогенных факторов, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, цитокинов (ИЛ-2, 3, 6, ФНО-α), молекул адгезии, прокоагулянтов, простагландинов. ИЛ-1β также усиливает хемотаксис, фагоцитоз, гемопоз, повышает проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность (Ильина А.Е. и др., 2011). ИЛ-1β участвует в передаче сигнала на факторы транскрипции NF-κB и активирующий протеин-1 (AP-1) и таким образом контролирует экспрессию циклооксигеназы 2, индуцибельной NO-синтазы и ИЛ-6 (Dudás J. et al., 2011).

ИЛ-6 в отличие от ИЛ-1β обладает как провоспалительными, так и противовоспалительными свойствами. ИЛ-6 синтезируется активированными макрофагами и Т-клетками. Ген, кодирующий цитокин, расположен в 7p21 хромосоме. ИЛ-6 – гликозилированный белок с молекулярной массой 21-26

кДа (Scheller J. et al., 2011). ИЛ-6 обладает плейотропным эффектом и играет ключевую роль в воспалении, иммунном ответе и клеточной дифференциации. ИЛ-6 индуцирует синтез таких белков острой фазы, как С-реактивный белок, сывороточный амилоид А, фибриноген и гепсидин. В то же время он ингибирует продукцию альбумина. ИЛ-6 стимулирует выработку антител и развитие эффекторных Т-клеток (Tanaka T. et al., 2014). К противовоспалительным свойствам интерлейкина стоит отнести его способность стимулировать продукцию и секрецию антагониста рецептора ИЛ-2 и растворимого рецептора ФНО-а (Petersen A.M.W., Pedersen B.K., 2006). Однако при патологических состояниях наблюдается сверхпродукция цитокина. ИЛ-6 в таких условиях демонстрирует провоспалительные свойства: участвует в рекрутировании мононуклеарных клеток крови, подавляет апоптоз Т-лимфоцитов, ингибирует дифференциацию Т-регуляторных клеток и индуцирует продукцию другого провоспалительного медиатора, интерлейкина-17 (Scheller J. et al., 2011). Дисрегуляция продукции ИЛ-6 опасна развитием различных заболеваний, в том числе амилоидоза, отеки, гипергаммаглобулемии, остеопороза и др. (Tanaka T. et al., 2014). Стоит отметить особую роль ИЛ-6 при сердечно-сосудистых патологиях. Известно, что ИЛ-6 обуславливает ремоделирование левого желудочка, сократительную дисфункцию и изменяет ответную реакцию  $\beta$ -адренэргических рецепторов. Кроме того, уровень ИЛ-6 сопряжен с отрицательным инотропным эффектом и миокардиальным «оглушением» (Zakkar M. et al., 2015).

Среди цитокинов выделяют особую группу белков, которые участвуют в миграции и активации лимфоцитов и фагоцитов и играют центральную роль в механизмах воспаления (Watterson T., 2013). Хемокины отличаются небольшой молекулярной массой, порядка 8-10 кДа. В зависимости от числа цистеиновых остатков и аминокислотной последовательности выделяют 4 подсемейства.

ИЛ-8 содержит два ключевых цистеина на N-концевом участке и является представителем СХС подсемейства. ИЛ-8 активно секретируется во вне-

клеточное пространство в результате различных клеточных стимулов. Зрелая форма хемокина представлена низкомолекулярным белком (72 аминокислотных остатка). Практически все ядерные клетки являются потенциальными источниками ИЛ-8, но наиболее типичными являются моноциты и макрофаги. ИЛ-8 ответственен за хемотаксис моноцитов и нейтрофилов в зону воспаления. Он также является важным модулятором моноцит-эндотелиальных взаимодействий (Gerszten R.E. et al., 1999). Yue и сотрудники показали, что ИЛ-8 обладает митогенными и хемотаксическими свойствами для гладкомышечных клеток сосудов. Хемокин индуцирует синтез ДНК и пролиферацию гладкомышечных клеток аорты (Yue T.-L. et al., 1994). ИЛ-8 осуществляет атерогенную функцию за счет подавления локальной экспрессии тканевого ингибитора металлопротеиназы-1, в результате возникает дисбаланс между матриксными металлопротеиназами и их ингибиторов в фокальных участках атеросклеротических бляшек (Moreau M. et al., 1999). Литературные данные свидетельствуют об ИЛ-8 как о потенциальном биомаркере ряда кардиопатологий, сопряженных с СВО (Broderick G. et al., 2012).

Согласно недавним исследованиям, связующим звеном между окислительным стрессом и воспалительными процессами при сердечно-сосудистых патологиях выступают аргиназы (КФ 3.5.3.1, первая и вторая изоформы) (Yang Z., Ming X.-F., 2013). Аргиназа 1 - цитозольный фермент, который экспрессируется преимущественно в печени. Она катализирует гидролиз L-аргинина до мочевины и L-орнитина. У мышей с нокаутным геном аргиназы 1 наблюдается гипераммонемия, и они погибают на 10-14 сутки. Помимо печени фермент также синтезируется в желудке, поджелудочной железе и легких. Экспрессия гена стимулируется циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ), ИЛ-4 и трансформирующим фактором роста-4. В отличие от первой изоформы, аргиназа 2 – митохондриальный фермент, основной пул которого представлен в почках, но может синтезироваться также и в мозге, кишечнике, поджелудочной железе, простате, присутствует в макрофагах и эндотелиальных клетках. Функции второй изоформы наименее изучены. Однако исследо-

вания в данной области свидетельствуют о том, что обе изоформы катализируют гидролиз аргинина, и повышение их активности ограничивает количество субстрата, необходимого для функционирования NO-синтазы и продукции NO, и ведет к эндотелиальной дисфункции (Xia Y. et al., 1996; Kim J.H. et al., 2009).

Существует несколько гипотез о роли относительного дефицита L-аргинина. Одна из них предполагает наличие различных внутриклеточных пулов для продукции NO. В то время как экзогенный L-аргинин используется эндотелиальной NO-синтазой для образования NO, внутриклеточный пул расходуется аргиназой и эндотелиальной NOS. Предполагается, что обмен между вне- и внутриклеточными пулами затруднен. Такая модель может объяснить явление аргининового парадокса: ингибирование аргиназы стимулирует продукцию NO, а избыточная экспрессия аргиназы 1 и 2 снижает уровень NO, что связано только с уменьшением внутриклеточной концентрации L-аргинина (на 11-25%), даже при высокой внеклеточной концентрации (0,4 ммоль/л) (Li H. et al., 2001). Другим объяснением относительного дефицита L-аргинина является повышение уровня ADMA – эндогенного ингибитора эндотелиальной NO-синтазы. Повышение активности аргиназы в присутствии ADMA способствует дальнейшему ограничению биодоступности L-аргинина для эндотелиальной NO-синтазы, хотя внутриклеточное содержание субстрата лишь незначительно уменьшается. Если гипотеза верна, то дополнительное введение аргинина с целью повышения уровня эндотелиального NO может быть неэффективным. Более того, избыток L-аргинина чреват негативными эффектами, связанными с продукцией других нежелательных метаболитов (Dioguardi F.S., 2011).

Необходимо более детально остановиться на асимметричном диметиларгинине. ADMA – продукт деградации метилированных белков. Метильные группы являются производными S-аденозилметионина. Их образование катализируют аргинин-N-трансферазы первого и второго типа (PRMT1 и PRMT2) (Sibal L. et al., 2010). За утилизацию ADMA ответственна NG-

диметиларгинин диметиламиногидролаза (ДДАГ), которая осуществляет гидролиз асимметричного диметиларгинина до цитруллина и диметиларгинина (Sibal L. et al., 2010). Активность ДДАГ обнаружена в почках, поджелудочной железе, печени, мозге, а также в нейтрофилах и макрофагах. Ингибирование ДДАГ вызывает постепенное сужение сосудов, которое восстанавливается посредством L-аргинина (MacAllister R.J. et al., 1996). ADMA, будучи эндогенным ингибитором NO-синтазы, способствует развитию эндотелиальной дисфункции. Такие факторы, как ожирение, гипертензия, гиперхолестеринемия, курение, сахарный диабет, гипергомоцистеинемия и сосудистое воспаление, опосредуют неблагоприятные эффекты на сосудистую стенку за счет нарушения L-аргинин/NO-метаболизма. При любом из вышеперечисленных условий уровень ADMA гораздо выше нормальных значений (Sibal L. et al., 2010).

В то же время такие факторы, как гиперинсулинемия, гипергликемия, гипоксия, стимулируют экспрессию/активацию аргиназы 1 и 2 через сигнальные пути p38MAPK, mTORC1-S6K1, Rho/ROCK и JAK/STAT6, что приводит к разобщению эндотелиальной NO-синтазы, развитию окислительного стресса и воспаления (рис. 3) (Yang Z., Ming X.-F., 2013).

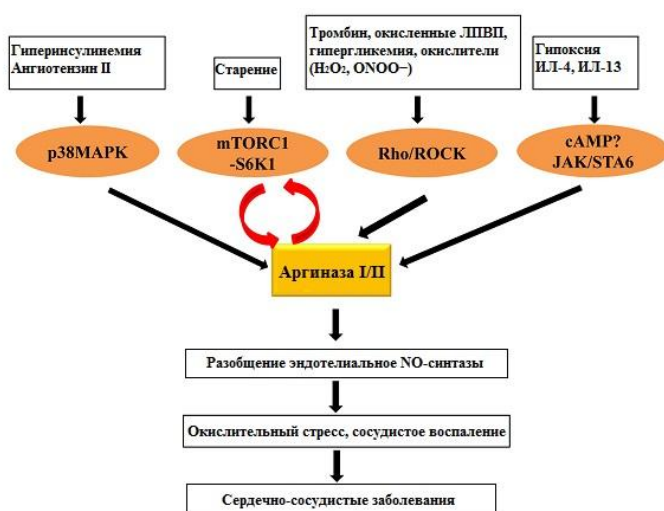


Рис. 3. Сигнальные механизмы, осуществляющие регуляцию экспрессии/активации аргиназы 1 и 2 в эндотелии сосудов (Yang Z., Ming X.-F., 2013).

Эндотелиальная дисфункция совместно со сверхпродукцией провоспалительных цитокинов усиливает развитие СВО. С другой стороны, в плазме крови и биологических жидкостях имеется ЛПВП-ассоциированный фермент PON, обладающая противовоспалительным эффектом. Параоксоназы (КФ 3.1.1.2.) – это семейство эстераз, представленное тремя изоформами PON1, 2, и 3. Название «параоксоназы» происходит от первого подтвержденного субстрата для данных ферментов – параоксона (Abelló D. et al., 2014).

PON1 первоначально была описана как фосфоорганическая гидролаза и нередко упоминалась в работах, посвященных отравлению инсектицидами (Devarajan A. et al., 2014). Дальнейшие исследования показали, что PON1 обладает также лактоназной активностью и способна гидролизовать липофильные лактоны и деградировать окисленные липиды в липопротеинах и клетках. Открытые свойства позволили исследователям предположить, что PON1, сопряженная с ЛПВП, играет ключевую роль в антиоксидантной защите и оказывает противовоспалительный эффект, предотвращая окисление липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и сохраняя функциональную стабильность ЛПВП (Deakin S.P. et al., 2011; Aviram M. et al., 1998; Watson A.D. et al., 1995).

PON1 гидролизует многие фосфоорганические метаболиты. К ним относятся фенилацетат, 2-нафтилацетат и тиофенилацетат. Параоксон и фенилацетат являются наиболее распространенными субстратами, используемыми в экспериментальных исследованиях для оценки активности PON1 (Kulka M., 2016). Лактоназная активность PON1 может оказывать влияние на применяемые препараты во время курса терапии. PON1 и PON3 гидролизуют ловастатин, симвастатин и диуретики, используемые в медицине. Естественными субстратами PON1 являются пероксиды фосфолипидов, пероксиды липопротеинов и холестериновые эфиры (Ferretti G. et al., 2004). Besler и сотрудники продемонстрировали роль ЛПВП-ассоциированной PON1 в осуществлении атеропротекторного эффекта. Подтверждено участие PON1 в ЛПВП-

опосредованной стимуляции эндотелиальной продукции NO. PON1 также предотвращает образование продукта ПОЛ – МДА (Besler C. et al., 2011).

PON2 синтезируется в виде белка, содержащего 355 аминокислотных остатков с молекулярной массой 43 кДа. Экспрессия данного фермента была впервые обнаружена в головном мозге, печени, почках и семенниках. Высокие уровни PON2 отмечаются в сердце, легких, плаценте, она также представлена в эндотелиальных и гладкомышечных клетках (Porntadavity S. et al., 2010). Внутри клетки PON2 локализована преимущественно в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме (Costa L.G. et al., 2014; Porntadavity S. et al., 2010). Подобно PON1 и PON3, PON2 обладает лактоназной активностью (Draganov D.I. et al., 2005). Дефицит PON2 приводит к митохондриальной дисфункции (Devarajan A. et al. 2012). Horke S. и сотрудники показали роль PON2 в снижении стресса в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР-стресс). PON2 защищает эндотелий сосудов от окислительного стресса и предотвращает гибель клеток, сопряженную с реакцией на несвернутые белки (Horke S. et al., 2008). PON2 также реализует противовоспалительную функцию. В желудочно-кишечном тракте PON2 противодействует окислительным и воспалительным процессам, которые могут нарушать целостность слизистой оболочки (Levy E. et al., 2007).

Среди трех представителей семейства параоксоназ PON3 является наименее изученной на данный момент. PON3 представляет собой белок с небольшой молекулярной массой 40 кДа, ассоциированный с ЛПВП. Синтезируется PON3 в печени. В плазме крови содержание третьей изоформы меньше, чем первой в 1000 раз (Draganov D.I., 2007). Reddy и сотрудники первыми продемонстрировали способность PON3 предотвращать окисление ЛПНП в условиях *in vitro* (Reddy S.T. et al., 2001). Shih в эксперименте с трансгенными мышами подтвердил атеропротекторную функцию PON3 (Shih D.M. et al., 2007). Дефицит PON3 в клетках печени сопровождается нарушением функционирования митохондрий (Schweiker E.M. et al., 2012).

#### 1.4. Общая характеристика окислительного стресса

Свободные радикалы - неотъемлемые продукты нормального клеточного метаболизма. Свободными радикалами называются молекулы или молекулярные фрагменты, содержащие один или более неспаренных электронов на атомной или молекулярной орбитали (Halliwell B., 2012). Наличие такого неспаренного электрона обуславливает высокую реакционную способность радикалов. В нормальных физиологических условиях свободные радикалы в низких концентрациях участвуют в сигнальной трансдукции, транскрипции генов, обеспечивают митогенный ответ (Valko M. et al., 2007; Fang Y.-Z. et al., 2002). При высокой интенсивности свободнорадикальные процессы оказывают повреждающее воздействие на клеточные биомолекулы, приводя к развитию (в зависимости от превалирующей формы окислителя) оксидативного, нитрозильного, галогенирующего и/или карбонильного стресса (Панасенко О.М. и др., 2013; Semchyshyn H.M., Lushchak V.I., 2012; Valko M. et al., 2007).

Окислительный стресс – это состояние, когда концентрация образовавшихся радикалов временно или постоянно увеличивается, вызывая нарушения клеточного метаболизма, его регуляцию и повреждая клеточные компоненты (Lushchak V.I., 2014). Окислительный стресс может быть классифицирован также в зависимости от его интенсивности (Sies H., 2015):

- 1) Бесстрессовое состояние;
- 2) Окислительный стресс низкой интенсивности;
- 3) Окислительный стресс средней интенсивности;
- 4) Окислительный стресс высокой интенсивности.

Как уже было отмечено выше, окислительный стресс может быть выражен той или иной превалирующей формой окислителя. В зависимости от молекулы-предшественника выделяют АФК, активные формы азота (АФА), активные формы карбониллов и активные формы галогенов (АФГ). Кроме того, среди них существуют и нерадикальные формы, например перекись водорода ( $H_2O_2$ ), пероксинитрит ( $ONOO^-$ ), гипохлорная кислота ( $HOCl$ ).



Интенсификация окисления с участием АФК, АФГ и АФА приводит к использованию энергетических субстратов и жизненно необходимых белковых молекул для сбалансирования редокс-системы, и в итоге - к истощению репарационных и адаптационных возможностей организма. В дальнейшем происходит разрушение клеточных биомолекул, сверхэкспрессия прооксидантных цитокинов и усиление патогенетических процессов различных заболеваний. Последствия такого рода событий значительно снижают эффективность лечения: за успешной коррекцией одного состояния неизбежно идет череда других опасных осложнений, медикаментозная коррекция которых порой является взаимоисключающей (Кормош Н.Г., 2011).

#### *Перекисное окисление липидов*

Как известно, клеточные мембраны очень чувствительны к окислительному стрессу. Липиды, входящие в состав мембран, содержат полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), которые представляются идеальной мишенью для АФК, АФГ или АФА. Наиболее неблагоприятным последствием окислительных повреждений ПНЖК является ПОЛ (Bhattacharjee S., 2014). ПОЛ – это процесс, при котором окислители (свободные радикалы или нерадикальные формы) модифицируют липиды, содержащие ПНЖК, с последующим отщеплением водорода и внедрением кислорода в молекулу (Ayala et al., 2014).

ПОЛ носит цепной характер и протекает в несколько этапов: инициирование, продолжение, разветвление и обрыв цепи (рис. 4).

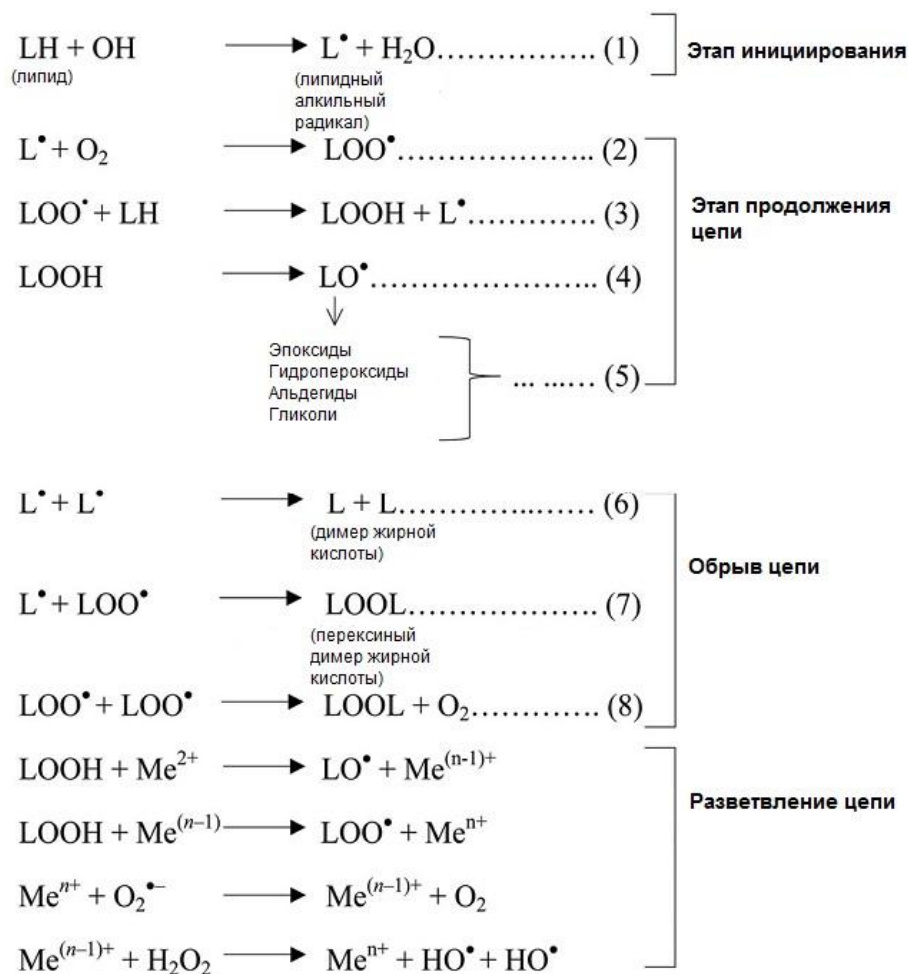


Рис. 4 Этапы перекисного окисления липидов.

Этап иницирования начинается с реакции дегидрирования и внедрения радикала в молекулу ПНЖК (реакция 1). На стадии продолжения цепи молекулярный кислород быстро взаимодействует углеродным радикалом, полученного на предыдущем этапе, с образованием пероксильного радикала ( $LOO^\bullet$ ) (реакции 2-5).  $LOO^\bullet$  приводит к продукции липидных гидропероксидов ( $LOOH$ ), которые способствуют удалению водорода из ПНЖК. Важно отметить, что  $LOOH$  является предшественником биологически активных соединений таких, как эпоксиды, альдегиды, гликоли (Bhattacharjee S., 2014). Металлы переменной валентности значительно усиливают ПОЛ и осуществляют разветвление цепи (Bhattacharjee S., 2014). Радикалы липидов, продуцируемые в таких реакциях, приводят к иницированию новых цепей ПОЛ. В

конце концов, цепи могут обрываться, к этому приводит взаимодействие липидных радикалов с антиоксидантами или же друг с другом (реакции 6-8) (Bhattacharjee S., 2014).

### *Биологическая роль перекисного окисления липидов*

ПОЛ не только оказывает повреждающее воздействие на клеточные мембраны, но также приводит к образованию множества окисленных продуктов, осуществляющих широкий спектр патологических и физиологических функций. Известно, что продукты свободнорадикального ПОЛ классифицируют на три группы: первичные (перекиси липидов, ДК), вторичные (МДА, 4-гидроксиноненаль) и конечные (ШО). Особый интерес представляют вторичные продукты ПОЛ. Одним из них является МДА. МДА образуется в результате разложения арахидоновой кислоты или длинноцепочечных ПНЖК в ферментативных либо в неферментативных процессах. Механизм продукции МДА хорошо известен, но его биологические функции и двойственная, зависящая от концентрации, роль слабо изучена, несмотря на то, что данная молекула значительно стабильнее, чем АФК и менее токсична, нежели 4-гидроксиноненаль (4-HNE) и метилглиоксаль (Ayala A. et al., 2014). Согласно литературным данным, МДА может выступать в качестве сигнального мессенджера и регулировать экспрессию генов (Wang H.P. et al., 2014). Показано, что умеренно высокие концентрации стимулируют секрецию инсулина, повышают соотношение АТФ/АДФ и уровень цитозольного  $Ca^{2+}$  (Wang et al., 2014). С другой стороны, сверхпродукция МДА в стрессовых условиях и последующие реакции с белками и нуклеиновыми кислотами приводят к образованию специфических аддуктов, которые становятся инициаторами развития патологических процессов (Ayala A. et al., 2014). Известно более 33 белков, которые подвергаются модификации со стороны МДА, в этот список входят ферменты, транспортные белки, белки цитоскелета, митохондриальные и антиоксидантные белки (Zarkovic N. et al., 2013). МДА также реагирует с некоторыми нуклеозидами с образованием аддуктов деоксигуанозина и дезоксиаденозина, и в конечном итоге – к формированию пиримидо[1,2-

$\alpha$ ]пурин-10(3H)-она - (названному как M1G или M1dG). МДА вносит существенный вклад в повреждение ДНК и мутации (Ayala A. et al., 2014).

Однако главным биоактивным маркером ПОЛ в настоящее время считается 4-гидроксиноненаль (4-HNE). 4-HNE – вторичный продукт, 4-гидроксиалкеналь, образующийся ферментативно или неферментативно в результате разложения арахидоновой кислоты и длинноцепочечных ПНЖК. 4-гидроксиноненаль – чрезвычайно высокореактивное соединение, содержащее 3 функциональных группы: 1) C=C двойная связь, которая может быть мишенью в реакциях Михаэля, восстановления или эпоксидирования; 2) карбонильная группа, которая может способствовать образованию ацеталь/тиоацеталь, ШО, участвовать в реакциях окисления или восстановления; 3) гидроксильная группа, которая может быть окислена до кетона (Ayala A. et al., 2014).

От уровня 4-HNE и от внутриклеточных метаболических условий зависит, выживет ли клетка или погибнет. Физиологический уровень 4-HNE может поддерживаться благодаря ферментативным процессам, в таком случае клетка нормально функционирует. Когда уровень 4-HNE низок, он выступает как сигнальная молекула, стимулируя экспрессию генов (в частности, Nrf2) и повышая внутриклеточную антиоксидантную емкость. При средней концентрации 4-HNE вызывает повреждения биомолекул и органелл, что в конечном итоге приводит к аутофагии, старению или нарушениям клеточного цикла. Но и в такой ситуации клетка может выжить. И наконец, высокий уровень 4-HNE индуцирует апоптоз или некроз, и клетка погибает. Последний случай сопряжен, как правило, с развитием различных патологий (Ayala A. et al., 2014). Известно, что за регуляцию уровня 4-гидроксиноненала ответственны GST класса Alpha. Основное участие в детоксификации 4-HNE принимает GSTA4. Именно от четвертой изоформы зависит жизнеспособность гепатоцитов во время регенерации печени (McElhanon K.E. et al., 2013).

Итак, продукты окисления липидов в зависимости от метаболических условий, уровня и антиоксидантного клеточного потенциала способствуют

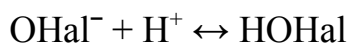
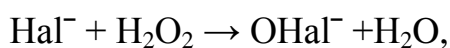
осуществлению физиологических процессов, передачи сигнала и экспрессии различных генов. Однако в условиях окислительного стресса и избыточного накопления высокореактивных конечных продуктов происходит нарушение функционирования клетки и ее последующая гибель.

### *Прооксидантная система*

Прооксидантная система объединяет ряд ферментов, которые используют различные источники электронов для продукции активированных кислородных метаболитов.

*МПО* (КФ 1.11.1.7) – представитель семейства гемовых пероксидаз, которое также включает эозинпероксидазу и лактопероксидазу. МПО активно синтезируется в промиелоцитах и промоноцитах в процессе миелопоэза, тогда как в полностью дифференцированных миелоидных клетках синтез прекращается. Главный источник МПО – нейтрофилы, и у человека уровень миелопероксидазы в этих клетках варьирует в пределах 2-5% от общего белка. Экспрессия МПО была также обнаружена в купферовских клетках в печени, микроглии, гранулосодержащих нейронах и пирамидальных нейронах гиппокампа (van der Veen B.S. et al., 2009). Зрелая МПО представляет собой гликозилированный гомодимер (146 кДа) и содержится в первичных гранулах нейтрофилов и лизосомах моноцитов (van der Veen B.S. et al., 2009).

Реакционная способность галогенов выступать в качестве субстрата МПО уменьшается в последовательности:  $I^- > Br^- > Cl^-$ . Реакции 1 и 2 (рис. 3) принято называть циклом галогенирования, который описывается суммарным уравнением (Панасенко и др., 2013):



МПО покоится в азурофильных гранулах до активации нейтрофилов и появления перекиси водорода. В активированных нейтрофилах в процессе дегрануляции МПО высвобождается в фагосому вместе с другими ферментами, например, с НАДФН-оксидазой, продуцирующей  $O_2^{\cdot-}$  (Klebanoff S.J., 2005). Оба этих фермента формируют антимикробную защитную систему.

МПО может выделяться из клетки и связывается с биологическими мембранами микроорганизмов. Однако при секреции во внеклеточное МПО способна также повреждать ткани и принимать участие в патологическом процессе (Klebanoff S.J., 2005). Продукты катализируемых МПО-реакций можно условно разделить на две группы: первичные и вторичные. Первичными продуктами являются те гипогалоиды, что образуются непосредственно в результате ферментативной реакции; в то время как вторичные – продукты, последующих реакций первичных гипогалогенитов. Так, гипохлорит, реагируя с биологическими аминами, образует хлорамины, которые, в свою очередь, могут распадаться на альдегиды и другие карбонильные соединения, что делает их непосредственными предшественниками карбонильного стресса (Панасенко О.М. и др., 2013). Мишенями для НОС1 являются также белки, окисление, как правило, происходит по тирозину. В таком случае образование 3-хлортирозина служит маркером воспалительной патологии. Согласно литературным данным, повышение уровня 3-хлортирозина отмечается при ревматоидном артрите (Stamp L.K. et al., 2012), астме, обструктивной болезни легких (Sochaski M.A. et al., 2008), муковисцидозе (Панасенко О.М. и др., 2013), почечной недостаточности (Himmelfarb J. et al., 2001) и атеросклерозе (Bergt C. et al., 2004). Хлорноватистая кислота также подвергает модификации антиоксидантные ферменты, приводя к нарушениям редокс-равновесия (Гавриленко Т.И. и др., 2014). В то же время, миелопероксидаза способна предотвращать апоптоз нейтрофилов. МПО регулирует экспрессию Mac-1 – интегрина, ответственного за продолжительность жизни иммунной клетки (Kebir D.E., Filep J.G., 2013).

НАДФН-оксидазы (КФ 1.6.3.1) - мембраносвязанные ферментативные комплексы, катализирующие образование супероксидного анион-радикала за счет переноса электрона с НАДФН на кислород. Семейство включает в себя 7 каталитических гомологов, 4 из которых (Nox1, Nox2, Nox4, и Nox5) обнаружены в сети кровеносных сосудов. НАДФН-оксидазы участвуют в патофизиологическом ответе. Так, Nox1 и Nox2 вносят непосредственный вклад в

повышение кровяного давления, повреждение или ремоделирование органов. Экспрессия Nox1, Nox2 и Nox4 изменяется после повреждения сосудов, при этом первые два опосредуют пролиферативный эффект гладкомышечных и эндотелиальных клеток, а последний способствует редифференцировке гладкомышечных клеток. При гипертензии активация НАДФН-оксидаз ведет к образованию пероксинитрита, «разобщению» эндотелиальной NO-синтазы и сверхпродукции  $O_2^{\cdot-}$  (Lassegue B., Griendling K.K., 2010).

НАДФН-оксидазы способны активировать другой прооксидантный фермент, ксантиоксидазу (КО). КО (КФ 1.17.3.2) является одной из форм фермента ксантиоксидоредуктазы. КО участвует в катаболизме пуринов и продукции активных форм кислорода, в частности супероксидного анион-радикала. КО играет важную роль в эндотелиальной дисфункции при кардиопатологиях. Усиление продукции  $O_2^{\cdot-}$  снижает биодоступность эндотелиального NO и препятствует вазорелаксации. Высокая активность КО сопряжена с развитием атеросклероза (Berry C.E., Hare J.M., 2004). U. Landmesser и со-трудники сообщали, что у пациентов с сердечной недостаточностью активность ксантиоксидазы повышалась более чем на 200% по сравнению с контрольной группой (Landmesser U. et al., 2002). Данный фермент также участвует в активации инфламмосомы и регуляции секреции таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1 $\beta$ , что свидетельствует о роли КО в развитии воспалительного ответа (Ives A. et al., 2014).

#### *Синтазы оксида азота*

*NO-синтазы* (КФ 1.14.13.39) – семейство ферментов, катализирующих образование оксида азота из L-аргинина. Представителями семейства являются три изоформы: нейрональная, индуцибельная и эндотелиальная NO-синтаза. Для всех изоформ косубстратом является НАДФН, в качестве кофакторов выступают флавинадениндинуклеотид (ФАД), флавиномононуклеотид (ФМН) и тетрагидробиоптерин (BH<sub>4</sub>). Образование NO проходит в два этапа. Сначала NOS гидроксилирует L-аргинин до N<sup>ω</sup>-гидрокси-L-аргинина.

На следующем этапе NO-синтаза окисляет N<sup>ω</sup>-гидрокси-L-аргинин до L-цитруллина и NO (Förstermann U., Sessa W.C., 2012).

Нейрональная NO-синтаза конститутивно экспрессируется в специфических нейронах мозга. Ферментативная активность регулируется Ca<sup>2+</sup> и кальмодулином. Нейрональная NO-синтаза обнаружена в спинном мозге, в симпатических ганглиях, надпочечниках, в эпителиальных клетках различных органов, в панкреатических клетках и гладкой мускулатуре сосудов. Нейрональная NO-синтаза вовлечена в осуществление таких физиологических функций, как обучение, память и нейрогенез. В центральной нервной системе нейрональная NO-синтаза опосредует синаптическую передачу. NO, продуцируемый нейрональной NO-синтазой, участвует в регуляции кровяного давления. Подавление активности нейрональной NO-синтазы в продолговатом мозге или гипоталамусе обуславливает гипертензию. Стоит отметить, что клетки гладкой мускулатуры сосудов также экспрессируют нейрональную NO-синтазу в низких концентрациях для поддержания определенной степени вазодилатации (Förstermann U., Sessa W.C., 2012).

Индуцибельная NO-синтаза не экспрессируется при физиологических условиях в клетках, но ее экспрессия может быть индуцирована липолисахаридами, цитокинами и другими агентами. Прежде всего, индуцибельная NO-синтаза была обнаружена в макрофагах, но при наличии соответствующих факторов она может экспрессироваться и в других клетках и тканях. После экспрессии индуцибельная NO-синтаза пребывает в активированном состоянии и не регулируется внутриклеточным пулом Ca<sup>2+</sup> (Förstermann U., Sessa W.C., 2012). Продуцируемая макрофагами NO-синтаза генерирует избыточное количество NO. Благодаря своему высокому сродству к белкам, содержащим ионы железа, NO способен ингибировать ряд ключевых ферментов с ионами железа в каталитических центрах. К ним относятся ферменты железо-серных кластеров (комплекс I и II), участвующие в митохондриальном транспорте электронов, рибонуклеотидредуктаза и цис-аконитаза. Кроме того, высокая концентрация NO становится причиной разрывов и фрагмента-



ции ДНК клеток-мишеней. Это свойство отражает микробицидный и противоопухолевый потенциал индуцибельной NO-синтазы (Förstermann U., Sessa W.C., 2012). Однако NO в избытке может не ограничиваться антимикробной функцией, а повреждать также здоровые клетки организма. In vivo повреждение клеток и тканей обусловлено высокой реакционной способностью NO или же способностью взаимодействовать NO с O<sub>2</sub> с образованием ONOO<sup>-</sup>. Значительное число воспалительных и аутоиммунных патологий характеризуется чрезмерной активацией макрофагов и нейтрофилов, которые в избытке секретируют NO. К числу таких патологий относятся также воспалительные нейродегенеративные заболевания (Förstermann U., Sessa W.C., 2012).

Эндотелиальная NO-синтаза экспрессируется в основном в эндотелиальных клетках. Но данная изоформа также была обнаружена в кардиомиоцитах, тромбоцитах, некоторых нейронах головного мозга, синцитиотрофобластах человеческой плаценты и в LLC-PK1 эпителиальных клеток почечных канальцев (Förstermann U., Sessa W.C., 2012). Как и нейрональная NO-синтаза, эндотелиальная изоформа весьма зависима от Ca<sup>2+</sup>-активируемого кальмодулина. Некоторые белки также способны регулировать активность нейрональной NO-синтазы. Например, белок теплового шока 90 (hsp90) может выступать в роли аллостерического модулятора для нейрональной NO-синтазы. Кроме того, фосфорилирование по сериновым, треониновым и тирозиновым остаткам приводит к активации эндотелиальной NO-синтазы (Fleming I., Busse R., 2003). Эндотелиальная NO-синтаза является гомеостатическим регулятором важнейших функций сердечно-сосудистой системы. Данная изоформа осуществляет вазодилатацию всех типов кровеносных сосудов, стимулируя растворимую гуанилатциклазу и увеличивая уровень циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) в гладкомышечных клетках. Эндотелиальная NO-синтаза имеет важное значение для адаптивного ремоделирования сосудов при хронических изменениях тока крови (Förstermann U., Sessa W.C., 2012). У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями наблюдается эндотелиальная дисфункция, то есть неспособность эндотелия продуци-

ровать NO в достаточном для вазодилатации количестве. Сердечно-сосудистые заболевания сопряжены также с избытком АФК (Mueller C.F.H. et al., 2005).

### *Антиоксидантная система*

Антиоксидантная система (АОС) – важнейшая линия защиты против активных форм кислорода. АОС включает систему антиоксидантных ферментов и низкомолекулярные антиоксиданты (аскорбат, токоферол, каратиноиды и др.) (Владимиров Ю.А., 2000).

Одним из главных ферментативных антиоксидантов является СОД (КФ 1.15.1.1). СОД – ферменты, которые катализируют реакцию дисмутации  $O_2^{\cdot -}$  до  $O_2$  и  $H_2O_2$ . Выделяют следующие изоформы: Cu, Zn-СОД, Fe-СОД, Mn-СОД или Fe/Mn-СОД и Ni-СОД (Perry J.J.P. et al., 2010).

Cu, Zn-СОД была обнаружена у эукариот, но также присутствует у прокариот *Photobacterium leiognathi*, *Caulobacter crescentus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* и др. В клетках основная часть фермента содержится в цитоплазме, митохондриях и пероксисомах (Perry J.J.P. et al., 2010). Cu, Zn-СОД – димер, молекулярной массой 31 кДа (Perry J.J.P. et al., 2010).

Во внеклеточном матриксе присутствует экстрацеллюлярная форма СОД (СОД3) - тетрамерная Cu, Zn-СОД, молекулярной массой 135 кДа. СОД3 синтезируется гладкомышечными клетками, альвеоцитами II типа, легочными макрофагами и некоторыми фибробластами (Меньщикова Е.Б. и др., 2006). Показано, что экстрацеллюлярная СОД участвует в поддержании тонуса сосудов сердца. Содержание СОД3 сильно коррелирует с экспрессией эндотелиальной NO-синтазы (Меньщикова Е.Б. и др., 2006).

Mn-СОД эукариот локализована в митохондриях и защищает митохондриальную ДНК от окислительных повреждений. Нокаут гена Mn-СОД становится причиной расширенной кардиомиопатии, накопления печеночных липидов, митохондриальных дефектов и неонатальной смерти. Mn-СОД-миметики обладают терапевтическим потенциалом при лечении нейродегенеративных патологий (губчатая энцефалопатия, болезнь Альцгеймера, бо-

лезнь Паркинсона), ассоциированных с окислительным стрессом (Schriner S.E., Linford N.J., 2006).

Стоит отметить, что роль СОД в предотвращении свободнорадикального окисления не вполне очевидна. Образующаяся в результате перекись водорода является предшественником одного из наиболее реакционноспособных радикалов -  $\text{HO}^\bullet$ . Кроме того, при взаимодействии с  $\text{H}_2\text{O}_2$  Cu, Zn-СОД приводит к образованию гидроксильного радикала. С другой стороны, СОД, нейтрализуя  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , предотвращает его взаимодействие с NO, препятствуя формированию  $\text{ONO}_2^-$  (Меньщикова Е.Б. и др., 2006).

С активностью СОД тесно связано функционирование другого фермента, каталазы (КФ 1.11.1.6). Каталаза – гидропероксидаза, катализирующая разложение  $\text{H}_2\text{O}_2$  на  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{O}_2$ . Существует три типа каталаз: типичные каталазы или монофункциональные (тип каталаз, представленный у млекопитающих), бифункциональные каталазы-пероксидазы и псевдокаталазы (Goyal M.M., Basak A., 2010). Подробнее остановимся на строении и функциях типичных каталаз. Монофункциональная каталаза – тетрамер, весом 244 кДа, содержащий 1997 аминокислотных остатков в четырех идентичных субъединицах (A, B, C, D), четыре гемовых группы, 393 молекулы воды и четыре НАДФН-молекулы. Каталаза млекопитающих играет ключевую роль в регуляции концентрации  $\text{H}_2\text{O}_2$  и других цитотоксических производных. Она защищает гемоглобин, устраняя половину образующейся перекиси в эритроцитах. Известно, что роль каталазы в антиоксидантной защите зависит от типа ткани и модели окислительного повреждения (Goyal M.M., Basak A., 2010). Внедрение экзогенной каталазы подавляет индукцию апоптоза и снижает токсичность противоопухолевых препаратов. Однако фермент также обладает косвенным проапоптотическим действием, выступая в качестве супрессора защитных белков в специализированных клетках (Sancho P. et al., 2003). Делеция гена каталазы приводит к такому генетическому заболеванию, как акаталазия или болезнь Такахары (Goyal M.M., Basak M.M., 2010).

Другим белком, играющим ключевую роль в антиоксидантной защите, является церулоплазмин ЦП. ЦП (КФ 1.16.3.1) – медьсодержащая феррооксидаза. Молекула ЦП представляет собой  $\beta$ -глобулин. В белок входит 1046 аминокислотных остатков с молекулярной массой 132 кД (Bento I. et al., 2007). Существует две изформы ЦП, каждая из которых является гликопротеином. ЦП синтезируется в печени. Исходный продукт, с молекулярной массой 80 кДа, в эндоплазматическом ретикулуме подвергается посттрансляционным модификациям. Конечным продуктом является молекула, массой 135 кДа, которая поступает в кровяное русло (Ващенко В.И., Ващенко Т.Н., 2008). ЦП участвует в транспорте меди, что оказывает существенное влияние на синтез цитохром-С-оксидазы и СОД. Кроме того, ЦП действует как феррооксидаза и окисляет ионы железа в плазме и на поверхности клеток. Именно в окисленном состоянии ионы железа (III) могут транспортироваться трансферрином. Таким образом, ЦП косвенно предотвращает образование высокоактивных форм кислорода, переводя ионы железа в относительно нетоксичную форму (Mukhopadhyay S.K. et al., 1997). Показано, что ЦП способен окислять ЛПВП (Vanhoutte P.M., 1997). ЦП относится к белкам острой фазы и его уровень значительно растет при воспалении, причиной которого может стать операционное вмешательство, инфаркт миокард, инфекция, опухоль. Известно, что ЦП обладает супероксиддисмутазной активностью. Однако в отличие от СОД он нейтрализует предшественники  $O_2^{\cdot -}$  (Ващенко В.И., Ващенко Т.Н., 2008). Критически низкий уровень ЦП отмечается при болезни Вильсона (Mahajan R.D. et al., 2011). Уровень церулоплазмينا снижается также при болезни Менкеса (синдром курчавых волос) (Mahajan R.D. et al., 2011).

Жизнеспособность и функционирование клетки зависит не только от антиоксидантного потенциала, а от поддержания редокс-гомеостаза в том числе. Важнейшую роль в этом процессе выполняют тиоловые группы. В тиоловом метаболизме и поддержании редокс-гомеостаза активно участвует глутатио-

новая система, представленная трипептидом GSH и ферментами, косубстратом которых он является, ГПО, ГР и GST.

GSH - L-γ-глутамил-L-цистеинилглицин, тиольный антиоксидант. GSH обнаружен у животных, растений и микроорганизмов. Содержание глутатиона в животных клетках варьирует от 1 мМ до 10 мМ. Во внеклеточных жидкостях уровень GSH ниже (например, 2-20 мкмоль / л в плазме). Глутатион существует в двух формах: восстановленная форма (мономерная, GSH) и окисленная (димерная, GSSG). Отношение [GSH]:[GSSG] часто используется в качестве показателя клеточного редокс-потенциала, который коррелирует с биологическим статусом клетки, достигая, например, при пролиферации - 240 mV, при дифференцировке - 200 mV, а при апоптозе - 170 mV (Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В., 2007). Как антиоксидант, GSH занимает центральное место в антирадикальной и антиперекисной защите клетки. GSH эффективно нейтрализует свободные радикалы (например, гидроксильные радикалы, радикалы перекисей липидов, пероксинитрит и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) непосредственно и опосредованно путем ферментативных реакций. (Коржов В.И., Жадан В.Н. и др., 2007). Кроме того, антиоксидантная функция GSH также проявляется за счет участия в других, первичных антиоксидантных системах клетки. Например, были описаны некоторые GSH-зависимые ферменты, обладающие дегидроаскорбат редуктазной активностью. Аскорбат также как и глутатион при определенной концентрации является антиоксидантом. Дегидроаскорбат редуктазы при участии GSH способны поддерживать постоянную концентрацию аскорбиновой кислоты в условиях ускоренного окисления (Pompella A. et al., 2003). Не менее важной является детоксикация экзогенных соединений (ксенобиотиков) с участием глутатиона. GST катализирует конъюгацию GSH с гидрофобными соединениями. К числу таких соединений относятся эпоксиды, ареноксиды, альдегиды, нитрилы, простые и сложные ароматические соединения, нитрофураны и многие другие (Коржов В.И., Жадан В.Н. и др., 2007). GSH способен осуществлять посттрансляционную модификацию белков. Одним из способов модификации белков является глутатионилиро-

вание. Глутатионилированию подвержены различные структурные и функциональные белки с различными последствиями. Существует гипотеза, что глутатионилирование белков является уникальной клеточной сигнализацией, которая может запускать сигнал «тревоги» (например, путем активации MAP-киназ) или вызывать адаптивные реакции (за счет усиления активации транскрипции генов антиоксидантных ферментов). Глутатионилирование может запускать апоптотические механизмы (Hill B.G., Bhatnagar A. et al., 2007). GSH, участвуя в редокс-регуляции, влияет на экспрессию сигнальных белков на уровне транскрипции. Ряд факторов транскрипции содержит редокс-чувствительные остатки цистеина в их ДНК-связывающих сайтах. Например, факторы NF-κB, AP-1, HIF-1α и P53. В большинстве случаев, окисление тиоловых групп таких белков будет ингибировать их ДНК-связывающую активность. В физиологических условиях ядерный пул GSH играет важную роль в поддержании восстановительного потенциала среды, чтобы предотвратить чрезмерные окислительные модификации ядерной ДНК и обеспечить надлежащую трансактивацию гена (Trachootham D. et al., 2008). GSH играет важную роль в активации лимфоцитов (Ashtiani H.R. et al., 2011). Активация различных популяций лимфоцитов зависит от разного уровня GSH. Отсутствие или снижение содержания GSH ингибирует цитотоксические Т-лимфоциты и CD8 +, в то время как клетки CD4 + наиболее активны. Связь между глутатионом и иммунной системой описана не полностью, но известно, что особое значение может иметь влияние глутатиона на NFκB (Ashtiani H.R. et al., 2011).

Антиоксидантный вклад глутатиона был бы неполным без сопряженного с ним фермента – ГПО. Глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9, систематическое название "глутатион:перекись-водорода-оксидоредуктаза") – ферменты, которые катализируют разложение  $H_2O_2$ , органических гидроперекисей в соответствующие спирты с использованием глутатиона в качестве косубстрата (Herbette S. et al., 2007). Глутатионпероксидазы принадлежат к семейству филогенетически родственных ферментов. ГПО1-4 млекопитающих - селено-

протеины с селеноцистеином (Sec) в каталитическом центре, ГПО6 является селенопротеином только у человека. Согласно филогении, семейство ГПО состоит из трех эволюционных групп, происходящих из Cys-содержащего предка: ГПО1/ГПО2, ГПО3/ГПО5/ГПО6 и ГПО4/ГПО7/ГПО8 (Brigelius-Flohé R., Maiorino M., 2013). ГПО1, 2, 3, 5 и 6 гомотетрамеры, которые специфичны в отношении гидропероксидов с определенным молекулярный весом. ГПО4, 7 и 8 представляют собой мономеры, вероятно, катализируют реакции с различными гидроперекисидами липидов, реакция с которыми в настоящее время доказана только для ГПО4 (Brigelius-Flohé R., Maiorino M., 2013).

Антиоксидантная роль глутатионпероксидаз проявляется в нейтрализации различных пероксидов. ГПО1 локализована практически во всех тканях, и классифицирована как фермент противодействия окислительному стрессу. Первая изформа способна реагировать с  $H_2O_2$  и растворимыми низкомолекулярными гидропероксидами такими, как трет-бутилгидропероксид, гидропероксид кумола, гидропероксиды жирных кислот и гидропероксиды лизофосфатидов, но не с гидроперекисями более сложных липидов (Brigelius-Flohé R., Maiorino M., 2013). Принимая во внимание сигнальную функцию  $H_2O_2$ , можно предположить участие ГПО1 в регуляции сигнальных процессов (Flohe L., Brigelius-Flohé R., 2011).

ГПО2 в основном экспрессируется в желудочно-кишечном тракте, включая эпителий пищевода, а также в печени. Таким образом, ГПО2 еще называют «желудочно-кишечная» ГПО и предполагают, что она служит барьером для поступающих гидропероксидов. Предполагается, что ГПО2 может иметь отношение к органогенезу (Baek I.-J. et al., 2011).

ГПО3 может предотвратить гидропероксид-опосредованную активацию липоксигеназы. Активация липогексиназы может усилить начальный фагоцитарный ответ или иным образом активировать генерацию  $O_2^{\cdot-}$  через НАДФН-оксидазу и в конечном итоге обуславливает воспалительную реакцию, если  $H_2O_2$  не устранена. ГПО3 может предотвратить такое усиление

сигнала на мембране и, таким образом, нейтрализовать усиление воспалительной реакции (Flohé L., Brigelius-Flohé R., 2011).

ГПО4 является ключевым ферментом, регулирующим тканевой гомеостаз. ГПО4 человека локализуется в митохондриях. Она предотвращает клеточную гибель и повреждение тканей в различных органах, снижая уровни пероксидов липидов в клеточных мембранах. ГПО4 первоначально были охарактеризована как белок, ингибирующий перекисное окисление липидов, благодаря своей уникальной способности восстанавливать, кроме  $H_2O_2$  и небольших гидропероксидов, гидропероксиды сложных липидов, такие как гидропероксиды фосфолипидов, холестерина и эфира холестерина (Thomas et al., 1990). В зависимости от наличия GSH, ГПО4 может либо действовать как глутатионпероксидаза или тиоловая пероксидаза (Brigelius-Flohé R., Maiorino M., 2013).

ГПО5 является специфичной глутатионпероксидазой придатков яичек у мышей, крыс, свиней, обезьян и человека. ГПО5 участвует в защите репродуктивной системы (Seligman J. et al, 2005).

ГПО6 экспрессируется в обонятельном эпителии эмбрионов и взрослых мышей. Известно, что ГПО6 активируются в ушной улитке мышей с возрастной потерей слуха и трофобластах, инфицированных *Toxoplasma gondii*. Оба случая были интерпретированы как адаптивная реакция на окисленную микросреду (Brigelius-Flohé R., Maiorino M., 2013).

ГПО7 выявлялся во всех исследованных тканях - легких, почках, яичках, жировой ткани, молочных железах (Меньщикова и др., 2006). Была обнаружена незначительная экспрессия ГПО7 в раковых клеточных линиях молочной железы, поэтому постулируется обратная связь между ГПО7 и онкогенезом (Utomo et al., 2004). Обсуждается участие ГПО7, а также ГПО8 в фолдинге белков (Brigelius-Flohé R., Maiorino M., 2013).

ГПО8 является мембранным белком эндоплазматического ретикулума. Была предложена гипотеза, что ГПО8 вместе с ГПО7 участвует в повторном



окислении тиоловых протеин-изомераз при фолдинге белков в эндоплазматическом ретикулуме (Brigelius-Flohé R., Maiorino M., 2013).

За контроль уровня перекиси водорода ответственна также другая группа пероксидаз – пероксиредоксины. Они представляют собой семейство антиоксидантных ферментов, которое подразделяется на 2 группы: пероксиредоксины с двумя остатками цистеина на N- и C-концевых участках и пероксиредоксины с одним остатком цистеина в N-концевом регионе. В первую группу входит пероксиредоксин-1 (Prx1). Prx1 – гомодимер ( $\approx 22$  кДа), содержащий два активных сайта. Prx1 участвует в перексид-индуцированной активации сигнального MAPK-пути. Окисление перекисью ASK1 является пусковым механизмом для фосфорилирования p38 и c-Jun-N-киназы. Таким образом, при минимальных концентрациях  $H_2O_2$  Prx1 способен модулировать экспрессию различных белков через MAPK-путь (Jarvis et al., 2012). Особенно стоит отметить его значимость в регуляции клеточной гибели. Препятствуя фосфорилированию p38 и активации каспазы-3, Prx1 предотвращает 6-гидроксидофамин-опосредованную гибель нейронов (Lee et al., 2008). Пероксиредоксин также препятствует  $H_2O_2$ -опосредованному окислению цистеиновых остатков АТМ-киназы (ataxia-telangiectasia mutated kinase) и Src-киназы Lyn, тем самым предотвращая активацию ферментов (Cao et al., 2009). Prx1 вносит вклад в антиоксидантную защиту, ингибирует c-Myc-зависимую экспрессию гена и онкогенез (Park S.-P. et al., 2007; Chhipa R.R. et al., 2009). Известно, что Prx1 выполняет также противовоспалительную функцию. Взаимодействуя с апуриновой/апириимидиновой эндонуклеазой 1, пероксиредоксин блокирует активацию NF- $\kappa$ B и ингибирует экспрессию интерлейкина-8 (Nassour H. et al., 2016).

Реакции, катализируемые ГПО, переводят глутатион в окисленную форму. В то же время другой фермент, глутатионредуктаза (КФ 1.8.1.7), восполняет клеточный пул GSH. Глутатионредуктазы – флавиновые ферменты из семейства оксидоредуктаз пиридиновых нуклеотиддисульфидов. Изоформы ГР про- и эукариот представляют собой гомодимеры с молекулярной массой

110 кДа (Deponte M., 2012). Установлено, что недостаток ГР коррелирует с высокой чувствительностью эритроцитов к окислительным изменениям и с развитием катаракты в раннем возрасте (Kamerbeek et al., 2006).

Существенно изменять пул восстановленного глутатиона способны глутатион-S-трансферазы (КФ 2.5.1.18). Глутатион-S-трансферазы (GST; КФ 2.5.1.18, систематическое название «RX:глутатион-R-трансфераза») – мультифункциональные белки, использующие восстановленный глутатион для конъюгации с гидрофобными веществами, их восстановления или изомеризации (Колесниченко Л.С., Кулинский В.И., 1989). По меньшей мере выделяют четыре структурно различных семейства: цитозольные GST; Каппа класс митохондриальных GST; MAPEG ферменты; фосфомицин-резистентные белки. Семейство цитозольных GST является наиболее изученным и распространено во всех клеточных формах жизни. (Board, Menon, 2013). На настоящий момент определены кристаллические структуры почти всех известных человеческих GST и многочисленные структуры GST других видов. Исследования показали, что цитозольные GST, как правило, димерные белки, состоящие из субъединиц по 25-30 кДа (Board P.G., Menon D., 2013). Представители Alpha, Mu, Pi, Sigma, Theta, Zeta и Omega классов существуют преимущественно в виде димеров (Board P.G., Menon D., 2013). Широко изучена роль GST в процессах конъюгации и элиминации электрофильных ксенобиотиков, в том числе онкопрепаратов и канцерогенов. Также широко исследовано участие GST в нейтрализации эндогенных производных свободных радикалов, ее селен-независимая глутатионпероксидазная активность и ее способность конъюгировать с продуктами ПОЛ такими, как 4-гидроксиноненаль (Hayes J.D. et al., 2005; Higgins L.G., Hayes J.D., 2011; Hayes J.D., Wolf C.R., 1990; Hayes J.D., Pulford D.J., 1995). Альфа класс GST проявляет кетостероидную изомеразную активность, а также катализируют широкий спектр реакций конъюгации с глутатионом и обладают глутатионпероксидазной активностью. В частности GST A3-3 изомеризуют такие эндогенные  $\Delta^5$ -3-кетостероиды, как например,  $\Delta^5$ -андростен-3,17-дион и  $\Delta^5$ -прегнан-3,20-дион

в  $\Delta$ 4-андростен-3,17-дион и  $\Delta$ 4-3,20-дион – непосредственные предшественники тестостерона и прогестерона, соответственно (Johansson A.-S., Mannervik B., 2001). GST участвуют в нескольких аспектах синтеза простагландинов и их метаболизме. GST M2-2 и GST M3-3 катализируют изомеризацию простагландина H2 в простагландин E2. (Beuckmann C.T. et al., 2000). Известно, что GST могут связываться с глутатионилированными белками и модулировать их функции (Listowsky I., 2005). Кроме того, GST P способны непосредственно участвовать в глутатионилировании белков (Townsend D.M. et al., 2009). GST P регулируют киназы сигнальных путей, управляя сигналами, ответственными за выживание клетки и/или апоптоз. GST P опосредует ингибирование Jun-киназы при болезни Паркинсона. Кроме того, GST P затрудняет взаимодействие TRAF2 с ASK1 и препятствует TRAF2-ASK-1-индуцированному проапоптотическому сигнальному механизму (Elsby R. et al., 2003). GST A1-1 также способна оказывать влияние на сигнальные каскады, осуществляя белок-белковые взаимодействия с JNK (Romero L. et al., 2006). GST M1-1 может осуществлять аналогичные регуляторные функции. Взаимосвязь GST M1-1 с ASK1 имеет решающее значение для фосфорилирования последующих мишеней, в частности протеинкиназы p38 (Dorion S. et al., 2002). GST участвуют в формировании и регуляции ионных каналов (Board P.G. et al, 2004; Dulhunty A.F. et al., 2005; Liu H.-R. et al., 2009).

Роль антиоксидантной системы в защите клеток от свободнорадикальных окислителей тесно связана с регуляцией иммунного и эндотелиального гомеостаза сердца. Хирургическое вмешательство, при котором нарушаются нормальное потребление кислорода и образование энергии, обуславливает возникновение и развитие каскада патофизиологических реакций, основой которого является изменение процессов свободнорадикального окисления. Снижение антиоксидантного потенциала сопровождается активацией прооксидантной системы, избыточной продукцией активных кислородных метаболитов и накоплением окисленных токсичных продуктов, способствующих усилению повреждающего действия. С одной стороны, исследование антиок-

сидантных показателей позволяет осуществить мониторинг протекания кардиопатологии. С другой стороны, антиоксидантная терапия способствует восстановлению редокс-гомеостаза в послеоперационный период и снижает риск развития кардиоваскулярных осложнений (Mangge H. et al., 2014; Goszcz K. et al., 2015).

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Материалы исследования

#### 2.1.1 Клинические наблюдения и клинические группы

В исследование было включено 76 больных ИБС, перенесших АКШ в отделении кардиохирургии ГБОУ ВПО «Ростовского государственного медицинского университета» Минздрава РФ за 2013-15 гг. Пациенты были разделены на две группы. Первую группу составили 66 пациентов без постперикардотомного синдрома (ПКТС), вторую – 10 пациентов с ПКТС.

Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Основные характеристики пациентов, включенных в клинические груп-

пы

| Клинические показатели                     | Контрольная группа | Пациенты без ПКТС | Пациенты с ПКТС |
|--|--------------------|-------------------|-----------------|
| Количество, человек                        | 20                 | 66                | 10              |
| Возраст, лет (M±m)                         | 46,2±0,7           | 59,93±1,08        | 56,8±2,44       |
| Мужчины/женщины, %                         | 80/20              | 89,4/10,6         | 90/10           |
| Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> (M±m) | 25,67±0,82         | 29,68±0,74        | 27,34±1,78      |
| ИБС (стенокардия напряжения), %            |                    | 69,7              | 80              |
| Нестабильная стенокардия, %                |                    | 7,6               | 0               |
| Аневризма и расслоение аорты, %            |                    | 22,7              | 20              |
| Ранее перенесенный инфаркт миокарда, %     |                    | 33,3              | 30              |
| ХСН I ФК, %                                |                    | 6,6               | 30              |
| ХСН II ФК, %                               |                    | 56,7              | 20              |
| ХСН III ФК, %                              |                    | 34,3              | 40              |
| ХСН IV ФК, %                               |                    | 2,4               | 10              |

Примечание: ХСН ФК – функциональные классы хронической сердечной недостаточности по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA).

### 2.1.2 Получение биологического материала

Биохимические и иммунологические показатели исследовались в динамике: в момент операции, на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е и 10-е сутки послеоперационного периода. Определение биохимических и иммунологических показателей проводили в эритроцитах и плазме крови, а также в перикардиальной жидкости (табл.2).

Таблица 2.

Биоматериал для исследованных показателей у больных ИБС, перенесших АКШ

| Биоматериал<br>Показатели | Эритроциты | Плазма | Перикардиальная<br>жидкость |
|---------------------------|------------|--------|-----------------------------|
| СРП (метод ХЛ)            |            | +      | +                           |
| NOx                       |            | +      | +                           |
| ВЭГ                       |            | +      | +                           |
| СПА                       |            | +      | +                           |
| МДА                       | +          | +      |                             |
| ДК                        |            | +      |                             |
| ШО                        |            | +      |                             |
| МПО                       |            | +      | +                           |
| ЦП                        |            | +      | +                           |
| Каталаза/ $V_{H_2O_2}$    | +          | +      | +                           |
| СОД/СУА                   | +          | +      | +                           |
| GSH                       | +          |        |                             |
| ГПО                       | +          | +      | +                           |
| ГР                        | +          |        |                             |
| GST                       | +          |        |                             |
| Аргиназа                  | +          |        |                             |
| Параоксоназа              |            | +      | +                           |
| ИЛ-1 $\beta$              |            | +      | +                           |
| ИЛ-6                      |            | +      | +                           |
| ИЛ-8                      |            | +      | +                           |
| ADMA                      |            | +      | +                           |
| Prx-1                     |            | +      | +                           |

Отбор крови производили утром натощак из локтевой вены. Антикоагулянтом служило  $K_3$ ЭДТА. Для получения плазмы центрифугировали цельную кровь при 3000 об/мин 10 мин. Перикардиальная жидкость отбиралась

интраоперационно. Подготовка перикардиальной жидкости также требовала центрифугирования (10 мин при 3000 об/мин). Для исследований использовался супернатант. Плазма и перикардиальная жидкость для иммуноферментного анализа хранилась в пробирках типа эппендорф при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Для получения 1% гемолизата эритроциты лизировали дистиллированной водой в соотношении 1:100, а 10% гемолизата – в соотношении 1:10, энергично встряхивая и затем инкубируя при  $+4^{\circ}\text{C}$  в течение 30 минут.

## 2.2 Биохимические методы исследования

### 2.2.1 Определение содержания стабильных метаболитов оксида азота нитритов/нитратов

Уровень NO оценивали, измеряя содержание стабильных метаболитов оксида азота, нитритов/нитратов ( $\text{NO}_x$ ) (Голиков П.П., 2004). В основе метода лежит цветная реакция нитритов с реактивом Грисса. Для восстановления нитрата до нитрита использовали гранулированный кадмий.

*Ход определения.* К 0,4 мл плазмы крови (или перикардиальной жидкости) добавляли 0,8 мл 0,5 М NaOH и 0,8 мл 10%-ного раствора сульфата цинка. Содержимое пробирок перемешивали в течение 30 с и центрифугировали 30 мин при 7000 об/мин. 1,5мл прозрачного супернатанта отбирали, переносили в пробирки, содержащие аликвотное количество гранул металлического кадмия и оставляли на 20 часов при комнатной температуре. Затем гранулы кадмия извлекали, приливали в пробирки по 1,5мл 12% реактива Грисса в 10%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  и оставляли на 15 минут при комнатной температуре для развития окраски. Развившуюся окраску фотометрировали при 546нм в кюветах с длиной оптического пути 1см против дистиллированной воды.

Измерение оптической плотности раствора проводили на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 546 нм. Содержание  $\text{NO}_x$  рассчитывали по калибровочному графику, построенному с помощью стандартного раствора нитрита натрия и выражали в мкмоль/л.

### 2.2.2 Получение хлороформного экстракта липидов

Получение хлороформного экстракта осуществлялось по методу, описанному Bligh и Dyer (Bligh E.G., Dyer W.J., 1959). Принцип метода заключается в том, что гидрофобные липиды экстрагируются в гидрофобную среду хлороформа, а все водорастворимые молекулы переходят в водно-метанольную фазу.

*Ход определения.* В стеклянные колбы вносили 1,35 мл дистиллированной H<sub>2</sub>O, 0,25 мл плазмы, 4 мл метанола и 2 мл хлороформа, помещали на магнитную мешалку в течение 3 мин. Затем добавляли 2 мл хлороформа и 2 мл дистиллированной H<sub>2</sub>O. Экстракцию проводили течение 24 часов при температуре +4°C. После расслоения отбирали нижнюю фазу, представляющую собой хлороформный экстракт липидов.

В хлороформном липидном экстракте определяли содержание диеновых конъюгатов, шиффовых оснований и концентрацию общих липидов.

### 2.2.3 Определение диеновых конъюгатов

ДК определяли в хлороформном экстракте спектрофотометрическим методом (Стальная И.Д., 1977). Метод основан на том, что липидные экстракты, содержащие жирные кислоты с диеновой конъюгацией, обладают поглощением в ультрафиолетовой области спектра при  $\lambda = 232\text{нм}$ . Определяя количество двойных сопряженных связей в липидных экстрактах биологических объектов, можно также судить о количестве гидроперекисей липидов, то есть об интенсивности протекания начальных стадий процесса ПОЛ.

*Ход определения.* 2мл хлороформного экстракта липидов выпаривали на вакуумном роторном испарителе при 60°C до сухого осадка липидов. Сухой остаток растворяли в 3 мл смеси метанол-гексан. Измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 233 нм. Содержание ДК рассчитывали по формуле:

$$ДК = \frac{E * V_{пробы}}{\epsilon_0 * l * V_{sub} * C}, \text{ где}$$



$E$  – оптическая плотность раствора;

$V_{\text{пробы}}$  – объем пробы;

$V_{\text{sub}}$  – объем биосубстрата;

$\epsilon_0$  – коэффициент молярной экстинкции ( $2,1 * 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );

$l$  – длина оптического пути;

$C$  – концентрация общих липидов (ОЛ).

Концентрацию ДК выражали в нмоль/мг ОЛ.

#### 2.2.4 Определение шиффовых оснований

Содержание ШО определяли флуоресцентным методом (Bidlack W.R., Tarpeil A.L., 1973). Принцип метода основан на том, что флуоресценция продуктов ПОЛ типа шиффовых оснований обусловлена легко возбуждаемой  $6\pi$ -электронной конъюгированной системой I-амино-3-иминопропеновых групп. Эти флуоресцирующие хромофоры имеют характерные максимумы возбуждения и испускания флуоресценции при 360нм и 440нм, соответственно.

*Ход определения.* Измеряли флуоресценцию ( $\lambda$  возб = 360 нм,  $\lambda$  эмис = 440 нм) хлороформного липидного экстракта на спектрофлуориметре RF 5301PC фирмы Shimadzu (Япония). В качестве холостой пробы использовали хлороформ. Содержание ШО рассчитывали по формуле:

$$\text{ШО} = \frac{F_{\text{оп}} * 16}{F_{\text{ст}} * C}, \text{ где}$$

$F_{\text{оп}}$  – флуоресценция опытной пробы;

$F_{\text{ст}}$  – флуоресценция стандартной пробы;

$C$  – концентрация общих липидов;

16 – коэффициент разведения 0,25 мл биологического материала, содержащего липиды, в 4 мл хлороформа.

В качестве стандарта использовали раствор хинин-сульфата (1мг в 1мл 0,1М  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), флуоресценцию которого измеряли против 0,1М раствора  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Интенсивность флуоресценции стандартного раствора хинин сульфата

та принимали за единицу. Количество ШО выражали в относительных единицах флуоресценции на 1 мг общих липидов хлороформного экстракта (отн. ед. фл./мг ОЛ).

### 2.2.5 Определение продуктов ПОЛ (МДА), реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой

Уровень МДА оценивали с помощью колориметрического метода (Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977). Метод основан на том, что при нагревании в кислой среде эндоперекиси (продукты ПОЛ) разлагаются с образованием МДА, молекула которого взаимодействует с двумя молекулами 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК) с образованием окрашенного триметинового комплекса, имеющего характерный спектр поглощения с максимумом при  $\lambda = 535$  нм. Метод не является высокоспецифичным, поскольку цветную реакцию с 2-ТБК дает не только МДА, но и другие карбонильные соединения. Поэтому реакция с 2-ТБК отражает уровень ТБК-активных продуктов в целом, который в определенной мере характеризует интенсивность протекания процессов ПОЛ.

Ход определения. К 1 мл 10%-ного гемолизата эритроцитов (0,2 мл плазмы или перикардальной жидкости) добавляли 1 мл 30%-ной трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и 1 мл 0,75%-ной ТБК. В холостой пробе биосубстрат заменял равный объем дистиллированной  $H_2O$ . Смесь инкубировали в кипящей водяной бане (+100 °С) 20 мин. Затем пробирки охлаждали и центрифугивали 10 мин при 3000 об/мин. Измеряли оптическую плотность супернатанта на спектрофотометре DU-800 фирмы BeckmanCoulter (США) при длине волны 532 нм.

Рассчитывали содержание МДА по формуле:

$$MДА = \frac{(E_{оп} - E_{к}) * V_{пробы}}{\epsilon_0 * l * V_{sub} * C}, \text{ где}$$

$E_{оп}$  – экстинция опытной пробы;

$E_{к}$  – экстинция холостой пробы;

$V_{\text{пробы}}$  – объем пробы;

$V_{\text{sub}}$  – объем биоусбстрата;

$\epsilon_0 = 1,56 \cdot 10^5$  [ $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ] - коэффициент молярной экстинкции триметинового комплекса;

$l$  – длина оптического пути;

$C$  – концентрация общего белка (или гемоглобина).

Концентрацию МДА выражали в нмоль/мг белка (или гемоглобина).

### 2.2.6 Определение пероксидазной активности миелопероксидазы

Определение активности миелопероксидазы (МПО) основано на спектрофотометрическом методе (Саидов М.З., Пинегин Б.В., 1991). Принцип метода заключается в способности МПО окислять орто-фенилендиамин в присутствии перекиси водорода с образованием окрашенных продуктов.

*Ход определения.* В опытные пробирки вносили 0,1 мл биосубстрата (плазма или перикардальной жидкости), в контрольные – 1 мл 1 Н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Затем в каждую пробирку добавляли 1 мл 0,04% орто-фенилендиамина и 0,1 мл 0,014  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Пробы инкубировали 5 мин при  $+37$  °С в термостате. В опытных пробирках реакцию останавливали добавлением 1 мл 1 Н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Оптическую плотность раствора измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 492 нм. Активность миелопероксидазы рассчитывали по формуле:

$$A_{\text{МПО}} = \frac{2 * (E_{\text{оп}} - E_{\text{к}})}{E_{\text{к}} * C}, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  – экстинция опытной пробы;

$E_{\text{к}}$  – экстинция контрольной пробы;

$C$  – концентрация общего белка.

Активность МПО выражали в условных единицах на мг белка в минуту (у.е./мин\*мг).

### 2.2.7 Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) и супероксидустраняющей активности (СУА)

Спектрофотометрический метод определения основан на способности СОД ингибировать восстановление нитротетразолия синего (НТС) при аутоокислении адреналина в адренохром в щелочной среде в условиях генерации супероксидного анион-радикала (Сирота Т.В., 1999).

*Ход определения.* К 100 мкл гемолизата, плазмы и перикардиальной жидкости приливали 3,5 мл 50 мМ Na-карбонатного буфера рН 10,2, 150 мкл НТС и 20 мкл 0,1%-ного адреналина. В контрольной пробе отсутствие биосубстрата компенсировали буферным раствором. Пробы инкубировали 3 мин на водяной бане при +37 °С. Реакцию останавливали добавлением 3%-ной HCl. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 540 нм.

Активность супероксиддисмутазы и СУА рассчитывали по формуле:

$$СОД = \frac{T\%}{50\% * V * t * C}$$

$$T\% = \frac{E_k - E_{on}}{E_k} * 100\%, \text{ где}$$

T% - процент ингибирования реакции восстановления НТС;

V – объем биосубстрата;

t – время инкубации;

C – концентрация гемоглобина;

у.е. – 50% скорости ингибирования.

Удельную активность фермента выражали в у.е./мин\*мг Hb, у.е./мл плазмы и у.е./мл перикардиальной жидкости.

## 2.2.8 Определение активности каталазы или скорости утилизации пероксида водорода

Активность каталазы и скорость утилизации перекиси водорода ( $V_{H_2O_2}$ ) определяли спектрофотометрическим методом (Королук М.А. и др., 1988). Метод основан на способности перекиси водорода образовывать стойкий окрашенный комплекс с солями молибдена.

*Ход определения.* К 25 мкл гемолизата эритроцитов, плазмы крови и перикардиальной жидкости приливали 2 мл 0,03%-ной перекиси водорода и инкубировали 7 мин на водяной бане при +37 °С. Реакцию останавливали добавлением 1 мл 4%-ного молибдата аммония. Смесь инкубировали 5 мин при комнатной температуре для развития окраски. Измеряли оптическую плотность проб на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 410 нм против контроля, в который молибдат аммония добавляли до первой инкубации. Расчет удельной активности фермента осуществляли по формуле:

$$A = \frac{(E_k - E_{оп}) * V_{пробы}}{\epsilon_0 * l * t * V_{sub} * C}, \text{ где}$$

$E_k$  – оптическая плотность контрольной пробы;

$E_{оп}$  – оптическая плотность опытной пробы;

$V_{пробы}$  – объем пробы;

$\epsilon_0$  - коэффициент миллимолярной экстинкции комплекса перекиси водорода с молибдатом аммония ( $2,22 \text{ мМ}^{-1} * \text{см}^{-1}$ );

$l$  – длина оптического пути;

$t$  – время инкубации;

$V_{sub}$  – объем вносимого биосубстрата;

$C$  – концентрация общего белка (или гемоглобина).

Активность каталазы в эритроцитах выражали в нмоль  $H_2O_2$ /мин\*г Нв. Скорость утилизации перекиси водорода выражали в нмоль/мл плазмы и нмоль/мл перикардиальной жидкости.

### 2.2.9 Определение оксидазной активности церулоплазмينا

Метод определения основан на окислении субстрата пара-фенилендиамина (р-ФДА) церулоплазмином с образованием окрашенных продуктов. По интенсивности развивавшейся окраски судили об оксидазной активности ЦП. (Камышников В.С., 2003).

*Ход определения.* В опытные и контрольные пробирки добавляли 0,5 мл плазмы (или перикардальной жидкости), 4 мл 0,4 М ацетатного буфера, рН 5,5 и 0,5 мл 0,5%-ного раствора р-ФДА. Кроме того, в контрольные пробирки приливали 1 мл 3%-ного NaF. Пробы инкубировали 1 ч при +37 °С. Реакцию в опытных пробирках останавливали внесением 1 мл 3%-ного NaF. Затем пробы инкубировали 30 мин при +4 °С в холодильной камере. Оптическую плотность раствора измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 540 нм. Расчет оксидазной активности ЦП проводили по формуле:

$$A_{\text{ЦП}} = (E_{\text{оп}} - E_{\text{к}}) * 5,7925, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы;

$E_{\text{к}}$  – оптическая плотность контрольной пробы.

5,7925 – коэффициент пересчета с учетом молярного коэффициента экстинкции окисленного р-ФДА при толщине оптического слоя 1 см.

Оксидазную активность ЦП выражали в мкмоль/л.

### 2.2.10 Определение содержания восстановленного глутатиона

Содержание восстановленного глутатиона (GSH) осуществляли методом, принцип которого заключается в образовании окрашенного соединения при взаимодействии GSH с 5,5-дителибис (2-нитробензойной кислотой) (ДТНБК) (Ellman G.L., 1959).

*Ход определения.* К 1 мл 1%-ного гемолизата эритроцитов добавляли 200 мкл 30%-ной ТХУ. Пробы центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин.

К 1 мл супернатанта приливали 2,5 мл 0,3 М буфера трис-НСl и 50 мкл 10 мМ ДТНБК. Отсутствие биосубстрата в холостой пробе компенсировали

буфером. Пробы оставляли на 10 мин при комнатной температуре для развития окраски. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 412 нм. Содержание GSH рассчитывали по формуле:

$$GSH = \frac{\Delta E * V_1 * V_2 * 10^6}{\epsilon_0 * V_{sub1} * V_{sub2} * l * C}, \text{ где}$$

$\Delta E$  – разница экстинкций опытной и контрольной пробы;

$V_1$  и  $V_2$  – объемы проб до и после центрифугирования;

$\epsilon_0$  – молярный коэффициент экстинкции,  $11400 \text{ M}^{-1}/\text{л}^{-1} * \text{см}^{-1}$ ;

$V_{sub1}$  и  $V_{sub2}$  – объемы вносимого биосубстрата до центрифугирования и супернатанта после центрифугирования;

$l$  – длина оптического пути;

$C$  – концентрация гемоглобина.

Содержание восстановленного глутатиона выражали в мкмоль/г Нб.

### 2.2.11 Определение активности глутатионпероксидазы

Активность глутатионпероксидазы определяли по скорости окисления восстановленного глутатиона в присутствии гидроперекиси трет-бутила (Моин М.В., 1986).

*Ход определения.* К 100 мкл биосубстрата (10%-ного гемолизата эритроцитов, плазмы и перикардальной жидкости) приливали 830 мкл 4,8 мМ раствора восстановленного глутатиона в 0,1 М трис-НСl буфере рН 8,5, содержащий 6 мМ ЭДТА и 12 мМ  $\text{NaN}_3$ , и 70 мкл гидроперекиси третбутила. Пробы инкубировали 5 мин в водяной бане при  $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Затем во все пробирки вносили 400 мкл 30%-ной ТХУ. Контрольные пробы изначально не содержали биосубстрат, его добавляли после внесения ТХУ. Все пробы центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Отбирали 50 мкл супернатанта и приливали к нему 2,5 мл 0,1М трис-НСl буфера рН 8,5, содержащим 6 мМ ЭДТА и 12мМ  $\text{NaN}_3$ , и 25 мкл 10 мМ ДТНБК. Пробы оставляли на 10 мин при комнатной температуре для развития окраски. Оптическую плотность измеряли

на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 412 нм. Активность глутатионпероксидазы рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{\Delta E * V_1 * V_2 * 10^6}{\epsilon_0 * V_{sub1} * V_{sub2} * l * t * C}, \text{ где}$$

$\Delta E$  – разница экстинкций контрольной и опытной пробы;

$V_1$  и  $V_2$  – объемы проб до и после центрифугирования;

$\epsilon_0$  – коэффициент молярной экстинкции,  $11400 \text{ M}^{-1}/\text{л}^{-1} * \text{см}^{-1}$ ;

$V_{sub1}$  и  $V_{sub2}$  – объемы вносимого биосубстрата до центрифугирования и супернатанта после центрифугирования;

$l$  – длина оптического пути;

$t$  – время инкубации;

$C$  - концентрация общего белка (или гемоглобина).

Активность ГПО выражали в МЕ/г белка или МЕ/г Нб.

### 2.2.12 Определение активности глутатионредуктазы

Активность глутатионредуктазы определяли спектрофотометрическим методом (Юсупова Л.Б., 1989). В данном методе активность фермента измеряется по скорости окисления НАДФН.

*Ход определения.* К 100 мкл 2%-ного гемолизата эритроцитов приливали 2,25 мл реакционной смеси, содержащей 8мМ ЭДТА, 0,1 М КСl и 0,2 М Na,K-фосфатный буфер в соотношении 1:6:2, добавляли 100 мкл 8 мМ GSSG и 100 мкл 2 мМ НАДФН. В контрольные пробирки вместо 100 мкл GSSG вносили 100 мкл дистиллированной  $\text{H}_2\text{O}$ . Пробы инкубируют 10 мин на водяной бане при  $+37^\circ\text{C}$ . Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 340 нм. Активность глутатионредуктазы рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{\Delta E * V_{np} * 10^6}{\epsilon_0 * V_{sub} * l * t * C}, \text{ где}$$

$\Delta E$  – разница экстинкций опытной и контрольной пробы;

$V_{np}$  – объем пробы;



$\varepsilon_0$  – коэффициент молярной экстинкции НАДФН,  $6220 \text{ M}^{-1}/\text{л}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ;

$V_{\text{sub}}$  – объем вносимого субстрата;

$l$  – длина оптического пути;

$t$  – время инкубации;

$C$  – концентрация гемоглобина.

Активность глутатионредуктазы выражали в МЕ/г Нб.

### 2.2.13 Определение активности глутатион-S-трансферазы

Определение активности глутатион-S-трансферазы основано на оценке скорости реакции ферментативного образования GS-2,4-динитробензола в реакции восстановленного глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом (ХДНБ) (Habig W.H. et al., 1974).

*Ход определения.* К 100 мкл биосубстрата (2%-ного гемолизата эритроцитов или перикардальной жидкости) добавляли 2,5 мл 0,2 М К-фосфатного буфера pH 6,5, 100 мкл 10 мМ раствора восстановленного глутатиона, приготовленного на 0,2 М К-фосфатном буфере pH 6,5, и 100 мкл 15 мМ раствора ХДНБ на 96%-ном этаноле. В контрольной пробе отсутствие биоматериала компенсировали равным объемом буфера. Измеряли оптическую плотность при длине волны 340 нм. Затем инкубировали на водяной бане 5 минут при +37 °С. Снова фотометрировали пробы при той же длине волны. Рассчитывали активность GST по формуле:

$$A = \frac{((E_{\text{on2}} - E_{\text{on1}}) - (E_{\text{к2}} - E_{\text{к1}})) * V_{\text{пр}} * 10^6}{\varepsilon_0 * l * t * V_{\text{sub}} * C}, \text{ где}$$

$E_{\text{он1}}$  и  $E_{\text{он2}}$  – оптическая плотность опытной пробы до и после инкубации;

$E_{\text{к1}}$  и  $E_{\text{к2}}$  – оптическая плотность контрольной пробы до и после инкубации;

$V_{\text{пр}}$  – объем пробы;

$\varepsilon_0$  – коэффициент молярной экстинкции,  $9100 \text{ M}^{-1}/\text{л}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ;

$l$  – длина оптического пути;

$t$  – время инкубации;

$V_{\text{sub}}$  – объем вносимого биосубстрата;

$C$  – концентрация общего белка или гемоглобина.

Активность фермента выражали в МЕ/г Нб или МЕ/г белка.

### 1.3.14 Определение активности аргиназы

Активность аргиназы определяли спектрофотометрическим методом (Колб В.Г., Камышников В.С., 1982). Об активности фермента судили по приросту мочевины – продукта катализируемой реакции. Содержание мочевины оценивали по реакции с диацетилмонооксимом.

*Ход определения.* К 0,5 мл 1%-ного гемолизата эритроцитов добавляли 0,5 мл 0,5 мл 0,1 М глицинового буфера (рН 9,5), 0,5 мл 2,4 мкМ раствора  $\text{MnCl}_2$  и 0,5 мл 20,1 мкМ раствора аргинина. В контрольные пробирки сразу приливали 0,5 мл 30%-ной трихлоруксусной кислоты. Пробы инкубировали 60 мин при +37 °С. После инкубации реакцию в опытных пробирках останавливали внесением 0,5 мл 30%-ной ТХУ. Все пробы центрифугировали в течении 10 мин при 3000 об/мин. Отбирали 0,5 мл супернатанта и приливали к нему 2 мл цветного реактива с раствором (2,5 г/л) диацетилмонооксима. Пробы перемешивали, закрывали фольгой и помещали в кипящую водяную баню (+100 °С) на 10 мин, после чего охлаждали в токе холодной воды. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 540 нм. Активность аргиназы рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{(E_{\text{оп}} - E_{\text{к}}) * 16,65}{C * E_{\text{калиб}} * 60}, \text{ где}$$

16,65- содержание мочевины в калибровочном растворе, ммоль/л.;

$E_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы;

$E_{\text{к}}$  – оптическая плотность контрольной пробы;

$E_{\text{калиб}}$  – оптическая плотность стандартного раствора;

$C$  – концентрация гемоглобина в 1% гемолизате.

Активность аргиназы выражали в международных единицах на г гемоглобина (МЕ/г Нб).

#### 2.4.15 Определение содержания мочевины

Метод определения концентрации мочевины заключается в следующем: мочевина образует с диацетилмонооксимом в присутствии тиосемикарбазида и солей железа в кислой среде окрашенные соединения, интенсивность окраски которых пропорциональна содержанию мочевины (Меньшиков В.В., 1987).

*Ход определения.* К 0,5 мл 1%-ного гемолизата эритроцитов добавляли 0,5 мл 30%-ной ТХУ. Пробы центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин. Отбирали 0,5 мл супернатанта и приливали к нему 2 мл цветного реактива. В контрольные пробирки вместо надосадочной жидкости вносили 0,5 мл дистиллированной воды. Стандартную пробу проводили, как опытную, с той лишь разницей, что вместо сыворотки в ней использовали 0,2 мл стандартного раствора мочевины. Пробы инкубировали в кипящей водяной бане (+100 °С) 10 мин, затем охлаждали в течение 2-5 мин под водопроводной водой. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 540 нм. Содержание мочевины рассчитывали по формуле:

$$\text{Концентрация мочевины} = \frac{(E_{оп} - E_{к}) * 16,65}{C * E_{калиб}}, \text{ где}$$

$E_{оп}$  – оптическая плотность опытной пробы;

$E_{к}$  – оптическая плотность контрольной пробы;

$E_{калиб}$  – оптическая плотность стандартного раствора;

$C$  – концентрация гемоглобина в 1% гемолизате.

Выражали содержание мочевины в моль/г Нб.

### 2.2.16 Определение арилэстеразной активности параоксоназы

Арилэстеразную активность параоксоназы определяли спектрофотометрическим методом (Kilic S.S. et al., 2005). Параоксоназа катализирует гидролиз фенилацетата, расщепляющегося до фенола. Скорость образования фенола определяют, измеряя оптическую плотность исследуемого образца при длине волны 270 нм.

*Ход определения.* К 250 мкл биосубстрата (плазмы или перикардиальной жидкости) добавляли 1,5 мл 1 мМ CaCl<sub>2</sub> и 250 мкл 12 мМ фенилацетата. В контрольных пробах отсутствие биоматериала компенсировали равным объемом 1 мМ CaCl<sub>2</sub>. Проводили измерение оптической плотности на спектрофотометре DU 800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 270 нм. Затем пробы оставляли на инкубацию при 37 °С на 7 мин и снова фотометрировали. Арилэстеразную активность параоксоназы рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{((E_{on2} - E_{on1}) - (E_{к2} - E_{к1})) * l * V_{пр}}{t * C * \varepsilon_0 * V_{суб} * 10000}, \text{ где}$$

$E_{on1}$  и  $E_{on2}$  – оптическая плотность опытной пробы до и после инкубации;  
 $E_{к1}$  и  $E_{к2}$  – оптическая плотность контрольной пробы до и после инкубации;

$t$  – время инкубации;

$\varepsilon_0$  – коэффициент молярной экстинкции, 1310 М<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup>,

$C$  – концентрация общего белка в плазме или перикардиальной жидкости;

$l$  – толщины кюветы;

$V_{пр}$  – общий объем пробы;

$V_{суб}$  – объем образца.

Арилэстеразную активность параоксоназы выражали в международных единицах на мг белка (МЕ/мг белка).

### 2.2.17 Определение концентрации общего белка

Концентрацию общего белка в плазме и перикардиальной жидкости определяли биуретовым методом с помощью тест-набора производства «ЭКО сервис». Метод основан на способности пептидных связей образовывать с  $\text{Cu}^{2+}$  окрашенный комплекс.

*Ход определения.* К 20 мкл биосубстрата (плазма или перикардиальная жидкость) добавляли 1 мл биуретового реактива и через 30 мин измеряли оптическую плотность на спектрофотометре Beckman Coulter (США) при длине волны 540 нм. Количество общего белка рассчитывали по калибровочному графику, построенному по альбумину, и выражали в мг/мл.

### 2.2.18 Определение содержания гемоглобина и внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ)

Количество гемоглобина определяли колориметрически с помощью стандартного клинического набора реактивов Ольвекс Диагностиум (Россия). Принцип метода заключается в том, что под действием гексацианоферрита калия гемоглобин окисляется в метгемоглобин, который образует с ацетонциангидридом окрашенный цианметгемоглобин.

*Ход определения.* К 0,4 мл 1%-ного гемолизата эритроцитов приливали 1,6 мл трансформирующего раствора, выдерживали 15 мин и определяли оптическую плотность на спектрофотометре DU 800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 540 нм против трансформирующего раствора. Количество гемоглобина рассчитывали по калибровочной пробе и выражали в г/л.

### 2.2.19 Определение суммарной пероксидазной активности (СПА)

Суммарную пероксидазную активность внеклеточных пероксидаз определяли колориметрически (Лукаш А.И. и др., 1996). Принцип метода заключается в катализируемом пероксидазами окислении бензидина перекисью водорода с образованием интенсивно окрашенных продуктов.

*Ход определения.* Готовили рабочий ацетатный буфер. К 100 мл 7%-го ацетатного раствора добавляли 500 мг ЭДТА и 50 мг бензидина. Смесь интенсивно перемешивали 15-20 мин, фильтровали и вносили 1 мл 3%-ной перекиси водорода. К 4 мл рабочего буфера приливали 0,04 мл плазмы крови (или перикардиальной жидкости), перемешивали и инкубировали 20 мин при комнатной температуре. Интенсивность окрашивания раствора измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США) при длине волны 600 нм.

СПА рассчитывали по формуле:

$$СПА = \frac{E}{V_{sub}}, \text{ где}$$

$E$  – экстинкция пробы;

$V_{sub}$  – объем вносимого биосубстрата.

СПА выражали в единицах оптической плотности на 1 мл биоматериала (е.о.п./мл).

## **2.3 Иммуноферментный анализ**

### **2.3.1. Определение содержания ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8**

Содержание ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 определяли с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа фирмы Вектор-Бест (Россия). Детекцию проб осуществляли на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 2100 (США) при длинах волн 450 нм и 630 нм.

Ход определения предполагал следующие этапы:

1. Во все лунки добавляли 100 мкл раствора для разведения образцов.
2. В первые 12 лунок вносили по 100 мкл в дублях калибровочные растворы (0; 5; 20; 40; 100; 250 пг/мл), в следующие две лунки – по 100 мкл контрольного раствора, в остальные – по 100 мкл исследуемых образцов (плазма и перикардиальная жидкость).
3. Стрипы закрывали липкой пленкой и оставляли инкубироваться в шейкере при 37 °С и 700 об/мин на 2 часа.

4. Осуществляли промывку лунок раствором №1 - по 300 мкл 5 раз.
5. Во все лунки приливали по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №1. Стрипы закрывали пленкой и оставляли инкубироваться в шейкере при +37 °С и 700 об/мин на 1 час.
6. Осуществляли промывку лунок раствором №1 - по 300 мкл 5 раз.
7. Во все лунки приливали по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №2. Стрипы закрывали пленкой и оставляли инкубироваться в шейкере при 37 °С и 700 об/мин на 30 мин.
8. Осуществляли промывку лунок раствором №1 - по 300 мкл 5 раз.
9. Во все лунки добавляли по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина. Планшет оставляли в защищенном от света месте на 20 мин при комнатной температуре.
10. Во все лунки вносили по 100 мкл стоп-реагента.
11. Измеряли оптическую плотность на иммуноферментном анализаторе в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 630 нм. Определяли концентрацию цитокинов в плазме и перикардиальной жидкости по калибровочному графику.
12. Концентрацию цитокинов выражали в пкг/мл.

### **2.3.2 Определение содержания асимметричного диметиларгинина (ADMA)**

Концентрацию ADMA определяли с помощью коммерческого набора для иммуноферментного анализа фирмы Immundiagnostik AG (Германия). Детекцию проб осуществляли на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 2100 (США) при длинах волн 450 нм и 630 нм.

Ход определения предполагал следующие этапы:

1. В пробирки типа эпендорф добавляли по 200 мкл калибровочных растворов, по 200 мкл контрольных растворов (калибровочные и контрольные пробы готовили в дублях) и по 50 мкл образцов (плазмы или перикардиальной жидкости).

2. В эппендорфы с плазмой и перикардиальной жидкостью вносили по 150 мкл реакционного буфера.
3. Во все пробирки приливали по 50 мкл дериватизирующего реактива и оставляли инкубироваться в шейкере (220 об/мин) при комнатной температуре на 45 мин.
4. Во все эппендорфы вносили 250 мкл буфера для разведения и оставляли инкубироваться в шейкере (220 об/мин) при комнатной температуре на 45 мин.
5. Осуществляли промывку лунок промывочным раствором – 5 раз по 250 мкл.
6. В первые 12 лунок вносили по 100 мкл (дериватизированные растворы из эппендорфов) в дублях калибровочные растворы (0; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2 мкМ), в следующие две лунки – по 100 мкл контрольного раствора, в остальные – по 100 мкл исследуемых образцов (плазма и перикардиальная жидкость).
7. Во все лунки добавляли по 100 мкл рабочего раствора антител. Планшет закрывали липкой пленкой и инкубировали 24 часа в холодильной камере при +4 °С.
8. Осуществляли промывку лунок промывочным раствором – 5 раз по 250 мкл.
9. Во все лунки добавляли по 200 мкл рабочего раствора конъюгата пероксидазы. Планшет закрывали липкой пленкой и оставляли инкубироваться в шейкере (220 об/мин) при комнатной температуре на 1 час.
10. Осуществляли промывку лунок промывочным раствором – 5 раз по 250 мкл.
11. Во все лунки вносили 200 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина. Планшет оставляли в защищенном от света месте на 20 мин при комнатной температуре.
13. Во все лунки вносили по 100 мкл стоп-реагента.



14. Измеряли оптическую плотность на иммуноферментном анализаторе в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 630 нм. Определяли концентрацию ADMA в плазме и перикардиальной жидкости по калибровочному графику.

15. Концентрацию ADMA выражали в мкмоль/л.

### 2.3.3 Определение содержания пероксиредоксина-1

Концентрацию пероксиредоксина-1 (Prx-1) определяли с помощью коммерческого набора для иммуноферментного анализа фирмы AbFrontier (Республика Корея). Детекцию проб осуществляли на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 2100 (США) при длинах волн 450 нм и 630 нм.

Ход определения предполагал следующие этапы:

1. В каждую лунку добавляли 300 мкл инкубационного раствора и оставляли планшет на 5 мин при комнатной температуре.
2. Лунки промывали дважды промывочным буфером (по 300 мкл).
3. В первые 16 лунок вносили по 100 мкл в дублях калибровочные растворы (0; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 32 нг/мл), в следующие две лунки – по 100 мкл контрольного раствора, в остальные – по 100 мкл исследуемых образцов (плазма и перикардиальная жидкость), разведенных в 20 раз.
4. Стрипы закрывали липкой пленкой и оставляли на 2 часа при комнатной температуре.
5. Лунки промывали трижды промывочным буфером (по 300 мкл).
6. Во все лунки вносили по 100 мкл рабочего раствора вторичных антител.
7. Стрипы закрывали липкой пленкой и оставляли на 1 час при комнатной температуре.
8. Лунки промывали трижды промывочным буфером (по 300 мкл).
9. Во все лунки добавляли 100 мкл рабочего раствора авидин-пероксидазы хрена.

10. Стрипы закрывали липкой пленкой и оставляли на 30 мин при комнатной температуре.
11. Лунки промывали трижды промывочным буфером (по 300 мкл).
16. Во все лунки добавляли по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензида. Планшет оставляли в защищенном от света месте на 20 мин при комнатной температуре.
17. Во все лунки вносили по 100 мкл стоп-реагента.
18. Измеряли оптическую плотность на иммуноферментном анализаторе в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 630 нм. Определяли концентрацию Prx-1 в плазме и перикардальной жидкости по калибровочному графику.
19. Концентрацию Prx-1 выражали в нг/мл.

## 2.5. Статистическая обработка результатов

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием пакета программ STATISTICA10.0 и SPSS Statistics 17.0. Нормальность распределения в исследуемых выборках оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Для оценки различий между сравниваемыми группами, в случае несоответствия типа распределения выборок нормальному, использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ , при  $0,05 < p < 0,1$  рассматривали тенденцию к изменениям. При  $p > 0,1$  различия считали недостоверными. Результаты представляли в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом (25-75-й процентиль). Для определения возможных корреляционных связей использовали непараметрический ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Силу корреляционной связи оценивали как сильную при  $|R| \geq 0,75$ , как умеренную – при  $0,25 < |R| < 0,75$ , как слабую – при  $|R| \leq 0,25$  (при уровне достоверной значимости  $p < 0,05$ ).

### Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1. Свободнорадикальное окисление в крови и перикардиальной жидкости у больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование

Установлено повышение уровня продуктов ПОЛ в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ (табл. 3).

Таблица 3

#### Содержание продуктов ПОЛ в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки   | ДК, нмоль/мг ОЛ                        | МДА, нмоль/мг белка         | ШО, отн. ед. фл./мг ОЛ           |
|---|--|-----------------------------|----------------------------------|
| Контрольная группа, Ме (25-75-й перцентиль)                                 | 12,87 (10,78-17,71)                    | 4,45 (4-4,95)               | 0,53 (0,39-0,6)                  |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й перцентиль), Δ% <sup>к</sup>                 |  |                             |                                  |
| В момент операции   | 93,1 (63,66-93,94)<br>492*             | 8,52 (7,23-9,78)<br>89*     | 0,74 (0,54-1,09)<br>57•          |
| 1-е сутки   | 47,01 (38,52-54,47)<br>238*            | 7,88 (6,85-9,12)<br>79*     | 0,73 (0,69-1,06)<br>63*          |
| 3-е сутки   | 42,17 (24,98-55,95)<br>209*            | 10,44 (8,85-11,92)<br>134*  | 1,32 (0,98-1,7)<br>164*          |
| 5-е сутки   | 101,01 (60,35-120,61)<br>582*          | 10,15 (9,48-11,38)<br>130*  | 0,96 (0,67-1,16)<br>89*          |
| 7-е сутки   | 61,2 (45,75-88,45)<br>378*             | 10,27 (9,53-11,57)<br>139*  | 1,08 (1,03-1,28)<br>124*         |
| 10-е сутки  | 122,87 (51,17-144,69)<br>646*          | 9,97 (9,13-11,1)<br>126*    | 0,68 (0,61-0,96)<br>48•          |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й перцентиль), Δ% <sup>к</sup> , Δ% <sup>1</sup> |  |                             |                                  |
| В момент операции   | 58,97 (30,35-62,53)<br>328*            | 8,39 (8,18-9,1)<br>90*      | 3,14 (1,1-4,82)<br>492•<br>278•  |
| 1-е сутки   | 39,14 (26,38-48,61)<br>176*            | 7,57 (7,44-8,43)<br>73*     | 3,1 (0,79-6,83)<br>626*<br>345•  |
| 3-е сутки   | 185,92 (107,03-210,2)<br>1248*<br>337* | 10,55 (10,33-10,64)<br>136* | 3,12 (2,41-4,41)<br>555*<br>148* |
| 5-е сутки   | 86,42 (49,62-127,06)<br>536*           | 10,81 (9,48-12,83)<br>145*  | 3,38 (1,53-4,39)<br>513*<br>224• |

| Группы, сутки   | ДК, нмоль/мг ОЛ               | МДА, нмоль/мг белка        | ШО, отн. ед. фл./мг ОЛ          |
|---|-------------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й перцентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^1$ |                               |                            |                                 |
| 7-е сутки   | 111,71 (48,49-123,51)<br>710* | 10,11 (9,69-12,47)<br>139* | 3,3 (2,28-5,41)<br>625*<br>224• |
| 10-е сутки  | 81,56 (57,75-89,02)<br>492*   | 10,26 (9,27-11,34)<br>132* | 3,21 (1,05-4,8)<br>498•<br>303• |

Примечание к таблицам 3-15:  $\Delta\%^k$  – процент изменений относительно контрольной группы;  $\Delta\%^1$  - процент изменений относительно группы I; \* -  $p < 0,05$ ; • -  $0,05 < p < 0,1$ .

В плазме крови больных без ПКТС содержание ДК в течение всего периода наблюдения повышается на 209-646% по сравнению с донорами. Максимальных значений концентрация диеновых конъюгатов в 1-й группе пациентов достигает на 10-е сутки послеоперационного периода (рис. 5). Уровень ДК в плазме крови больных с синдромом по сравнению с донорами повышается на 176-1248%. Максимальных значений концентрация диеновых конъюгатов во 2-й группе достигает на 3-и послеоперационные сутки. Уровень ДК во 2-й группе выше на 337% на 3-и послеоперационные сутки, чем в 1-й группе.

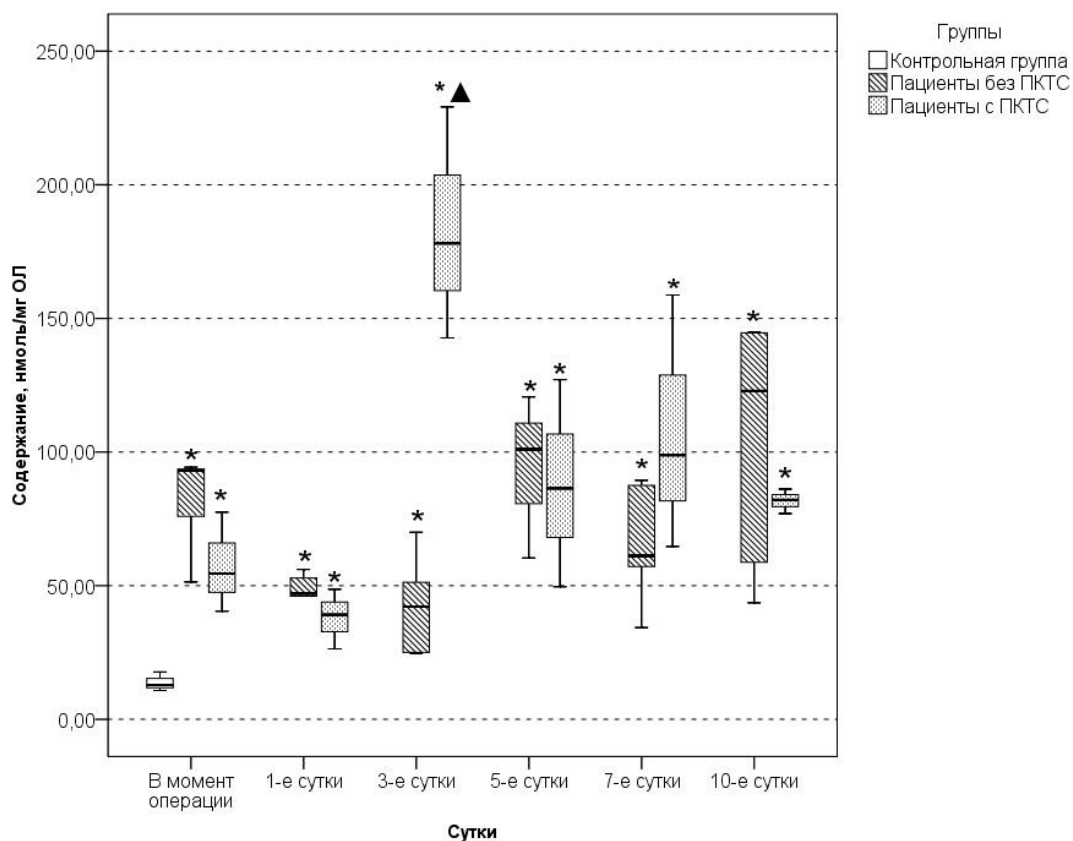


Рис. 5. Содержание ДК в плазме больных ИБС, перенесших АКШ.

\* - отмечены статистически достоверные отличия по сравнению с донорами при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Аортокоронарное шунтирование неизбежно сопровождается контактом крови с экстракорпоральным контуром, запуском механизма ишемии/реперфузии, что обуславливает повышение концентрации гидропероксида и продуктов ПОЛ, таких как МДА, диеновые конъюгаты и шиффовы основания (Toivonen H.J., Ahotupa M., 1994). Авторами показано увеличение уровня диеновых конъюгатов на протяжении периода экстракорпоральной циркуляции (Toivonen, Ahotupa, 1994). В исследовании Arak-Lukmann и сотрудников установлено, что содержание ДК в плазме крови пациентов, перенесших прямую реваскуляризацию миокарда, превышает контрольные значения спустя 2-4 недели с момента операции (Arak-Lukmann A. et al., 2002). Реброва и сотрудники связывают высокий уровень ДК в плазме крови паци-

ентов, перенесших АКШ, с риском развития послеоперационных осложнений, в частности, фибрилляции предсердий (Реброва Т.Ю. и др., 2012).

Уровень МДА возрастал в плазме крови обеих групп больных (табл. 3; рис. 6). Содержание МДА повышалось на 79-139% в плазме крови больных без ПКТС в течение всего периода наблюдения. Концентрация малонового диальдегида в плазме крови больных с синдромом возрастала на 73-145% по сравнению с донорами.

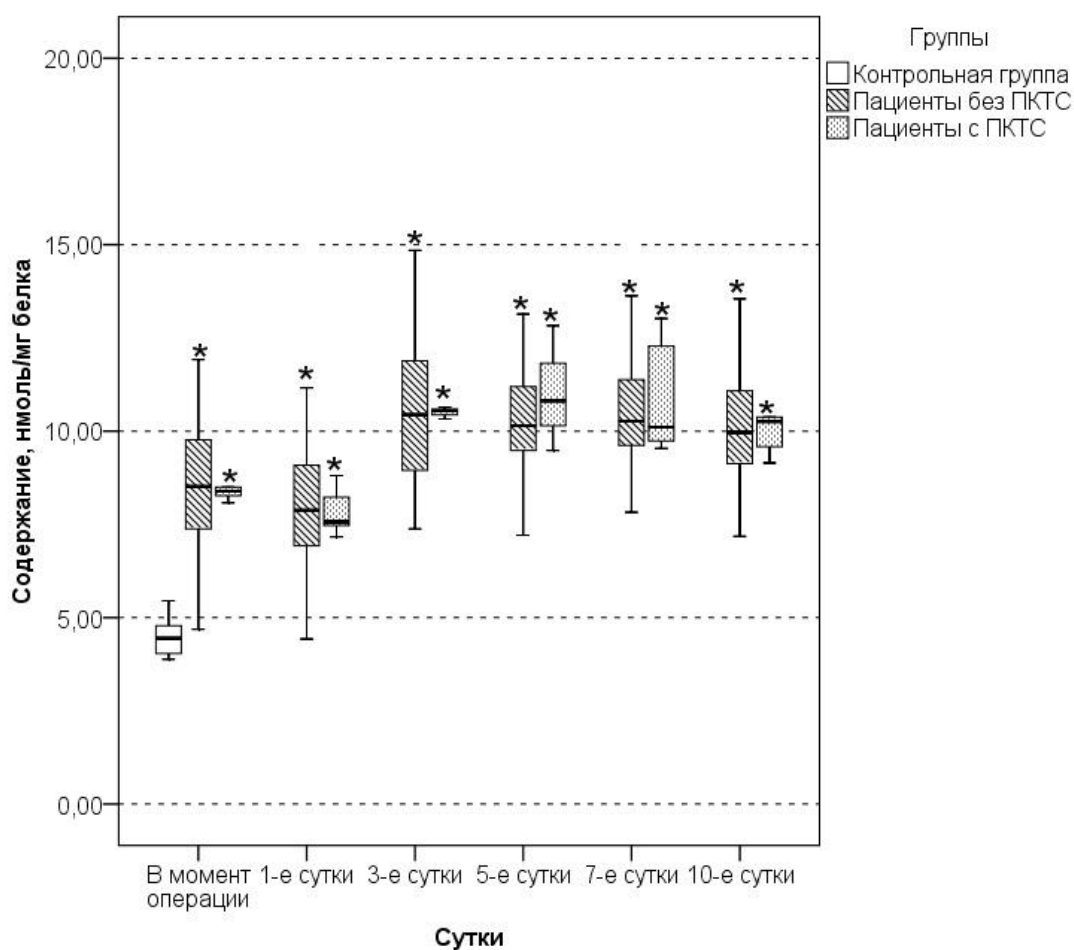


Рис. 6. Содержание МДА в плазме больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Малоновый диальдегид является наиболее распространенным вторичным продуктом ПОЛ и служит информативным биомаркером окислительного стресса (Sahoo S. et al., 2015). Известно, что АФК в избыточном количест-

ве способны усиливать развитие системного воспалительного ответа, осуществляя положительную регуляцию провоспалительных цитокинов (Closa D., Folch-Puy E., 2004). Кроме того, концентрация полиненасыщенных жирных кислот (субстратов ПОЛ) в плазме и эритроцитах выступает в качестве прогностического маркера развития системного воспалительного ответа. Поэтому содержание МДА также можно рассматривать как показатель, ассоциированный с системным воспалительным ответом (СВО) (Šermák T. et al., 2016). Результаты настоящего исследования подтверждаются данными литературы. В исследовании М.В. Богданова и сотрудников уровень вторичных продуктов ПОЛ в плазме крови пациентов повышался в момент операции (Богданов М.В. и др., 2013). В работе (Parvizi R. et al., 2006) установлено повышение содержания МДА в плазме крови пациентов, перенесших АКШ, в течение 5 суток послеоперационного периода. Кроме того, высокий послеоперационный уровень данного показателя, как правило, сопряжен с такими осложнениями, как фибрилляция предсердий (Rodrigo R. et al., 2013).

В момент операции установлено повышение уровня МДА на 38% в перикардиальной жидкости пациентов с ПКТС по сравнению с контрольной группой (табл. 4; рис. 7). Содержание МДА во 2-й группе пациентов выше на 61%, чем в 1-й. Обнаружена прямая корреляционная зависимость между значениями показателя в перикардиальной жидкости и плазме крови ( $R=0,91$ ,  $p<0,05$ ).

Таблица 4.

Содержание МДА в эритроцитах и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки  | МДА, эритроциты (нмоль/мг Hb) | МДА, перикардиальная жидкость (нмоль/мг белка) |
|--|-------------------------------|--|
| Контрольная группа, Me (25-75-й процентиль)              | 1,13 (0,9-1,21)               | 4,45 (4-4,95)                                  |
| Пациенты без ПКТС, Me (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ |                               |  |
| В момент операции  | 0,95 (0,73-1,15)              | 4,06 (2,94-4,71)                               |
| 1-е сутки  | 0,95 (0,73-1,22)              |  |
| 3-е сутки  | 1,21 (1,15-1,35)<br>16*       |  |
|  |                               |  |

| Группы, сутки   | МДА, эритроциты (нмоль/мг Нв) | МДА, перикардиальная жидкость (нмоль/мг белка) |
|---|-------------------------------|--|
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$              |                               |  |
| 5-е сутки   | 1,23 (1,06-1,39)<br>17*       |  |
| 7-е сутки   | 1,24 (1,02-1,46)<br>17*       |  |
| 10-е сутки  | 1,22 (1,15-1,41)<br>23*       |  |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^1$ |                               |  |
| В момент операции   | 1,18 (1,12-1,81)              | 6,63 (5,43-6,64)<br>38*<br>61*                 |
| 1-е сутки   | 0,96 (0,95-0,99)              |  |
| 3-е сутки   | 1,36 (1,05-1,61)              |  |
| 5-е сутки   | 1,34 (1,12-1,52)<br>24*       |  |
| 7-е сутки   | 1,35 (1,17-1,47)<br>25*       |  |
| 10-е сутки  | 1,34 (1,25-1,5)<br>28*        |  |

Примечание: В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения концентрации МДА в плазме контрольной группы.

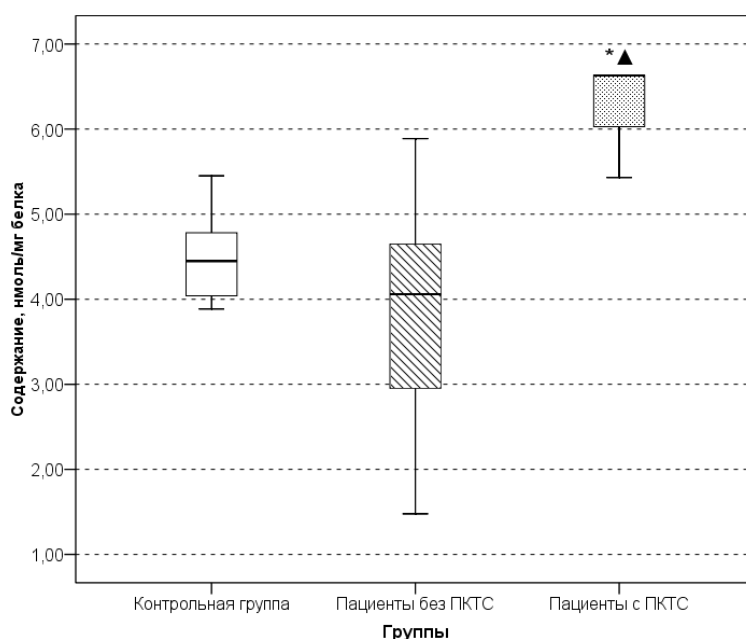


Рис. 7. Содержание МДА в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения уровня МДА в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные отличия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.



Наиболее чувствителен к патолофизиологическим процессам пул малонового диальдегида в перикардиальной жидкости. Известно, что уровень МДА в перикардиальной жидкости имеет прямую корреляционную зависимость с содержанием данного вторичного продукта ПОЛ в плазме, и его повышение свидетельствует о дисфункции желудочка (Vukasovic J.L. et al., 2005). В исследовании М. Mangaraj и сотрудников установлено, что содержание МДА в плевральном экссудате значительно выше, чем в транссудате (Mangaraj M. et al., 2008).

Уровень МДА в эритроцитах обеих групп больных увеличивался (табл. 4; рис. 8) после АКШ. Содержание МДА повышалось на 16-23% в эритроцитах пациентов без ПКТС на 3-10-е послеоперационные сутки по сравнению с донорами. Концентрация малонового диальдегида возрастала на 24-28% также в эритроцитах пациентов с синдромом на 5-10-е послеоперационные сутки по сравнению с контрольной группой.

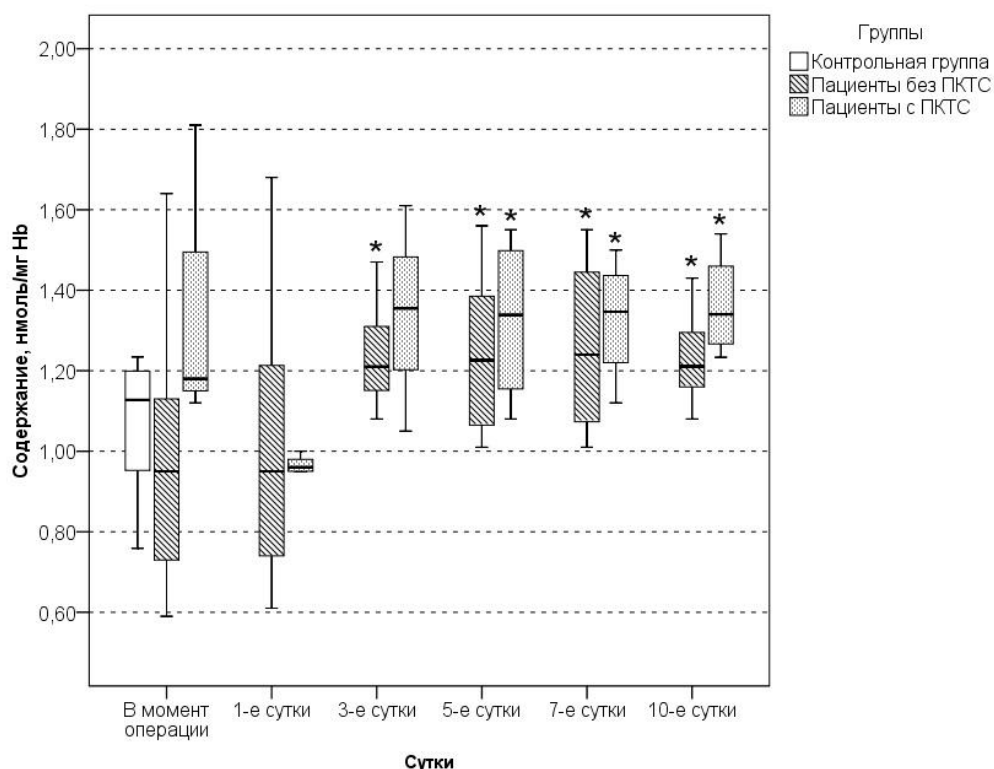


Рис. 8. Содержание МДА в эритроцитах больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Перекисное окисление липидов в постоперационный период способствует патологическим изменениям эритроцитарных мембран. В результате снижается текучесть мембран, что приводит к дисфункции эритроцитов и существенно увеличивает риск постоперационных осложнений. В работе J.J. Ochoa и сотрудников продемонстрировано повышение уровня МДА в мембранах эритроцитов после АКШ (Ochoa J.J. et al., 2003). Позднее исследования в данной области показали, что концентрация малонового диальдегида в эритроцитах может превышать норму через 5 лет после аортокоронарного шунтирования. Также была установлена прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем МДА в эритроцитах пациентов со стенокардией напряжения II-III ФК и агрегацией тромбоцитов (Рузов В.И. и др., 2014).

В настоящем исследовании обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между содержанием МДА в эритроцитах и плазме пациентов без ПКТС ( $R=0,64$ ,  $p<0,05$ ), а также между содержанием МДА в эритроцитах и перикардиальной жидкости ( $R=0,64$ ,  $p<0,05$ ). Для пациентов с синдромом установлена прямая корреляционная зависимость между значениями показателя в эритроцитах и плазме ( $R=0,6$ ,  $p<0,05$ ), в эритроцитах и перикардиальной жидкости ( $R=0,87$ ,  $p<0,05$ ). Результаты корреляционного анализа свидетельствуют об однонаправленной динамике перекисного окисления липидов в исследуемых субстратах.

Наблюдается повышение уровня конечных продуктов ПОЛ в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ (табл. 3; рис. 9). Содержание ШО увеличивалось на 48-164% в плазме крови пациентов без ПКТС по сравнению с донорами в течение всего периода наблюдения. Концентрация ШО в плазме крови больных с синдромом возрастала на 492-626%. Во 2-й группе пациентов уровень шиффовых оснований выше на 148-303%, чем в 1-й группе в 1-10-е послеоперационные сутки.

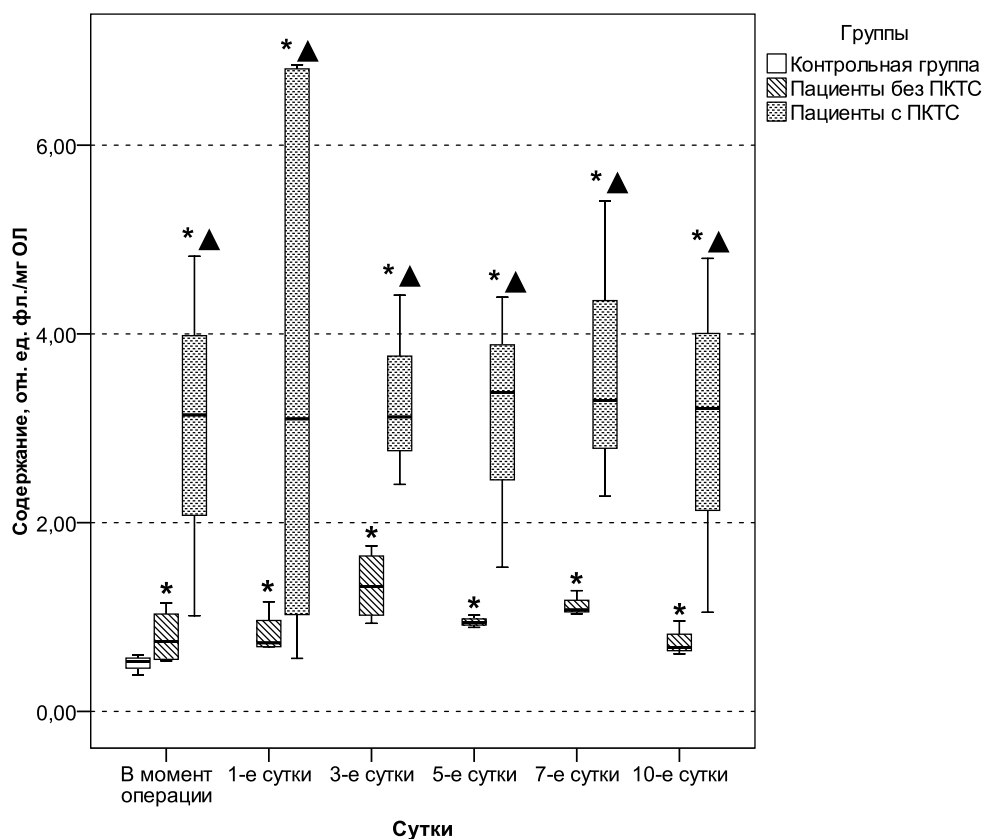


Рис. 9. Содержание ШО в плазме больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные отличия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Шиффовы основания, будучи конечными продуктами ПОЛ, играют ключевую роль в кардиоваскулярных патологиях (Зарубина Е.Г. и др., 2013). Они ингибируют простагландин, препятствующий агрегации тромбоцитов и тромбообразованию, нарушают микроциркуляцию, инициируют атероматозный процесс (Абакумова Ю., 2000). В исследовании Т. Wu и сотрудников показано, что уровень ШО может служить предиктором развития ишемической болезни сердца (Wu T. et al., 2007).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об интенсификации свободнорадикального окисления и накопления продуктов ПОЛ в эритроцитах, плазме и перикардиальной жидкости пациентов, перенесших

АКШ. Стоит отметить, что для пациентов с ПКТС характерна более высокая интенсивность перекисного окисления липидов в отличие от пациентов без диагностированного синдрома, у которых концентрация первичных, вторичных и конечных продуктов значительно ниже. Обнаруженные корреляционные взаимосвязи между перикардиальной жидкостью и кровью отражают манифестный характер свободнорадикального окисления в постоперационный период.

### 3.2 Активность антиоксидантных ферментов и содержание низкомолекулярных антиоксидантов в эритроцитах, плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование

Активность СОД в эритроцитах и плазме крови обеих групп больных после АКШ существенно возростала (табл. 5).

Таблица 5

Активность СОД в эритроцитах и СУА в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки   | СОД, эритроциты<br>(у.е./мг Hb) | СОД, плазма<br>(у.е./мг белка)   | СОД, перикардиальная<br>жидкость<br>(у.е./мг белка) |
|---|---------------------------------|----------------------------------|---|
| Контрольная группа, Ме<br>(25-75-й процентиль)                        | 0,43 (0,35-0,66)                | 1,11 (1,04-1,28)                 | 1,11 (1,04-1,28)                                    |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$              |                                 |                                  |   |
| В момент операции   | 0,95 (0,74-1,12)<br>99*         | 1,8 (1,22-3,03)<br>84*           | 4,21 (3,16-5,43)<br>268*                            |
| 1-е сутки   | 1,11 (0,7-2,23)<br>177*         | 2,61 (1,09-4,21)<br>126*         |   |
| 3-е сутки   | 1,45 (0,73-3,88)<br>328*        | 2,3 (1,45-4,54)<br>157*          |   |
| 5-е сутки   | 1,06 (0,81-1,31)<br>131*        | 2,44 (1,75-3,42)<br>121*         |   |
| 7-е сутки   | 1,05 (0,6-1,68)<br>139*         | 2,26 (1,5-3,41)<br>114*          |   |
| 10-е сутки  | 0,62 (0,51-2,01)<br>117*        | 0,72 (0,43-1,67)                 |   |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                                 |                                  |   |
| В момент операции   | 1,03 (0,81-1,92)<br>164*        | 2,52 (2,09-3,47)<br>132*         | 4,86 (3,56-5,32)<br>294*                            |
| 1-е сутки   | 0,83 (0,72-1,16)<br>85*         | 6,52 (3,49-7,26)<br>373*<br>109* |   |

| Группы, сутки   | СОД, эритроциты<br>(у.е./мг Hb) | СОД, плазма<br>(у.е./мг белка)   | СОД, перикардальная<br>жидкость<br>(у.е./мг белка) |
|---|---------------------------------|----------------------------------|--|
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                                 |                                  |  |
| 3-е сутки   | 1,4 (1,07-3,58)<br>336*         | 8,03 (2,64-8,62)<br>428*<br>105* |  |
| 5-е сутки   | 1,65 (0,85-3,15)<br>294*        | 4,95 (1,62-8,22)<br>325*         |  |
| 7-е сутки   | 1,26 (1,29-3,01)<br>302*        | 7,86 (2,19-9,24)<br>428*<br>147* |  |
| 10-е сутки  | 1,59 (0,42-3,88)                | 7,38 (1,77-9,76)<br>424*<br>549* |  |

**Примечание:** В качестве контроля для перикардальной жидкости использовали значения СУА в плазме контрольной группы.

Активность СОД повышается на 99-328% в эритроцитах пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой. Активность фермента также повышалась в эритроцитах пациентов с синдромом в течение всего периода наблюдения, превосходя уровень доноров на 85-302%. Для обеих групп максимальный прирост показателя приходится на 3-и послеоперационные сутки (рис. 10). Установлена прямая корреляционная зависимость между активностью СОД в эритроцитах и СУА в плазме пациентов без ПКТС ( $R=0,84$ ,  $p<0,05$ ), а также между активностью СОД в эритроцитах и СУА в перикардальной жидкости больных 1-й группы ( $R=0,5$ ,  $p<0,05$ ). Для пациентов с синдромом определена корреляционная зависимость между активностью СОД в эритроцитах и СУА в плазме ( $R=0,5$ ,  $p<0,05$ ).

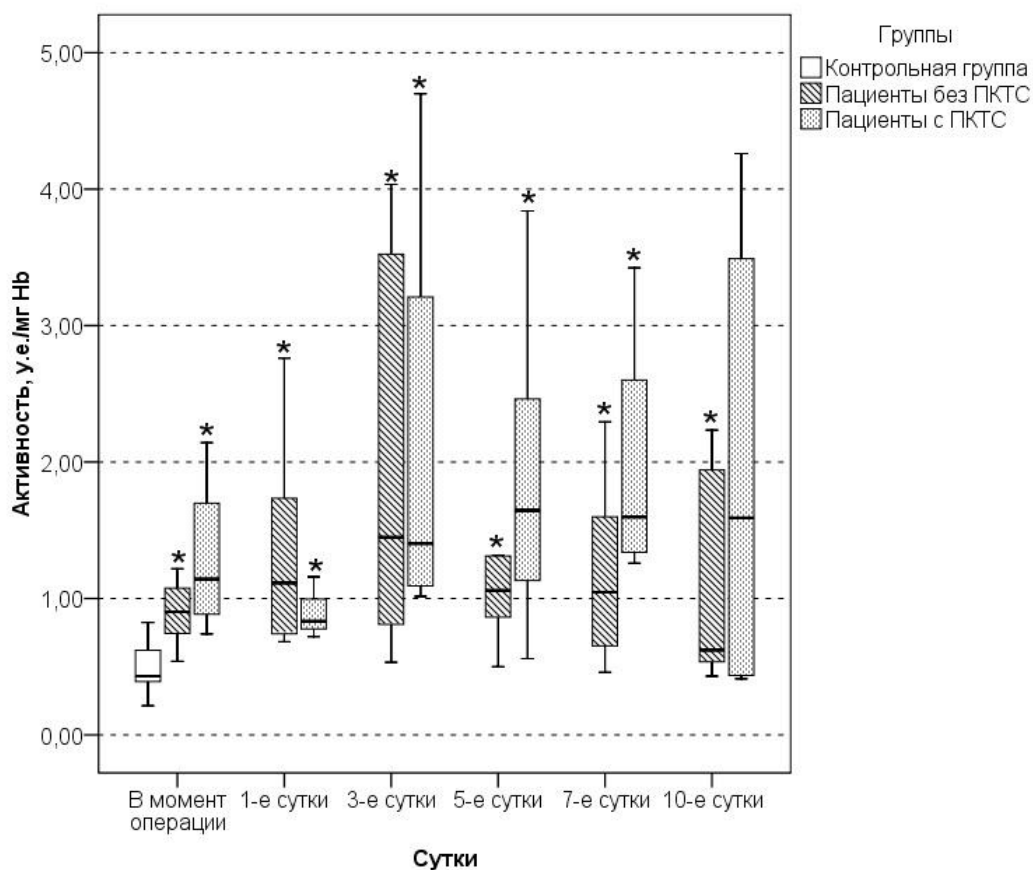


Рис. 10. Активность СОД в эритроцитах больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные отличия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем.

На интенсификацию свободнорадикального окисления прежде всего реагирует антиоксидантная система. Существует три основных линии защиты от АФК: первая представлена супероксиддисмутазой, вторая - каталазой и глутатионпероксидазой, третья – глутатионпероксидазой и глутатион-S-трансферазой (Кулинский В.И., 1999). СОД нейтрализует супероксид-анион радикал, который в избыточном количестве обуславливает различные повреждения клеток. Однако продуктом такой реакции является перекись водорода, которая может выступать инициатором ПОЛ (Fukai T., Ushio-Fukai M., 2011). В эритроцитах локализуется первая изоформа супероксиддисмутазы СОД1 опосредует релаксацию сосудов, предотвращая окисление  $\text{NO}^{\bullet}$  и его транс-

формацию в пероксинитрит. Кроме того, СОД1 препятствует сосудосуживающему эффекту различных медиаторов (Didion S.P. et al., 2002). Первая изоформа СОД имеет важное значение в патогенезе атеросклероза. В ряде исследований показано, что повышенная экспрессия СОД1 обеспечивает защиту от атеросклероза (Liu J.Q. et al., 2004; Tribble D.L. et al., 1999). В других работах указана патологическая роль супероксиддисмутазы (Elroy-Stein O., 1986; Tribble D.L. et al., 1997). Например, у трансгенных мышей со сверхэкспрессией СОД1 наблюдалось проатерогенное состояние, которое объяснялось образованием высокореактивного гидроксильного радикала из гидроперекиси водорода, накапливающейся в результате высокой активности фермента (Tribble D.L. et al., 1997). С другой стороны, в эксперименте с нокаутными мышами по гену аполипопротеина Е установлено снижение уровня F2-изопростана и подавление развития атеросклероза при сверхэкспрессии СОД1 и каталазы (Yang H. et al., 2004). Исследования активности СОД в эритроцитах пациентов, перенесших АКШ, также отличаются противоречивыми результатами. Так, в работе С.Р. Luyten и сотрудников было показано повышение активности фермента в течение кардиохирургической процедуры, затем данный показатель возвращался в норму уже спустя сутки после операции (Luyten C.R. et al., 2005). Напротив, К. Danova с сотрудниками продемонстрировала повышение активности СОД в эритроцитах пациентов, перенесших АКШ, в течение семи послеоперационных суток. Причем, максимальных значений активность фермента достигала на 5-е сутки послеоперационного периода (Danova K. et al., 2005). Кроме того, в исследовании О.А. Rubanenko и сотрудников установлено, что высокая активность СОД в эритроцитах пациентов, перенесших АКШ, увеличивает риск развития таких послеоперационных осложнений, как фибрилляция предсердий (Rubanenko O.A. et al., 2016).

Установлено повышение СУА в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ (табл. 5; рис. 11). СУА возрастала на 84-157% в плазме крови пациентов без ПКТС в течение семи послеоперационных суток. Супероксидустраняющая активность также повышалась на 132-428% в плазме крови па-

циентов с синдромом в течение всего периода наблюдения. Максимальный прирост показателя в обеих группах наблюдался на 3-и послеоперационные сутки. В 1-е, 3-и, 7-е и 10-е послеоперационные сутки СУА была выше во 2-й группе на 109%, 105%, 147% и 549%, соответственно, чем в 1-й группе. Обнаружена прямая корреляционная связь между активностью СУА в плазме и СУА в перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС ( $R=0,78$ ,  $p<0,05$ ). Для пациентов с синдромом определена корреляционная зависимость между активностью СУА в плазме и СУА в перикардиальной жидкости ( $R=0,84$ ,  $p<0,05$ ).

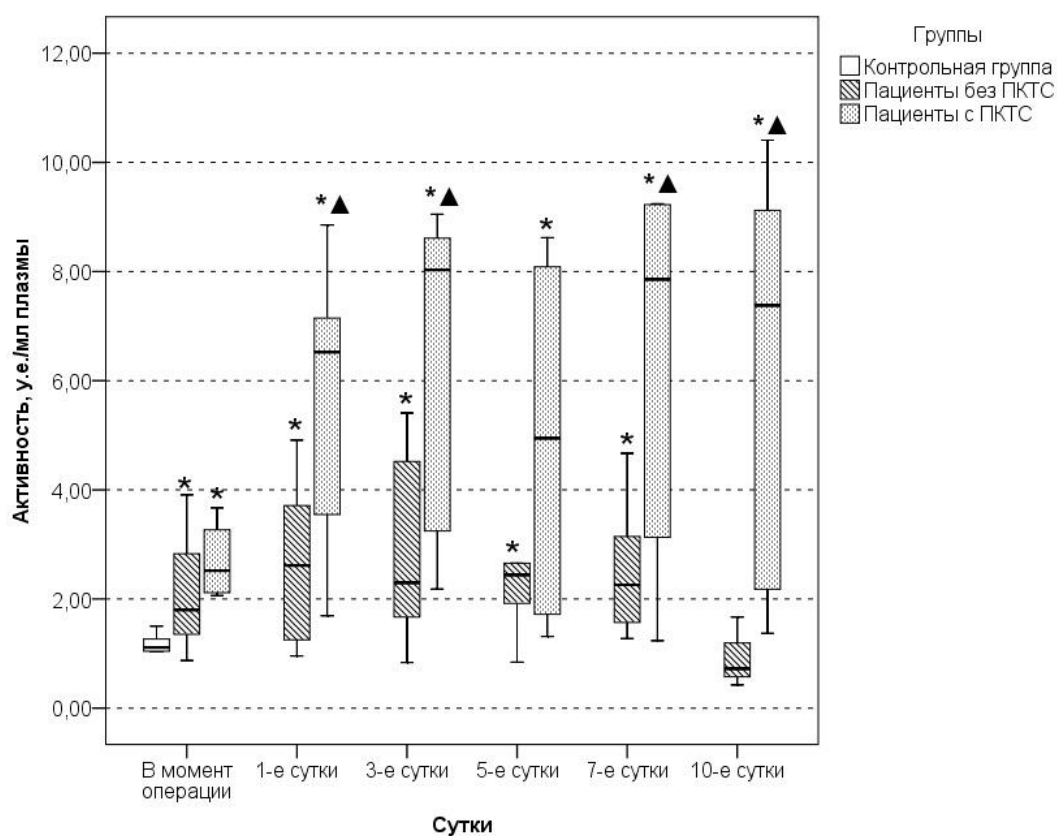


Рис. 11. СУА в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p<0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

В момент операции наблюдается существенное повышение СУА в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, по сравнению с



контрольной группой (табл. 5; рис. 12). Так, по сравнению с донорами СУА в 1-й группе пациентов увеличивалась на 268%, во 2-й – на 294%.

В плазме крови и перикардиальной жидкости локализована преимущественно экстрацеллюлярная изоформа супероксиддисмутазы, (СОД3). Благодаря своей локализации СОД3 способствует высвобождению  $\text{NO}\cdot$  из эндотелия и регулирует его биодоступность (Jung O. et al., 2003). В ранних исследованиях подтверждена прямая корреляционная взаимосвязь между активностью экстрацеллюлярной СОД и эндотелий-опосредованной вазодилатацией у пациентов с ИБС (Landmesser U. et al., 2000). Известно, что СОД3 присутствует в сосудистой стенке и синтезируется в очаге атеросклеротических повреждений гладкомышечными клетками и макрофагами (Madamanchi N.R. et al., 2005). При атеросклерозе наблюдается повышение экспрессии фермента в макрофагах. Важно отметить, что экспрессия СОД3 сопряжена с активностью индуцибельной NO-синтазы, фермент интенсивно синтезируется в микроокружении окисленных ЛПВП и  $\text{ONOO}^-$ -модифицированных белков. В связи с этим полагают, что сверхэкспрессия экстрацеллюлярной супероксиддисмутазы в артериальной стенке предотвращает не только негативные эффекты  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , но и образование пероксинитрита (Luoma J.S. et al., 1998). В исследованиях с клеточными культурами СОД3 способствует снижению уровня окисленных ЛПВП в эндотелиальных клетках (Takatsu H. et al., 2001). Wang H.P. и сотрудники сообщили, что низкий уровень СОД3 повышает риск развития инфаркта миокарда (Wang X.L. et al., 1998). С другой стороны, R213G полиморфизм гена СОД3, который обуславливает сверхэкспрессию фермента, увеличивает риск кардиоваскулярных патологий (Juul K. et al., 2004). Результаты исследований, свидетельствующие о супероксидустраивающей активности в плазме после кардиохирургического вмешательства, различаются. Так, в работе (Zhang H. et al., 2014) установлено снижение СУА в плазме после АКШ. В то же время, S. Pantovic с сотрудниками сообщили о повышении СУА в плазме пациентов, перенесших ангиопластическую операцию или стентирование (Pantovic S. et al., 2015).

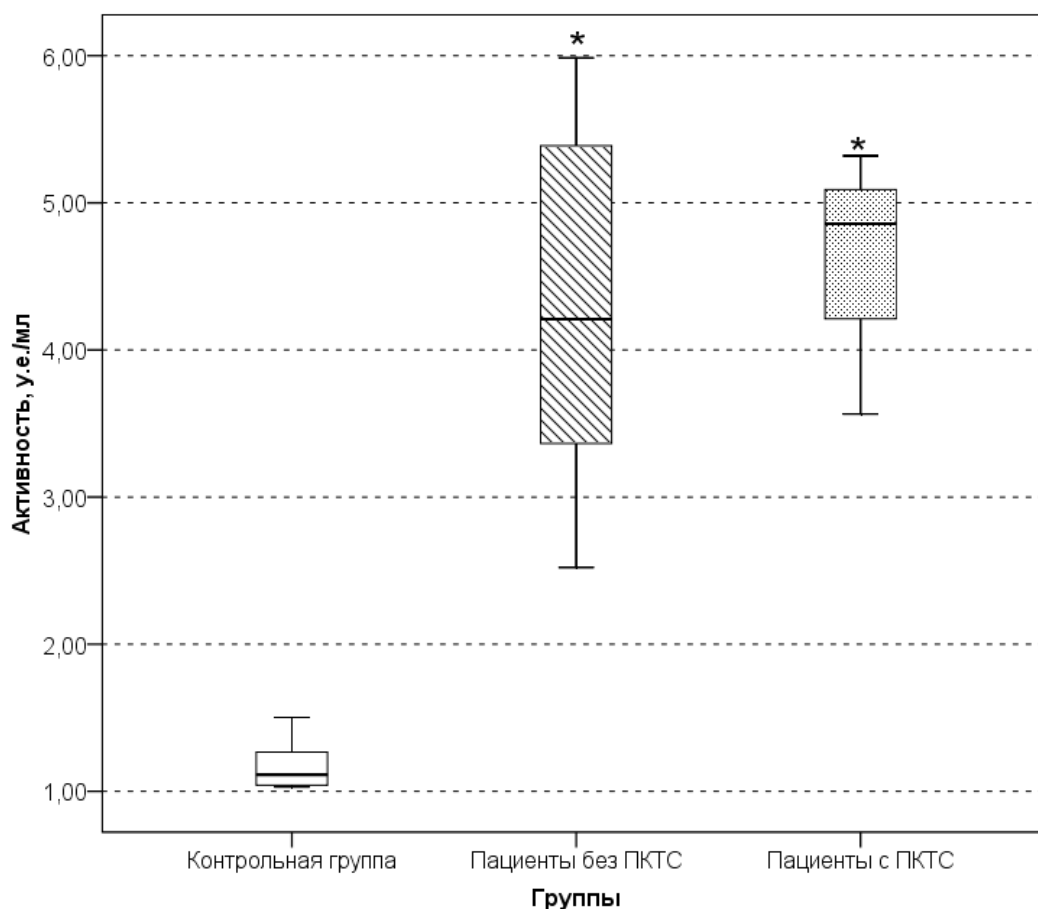


Рис. 12. СУА в перикардиальной жидкости крови больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения СУА в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Принято считать, что перикардиальная жидкость наиболее точно отражает состав интерстициальной ткани миокарда и потому исследования ее биохимических и цитологических показателей могут предоставить больше информации о кардиопатологических процессах по сравнению аналогичными исследованиями крови. Тем не менее, сообщения об антиоксидантном профиле перикардиальной жидкости немногочисленны. Seres L. с сотрудниками сравнили суммарную антиоксидантную активность плазмы и перикардиальной жидкости пациентов, перенесших операцию на сердце (Seres L. et al., 2004). Установлено, что антиоксидантная активность плазмы превышает

данный показатель в перикардиальной жидкости. Обнаружена корреляционная взаимосвязь между антиоксидантной активностью перикардиальной жидкости и полом пациента. Исследователи доказали, что у женщин данный показатель гораздо ниже, чем у мужчин, и поэтому частота послеоперационных осложнений и смертность по причине сердечно-сосудистых патологий выше у женского пола (Seres L. et al., 2004). V. Ramos с сотрудниками исследовали активность СОД в перикардиальной жидкости и образцах миокардиальной ткани умерших в результате кардиопатологий или по иным причинам. В перикардиальной жидкости статистически достоверных отличий между группами (с кардиологическими и некардиологическими причинами смерти) обнаружено не было. Активность СОД была выше в образцах ткани задней стенки левого желудочка и межжелудочковой перегородки умерших в результате кардиопатологий по сравнению с некардиологической группой. Исследователи установили возможность использования данного показателя в качестве маркера гипоксии миокарда (Ramos V. et al., 1997).

Изменения активности каталазы в эритроцитах и скорости утилизации перекиси водорода в плазме крови больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование, отличались разнонаправленной динамикой (табл. 6).

Таблица 6

Активность каталазы в эритроцитах и  $V_{H_2O_2}$  в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки  | Каталаза, эритроциты<br>(нмоль/мг Нб) | $V_{H_2O_2}$ , плазма<br>(нмоль/мл) | $V_{H_2O_2}$ , перикардиальная<br>жидкость<br>(нмоль/мл) |
|--|---------------------------------------|-------------------------------------|--|
| Контрольная группа, Ме<br>(25-75-й процентиль)           | 43,62 (40,73-47,23)                   | 34,33 (31,06-42,72)                 | 34,33 (31,06-42,72)                                      |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ |                                       |                                     |  |
| В момент операции  | 35,79 (29,04-40,34)<br>-22*           | 67,77 (49,01-77,58)<br>74*          | 15,27 (11,47-19,17)<br>-58*                              |
| 1-е сутки  | 37,1 (33,87-42,3)<br>-17*             | 52,68 (48,49-70,57)<br>59*          |  |
| 3-е сутки  | 31,41 (24,67-38,65)<br>-29*           | 64,10 (54,91-72,4)<br>76*           |  |
| 5-е сутки  | 28,41 (25,93-37,98)<br>-30*           | 74,26 (73,13-78,27)<br>103*         |  |
| 7-е сутки  | 25,83 (16,69-36,5)<br>-38*            | 71,75 (54,73-80,88)<br>90*          |  |
| 10-е сутки   | 32,98 (31,51-38,65)<br>-22*           | 59,88 (57,53-81,78)<br>89*          |  |

| Группы, сутки   | Каталаза, эритроциты<br>(нмоль/мг Hb) | $VH_2O_2$ , плазма<br>(нмоль/мл) | $VH_2O_2$ , перикардиальная<br>жидкость<br>(нмоль/мл) |
|---|---------------------------------------|----------------------------------|---|
| Пациенты с ПКТС, Me (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                                       |                                  |   |
| В момент операции   | 35,45 (32,1-38,45)<br>-20*            | 23,57 (19,61-50,6)<br>-51*       | 49,52 (15,19-64)                                      |
| 1-е сутки   | 28,17 (23,21-41,26)<br>-29*           | 59,78 (50,6-66,03)<br>60*        |   |
| 3-е сутки   | 34,12 (24,97-39,36)<br>-26*           | 63,62 (48,29-74,5)<br>70*        |   |
| 5-е сутки   | 32,82 (17,51-36,72)<br>-35*           | 64,37 (61,76-86,26)<br>93*       |   |
| 7-е сутки   | 32,93 (25,62-43,48)<br>-24*           | 65,4 (55,09-77,72)<br>80*        |   |
| 10-е сутки  | 39,55 (38,96-41,15)<br>-9*<br>16*     | 51,39 (38,99-69,91)<br>46*       |   |

Примечание: В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения  $V_{H_2O_2}$  в плазме контрольной группы.

Активность каталазы снижалась в эритроцитах крови пациентов обеих исследованных групп в течение всего периода наблюдения (рис. 13). Активность фермента заметно снижалась в эритроцитах крови больных без ПКТС, что на 17-38% ниже контроля. Показатель уменьшался на 9-35% в эритроцитах крови пациентов с синдромом. Активность каталазы во 2-й группе пациентов в 10-е послеоперационные сутки была на 16% выше, чем в 1-й группе.

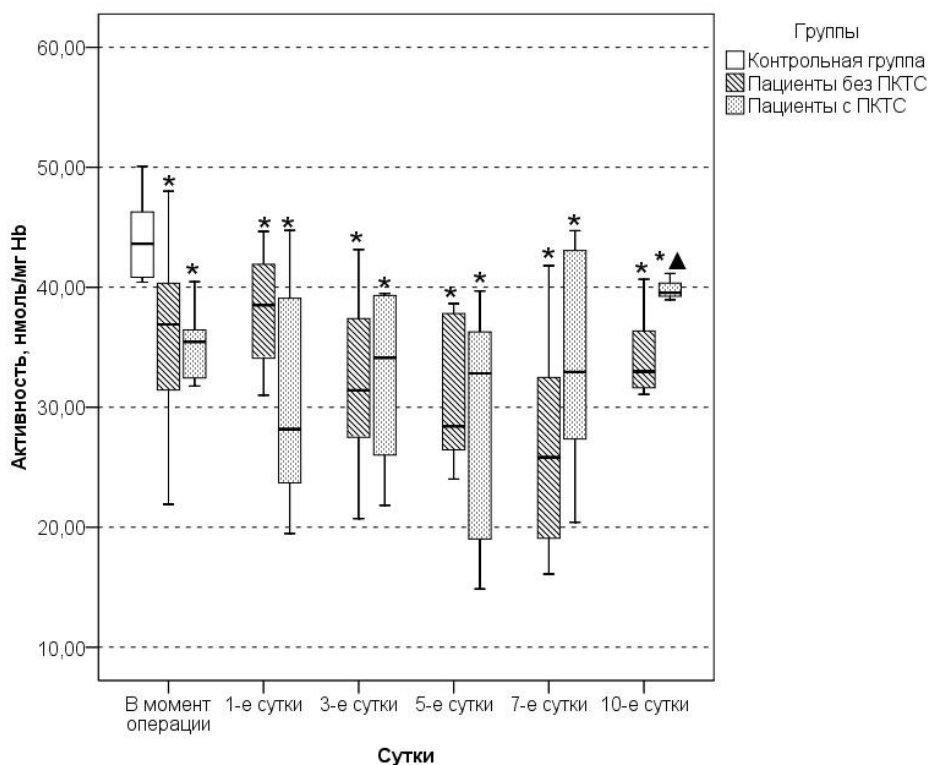


Рис. 13. Активность каталазы в эритроцитах больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Каталаза является наиболее изученным антиоксидантным ферментом, который защищает клетки от повреждающего действия перекиси водорода. Помимо основной функции, каталаза осуществляет 2-электронную пероксидацию короткоцепочечных алифатических спиртов. Каталитическая реакция превалирует, когда содержание  $H_2O_2$  выше, чем  $10^{-4}$  М, при низкой концентрации в присутствии донора водорода преобладает пероксидазная реакция (Kodydková J. et al., 2014). Известно, что  $H_2O_2$  будучи вторичным посредником, способна участвовать в сигнальной трансдукции и активации транскрипционных факторов. Каталаза, как глутатиопероксидазы и пероксиредоксины, участвует в регуляции сигнальной функции перекиси водорода (Preston T. et al., 2001). Изменения активности каталазы в эритроцитах широко изучены при различных сердечно-сосудистых патологиях. В исследовании, посвя-

ценному инфаркту миокарда, активность каталазы в эритроцитах пациентов была ниже по сравнению с донорами. Авторы также отмечают корреляционную связь между активностью фермента и риском развития инфаркта миокарда (Noichri Y. et al., 2013). В более раннем исследовании наблюдалось снижение активности каталазы в эритроцитах крови пациентов с атеросклеротическим повреждением сосудов по сравнению с контрольной группой (Firoozrai M. et al., 2007). В работе V.R. Bhagwat и сотрудников активность фермента была ниже в эритроцитах крови пациентов с острым коронарным синдромом и пациентов со стабильной стенокардией по сравнению с контрольной группой (Bhagwat V.R. et al., 2009). Исследования активности каталазы в эритроцитах крови пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование, имеют противоречивые результаты. В работе M. Jablonska и сотрудников наблюдалось повышение активности каталазы через 18 и 42 часа после операции на 17,51% и 19,72%, соответственно (Jablonska M. et al., 2008). J.J. Ochoa с сотрудниками в своем исследовании продемонстрировали возрастание активности фермента в течение кардиохирургической процедуры, но через 20 часов после завершения операции статистически достоверные отличия по сравнению с контролем отсутствовали (Ochoa J.J. et al., 2003). В то же время T. Ege и сотрудники сообщили снижение активности каталазы после АКШ (Ege T. et al., 2003). В настоящем исследовании в обеих группах больных наблюдалось снижение активности каталазы, что может быть обусловлено избыточным содержанием перекиси водорода вследствие высокой активности эритроцитарной СОД (Kodydková J. et al., 2014). К другим причинам можно отнести высокий уровень стабильных метаболитов оксида азота нитритов/нитратов в плазме крови пациентов обеих групп и накопление интерлейкина-1 $\beta$  в плазме пациентов без ПКТС. Согласно литературным данным оксид азота способен связываться с молекулой каталазы и обратимо ингибировать активность фермента (Brown G.C., 1995; Sigfrid L.A. et al., 2003). В эксперименте с клеточными культурами ИЛ-1 $\beta$  подавлял активность каталазы на 20%, а в сочетании с ФНО- $\alpha$  и интерфероном- $\gamma$  - на 40% (Sigfrid L.A.

et al., 2003). Известно, что ИЛ-6 ингибирует экспрессию каталазы в хондроцитах (Mathy-Hartert M. et al., 2008). В нашей работе уровень ИЛ-6 возрастал в плазме крови обеих групп больных. Запуск механизма ишемии/реперфузии приводит к ослаблению протекторных свойств антиоксидантной системы и снижению активности глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы в сердечной ткани крыс (Takhtfooladi H.A. et al., 2015). В работе О. Çolak и сотрудников активность каталазы в эритроцитах пациентов с нестабильной стенокардией была ниже по сравнению с нормальными значениями фермента (Çolak O. et al., 1996). Поэтому отрицательная динамика показателя в эритроцитах крови пациентов с ПКТС может быть сопряжена с такими патологическими изменениями, как развитие нитрозильного стресса вследствие активации индуцибельной NO-синтазы и запуск системного воспалительного ответа, сопровождающегося сверхпродукцией провоспалительных интерлейкинов. Обнаружена обратная корреляционная взаимосвязь между активностью каталазы в эритроцитах и содержанием NOx в плазме крови пациентов без ПКТС ( $R=-0,8$ ,  $p<0,05$ ), а также между активностью каталазы в эритроцитах и содержанием NOx в плазме крови пациентов с синдромом ( $R=-0,9$ ,  $p<0,05$ ). Установлена обратная корреляционная взаимосвязь между активностью каталазы в эритроцитах и уровнем ИЛ-1 $\beta$  ( $R=-0,6$ ,  $p<0,05$ ) в плазме крови пациентов без ПКТС.

Установлено повышение  $V_{H_2O_2}$  в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ (рис. 14). В течение всего периода наблюдения  $V_{H_2O_2}$  существенно повышалась в плазме пациентов без ИБС, что на 59-103% выше по сравнению с донорами. Исследуемый показатель повышался на 46-93% в плазме крови пациентов с синдромом в 1-10-е послеоперационные сутки. Максимальных значений  $V_{H_2O_2}$  в обеих группах достигала на 5-е сутки.  $V_{H_2O_2}$  в момент операции во 2-й группе на 51% ниже, чем в 1-й группе.

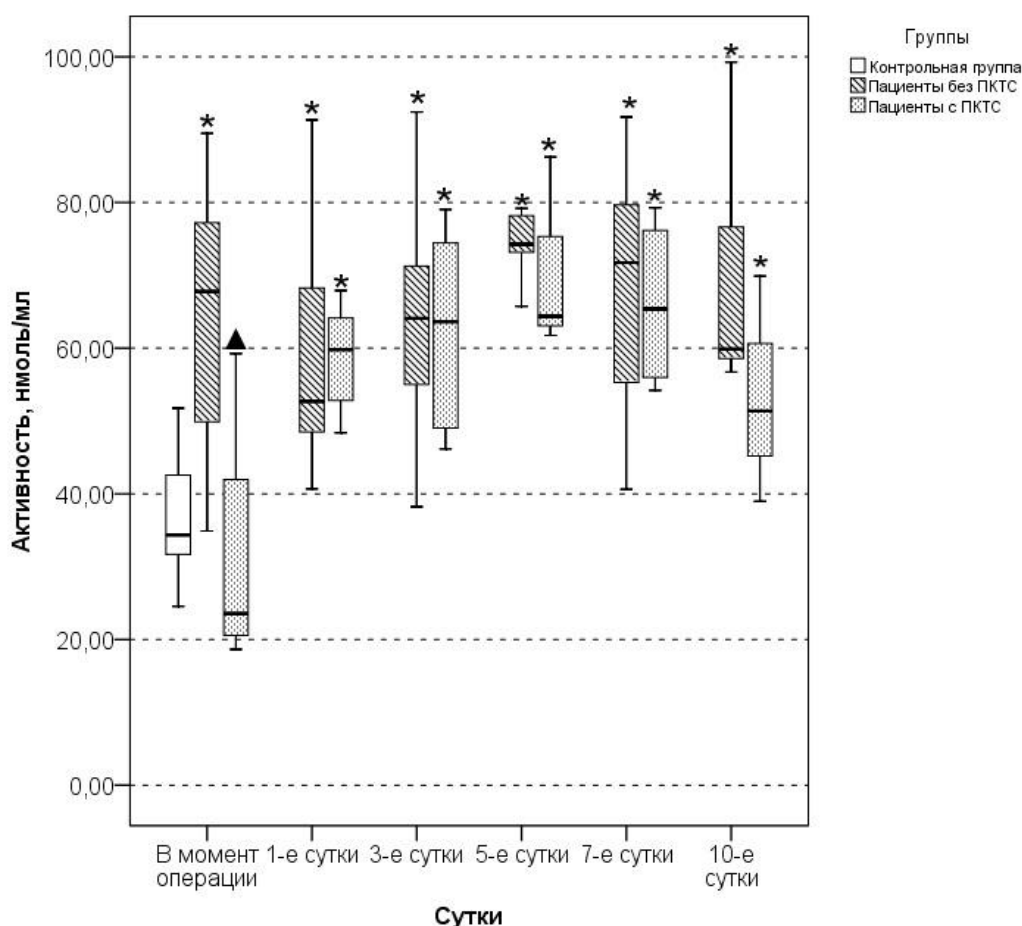


Рис. 14.  $V_{H_2O_2}$  в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Каталаза плазмы крови и эритроцитарная каталаза - две различные формы фермента, отличающиеся электрофоретической подвижностью, оптимумами рН и энергией активации. Каталаза плазмы крови не имеет изоферментов и ее главным источником является эритроцитарный пул при гемолитических болезнях, остром панкреатите и физиологических условиях. Каталаза плазмы является продуктом эритроцитарной формы, и ее созревание происходит в экстрацеллюлярном пространстве (Góth L., 1991). В исследовании A. Uysal и сотрудников скорость утилизации перекиси водорода повышалась в



плазме крови пациентов, перенесших АКШ (Uysal A. et al., 2013). V. Kutay и сотрудники установили повышение данного показателя в плазме крови пациентов с дисфункцией левого желудочка после АКШ (Kutay V. et al., 2006). В настоящем исследовании обнаружена обратная корреляционная зависимость между активностью каталазы в эритроцитах и  $V_{H_2O_2}$  в плазме крови пациентов без ПКТС ( $R=-0,8$ ,  $p<0,05$ ), а также между  $V_{H_2O_2}$  в плазме и перикардиальной жидкости больных 1-й группы ( $R=-0,79$ ,  $p<0,05$ ). Для пациентов с синдромом определена обратная корреляционная взаимосвязь между активностью каталазы в эритроцитах и скоростью утилизации перекиси водорода ( $R=-0,85$ ,  $p<0,05$ ). Исходя из полученных результатов, можно предположить, что определенный вклад в повышение скорости утилизации перекиси водорода вносила эритроцитарная каталаза, которая высвобождалась из клеток вследствие нарушения целостности эритроцитарных мембран. Обнаружена прямая корреляционная зависимость между  $V_{H_2O_2}$  и ВЭГ ( $R=0,86$ ,  $p<0,05$ ) в плазме крови пациентов без ПКТС, а также  $V_{H_2O_2}$  и СПА ( $R=0,68$ ,  $p<0,05$ ) в плазме крови больных 1-й группы. Определена прямая корреляционная зависимость между  $V_{H_2O_2}$  и ВЭГ ( $R=0,8$ ,  $p<0,05$ ) в плазме крови пациентов с синдромом, а также между  $V_{H_2O_2}$  и СПА ( $R=0,5$ ,  $p<0,05$ ) в плазме крови больных 2-й группы. С другой стороны, вклад в повышение скорости утилизации перекиси водорода могут вносить другие ферменты, как например, экстрацеллюлярная глутатионпероксидаза, а также миелопероксидаза, которая использует гидропероксид в качестве субстрата при образовании гипогалогенитов.

В момент операции наблюдалось снижение  $V_{H_2O_2}$  на 58% в перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС по сравнению с контрольной группой (рис. 15).

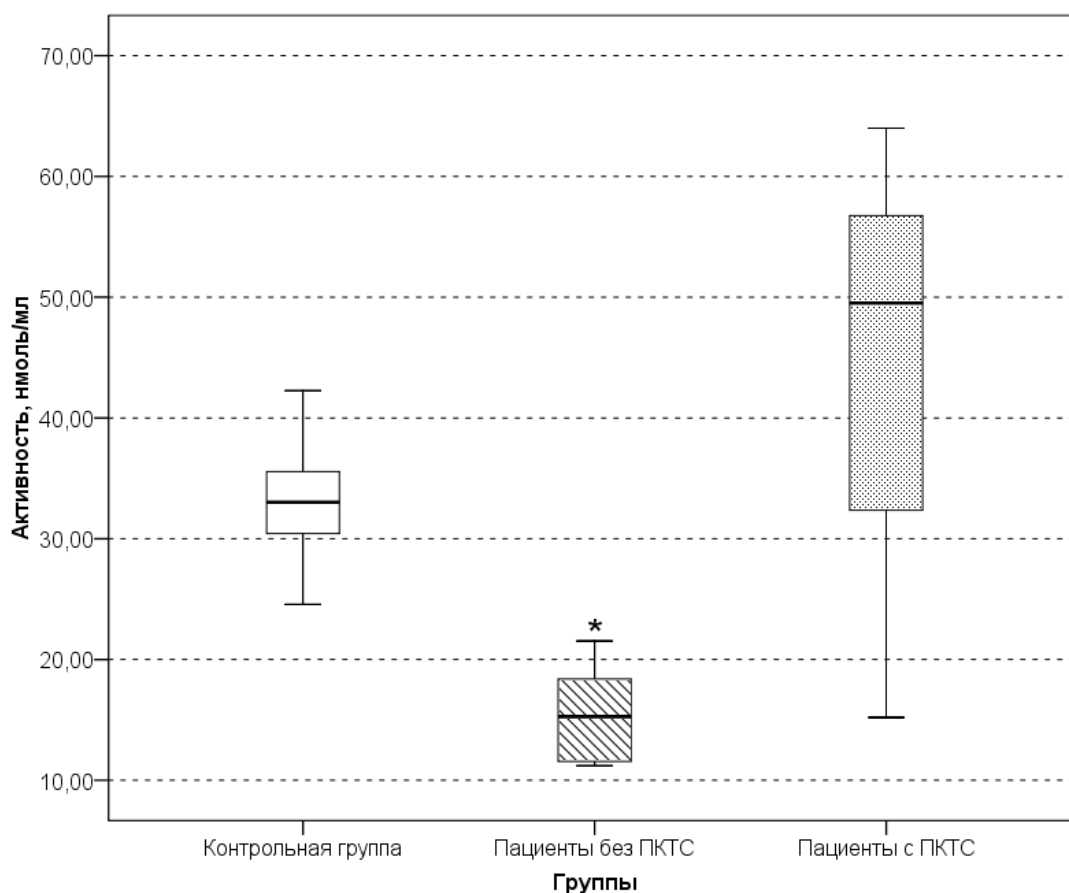


Рис. 15.  $V_{H_2O_2}$  в перикардиальной жидкости крови больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения  $V_{H_2O_2}$  в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

АФК и провоспалительные интерлейкины способны активировать p38 MAPK, которые регулируют экспрессию цитокинов и апоптоз кардиомиоцитов (Gomez-Lazaro M. et al., 2007; Yang Y. et al., 2014). В исследовании Iwakura и сотрудников добавление перикардиальной жидкости в культуру кардиомиоцитов вызывало активацию p38 MAPK. В последствие в клеточной культуре наблюдался высокий уровень апоптоза кардиомиоцитов. Внесение каталазы в культуру клеток приводило к ингибированию p38 MAPK и апоптоза (Iwakura A. et al., 2001). В настоящем исследовании обнаружена прямая корреляционная зависимость между активностью каталазы в эритроцитах и  $V_{H_2O_2}$  в перикардиальной жидкости ( $R=0,5$ ,  $p < 0,05$ ).

Оксидазная активность ЦП уменьшалась в плазме крови обеих групп больных после АКШ (табл. 7).

Таблица 7

Активность ЦП в плазме крови и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки   | ЦП, плазма (мкмоль/л)            | ЦП, перикардиальная жидкость (мкмоль/л) |
|---|----------------------------------|---|
| Контрольная группа, Ме (25-75-й процентиль)                           | 1,42 (1,29-1,54)                 | 1,42 (1,29-1,54)                        |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$              |                                  |   |
| В момент операции   | 0,98 (0,78-1,11)<br>-31*         | 0,9 (0,53-1,07)<br>-42*                 |
| 1-е сутки   | 0,83 (0,71-0,97)<br>-40*         |   |
| 3-е сутки   | 1,02 (0,77-1,11)<br>-32*         |   |
| 5-е сутки   | 1,03 (0,83-1,27)<br>-27*         |   |
| 7-е сутки   | 0,96 (0,77-1,09)<br>-33*         |   |
| 10-е сутки  | 0,92 (0,69-1,34)<br>-28*         |   |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                                  |   |
| В момент операции   | 0,54 (0,42-1,03)<br>-54*<br>-33* | 0,7 (0,66-0,75)<br>-50*                 |
| 1-е сутки   | 1,2 (0,82-1,35)<br>-21*          |   |
| 3-е сутки   | 0,85 (0,62-1,01)<br>-42*         |   |
| 5-е сутки   | 0,91 (0,57-1,04)<br>-42*<br>-21* |   |
| 7-е сутки   | 0,83 (0,49-1,46)<br>-35*         |   |
| 10-е сутки  | 0,91 (0,75-1,02)<br>-37*         |   |

Примечание: В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения оксидазной активности ЦП в плазме контрольной группы.

Активность ЦП снижалась на 27-40% в плазме крови пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения по сравнению с донорами (рис. 16). Исследуемый показатель существенно снижается в плазме крови пациентов с синдромом, что на 21-54% ниже контроля. Если в 1-й группе макси-

мальная активность ЦП приходится на 1-е послеоперационные сутки, то во 2-й группе - на момент операции. Во второй группе больных активность ЦП в момент операции и 5-е послеоперационные сутки ниже на 33% и 21%, чем в первой группе.

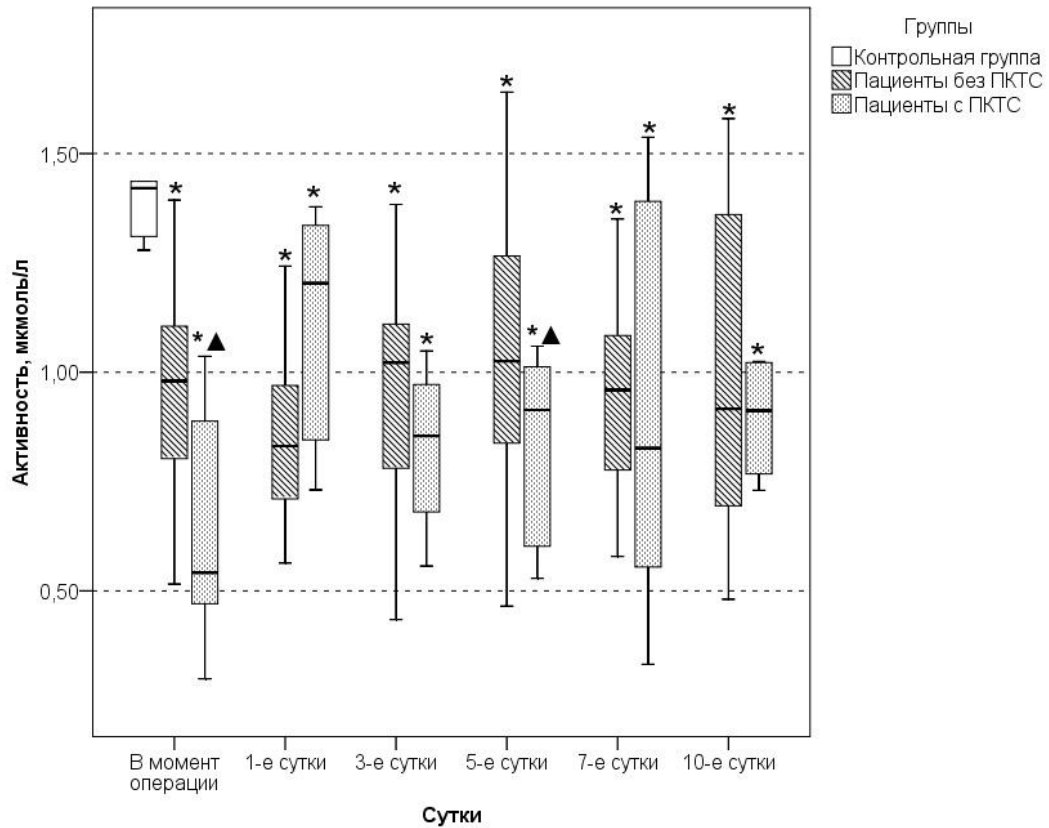


Рис. 16. Активность ЦП в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Церулоплазмин является представителем семейства медьсодержащих оксидаз, эволюционно консервативной группы белков, которые используют медь для 4-электронного восстановления кислорода до воды (Hellman N.E., Gitlin J.D., 2002). Известно, что к функциям ЦП относятся: транспорт меди, метаболизм железа, антиоксидантная защита и участие в ангиогенезе и коагуляции. Было показано, что церулоплазмин катализирует окисление  $Fe^{2+}$  до  $Fe^{3+}$  в каталитическом цикле, который включает в себя 4 из 6 атомов меди, ассоциированных с белком, и использует молекулярный кислород в качестве

акцептора электронов и напрямую восстанавливает  $O_2^{\cdot-}$  и  $H_2O_2$  (Giurgea et al., 2005). Ферроксидазная активность повышается при инфекции, воспалении и других условиях, из чего следует, что ЦП действует как антиоксидант, так и реактант острой фазы (Kang J.H. et al., 2001). Ряд исследований был посвящен взаимосвязи между концентрацией церулоплазмينا в плазме и частотой развития атеросклероза и других сердечно-сосудистых заболеваний (Dadu R.T. et al., 2013; Tang W.H. et al., 2012). В ранних работах сообщалось, что высокий уровень меди наблюдался при инфаркте миокарда. Более поздние исследования подтвердили, что повышение концентрации ЦП в плазме сопряжено с атеросклерозом, аневризмой брюшной аорты (Engstrom G. et al., 2004), нестабильной стенокардией (Ziakas A. et al., 2009) и заболеванием периферических артерий (Panichi V. et al., 2004). В работе Q.H. Meng и сотрудников установлено снижение уровня церулоплазмينا в плазме крови после АКШ (Meng Q.H. et al., 2008). M.N. Negreva и сотрудники сообщали о низкой оксидазной активности ЦП в плазме пациентов с фибрилляцией предсердий по сравнению с контрольной группой (Negreva M.N. et al., 2014). В настоящем исследовании наблюдалось снижение оксидазной активности ЦП в плазме крови обеих групп больных ИБС, перенесших АКШ. В качестве причины может выступать перекись водорода, которая вызывает агрегацию церулоплазмينا (Aouffen M. et al., 2004). Снижение антиоксидантных свойств ЦП может способствовать развитию СВО и возникновению различных послеоперационных осложнений.

В момент операции установлено снижение активности ЦП в перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС и пациентов с синдромом на 42% и 50%, соответственно, по сравнению с контрольной группой (рис. 17).

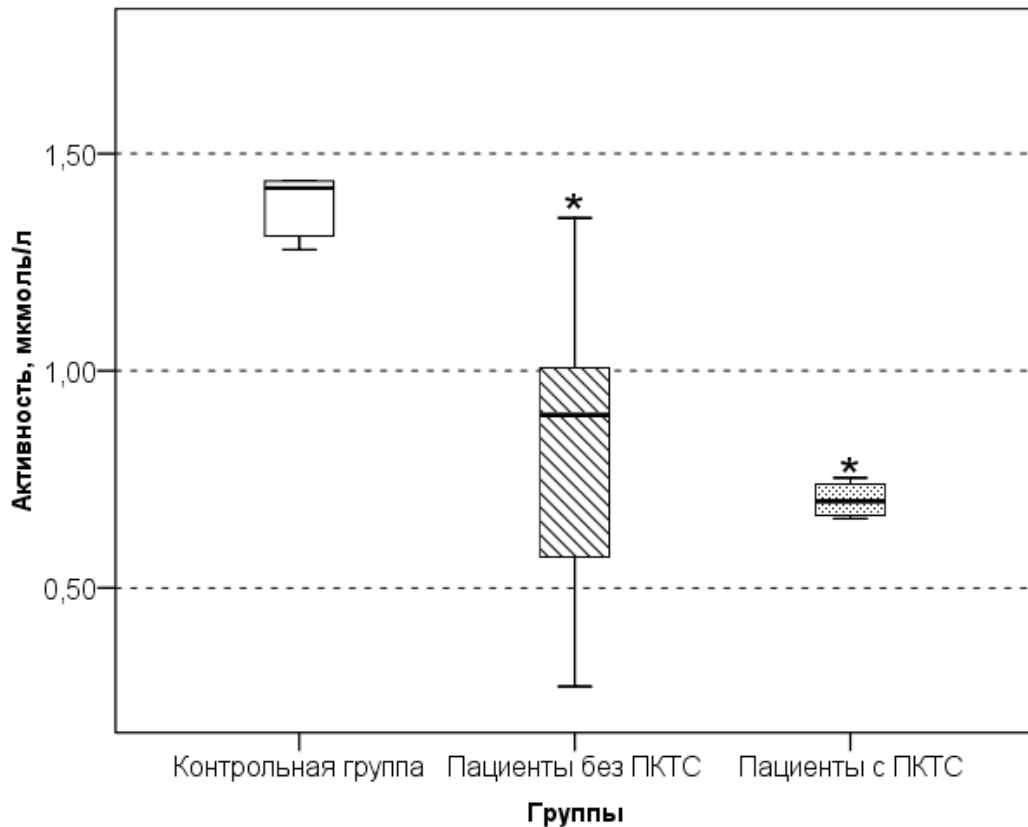


Рис. 17. Активность ЦП в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения ЦП в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Известно, что церулоплазмин может быть эффективен при метаболической терапии полиорганной недостаточности и тампонаде сердца. А.П. Медведев и сотрудники доказали, что церулоплазмин способен восстанавливать функциональную активность антиоксидантной системы и снижать интенсивность ПОЛ. ЦП способствует снижению клеточной гипоксии и сохранению клеточной целостности жизненно важных органов (Медведев А.П. и др., 2011). В работе Y.M. Ali и сотрудников не было установлено статистически достоверных различий между содержанием церулоплазмينا в перикардиальной жидкости больных, перенесших АКШ, по сравнению с уровнем исследуемого показателя в плазме контрольной группы (Ali Y.M. et al., 2012). В настоящем исследовании установлена прямая корреляционная взаимосвязь

между оксидазной активностью церулоплазмينا в плазме и перикардиальной жидкости ( $R=0,68$ ,  $p<0,05$ ).

Наблюдалась напряженность в функционировании компонентов глутатион-зависимой антиоксидантной системы в крови больных ИБС после АКШ. Так, изменения уровня GSH и активность ГПО в эритроцитах больных ИБС, перенесших АКШ, характеризовались разнонаправленной динамикой (табл. 8).

Таблица 8

Содержание GSH, активность ГПО, ГР и GST в эритроцитах крови больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки   | GSH, эритроциты (мкмоль/г Hb)  | ГПО, эритроциты (МЕ/г Hb)   | ГПО, плазма (МЕ/г белка)          | ГПО, перикардиальная жидкость (МЕ/г белка) |
|---|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|--|
| Контрольная 103 группа, Me (25-75-й процентиль)                       | 3,39 (2,91-3,51)               | 81,66 (69,61-101)           | 32,6 (28,1-41,5)                  | 32,6 (28,1-41,5)                           |
| Пациенты без ПКТС, Me (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$              |                                |                             |                                   |  |
| В момент операции   | 4,39 (3,74-5,42)<br>39*        | 67,93 (52,95-79,15)<br>-20* | 32,61 (25,6-40,8)                 | 24,37 (12,33-41,85)                        |
| 1-е сутки   | 4,5 (3,77-6,04)<br>44*         | 63,86 (51-77,48)<br>-23*    | 39,84 (26,85-50,44)<br>24*        |  |
| 3-е сутки   | 4,7 (3,79-5,82)<br>50*         | 67,6 (53,84-77,73)<br>-21*  | 35,62 (29,77-47,93)               |  |
| 5-е сутки   | 4,71 (3,43-5,67)<br>46*        | 56,93 (50,76-66,22)<br>-29* | 39,06 (29,2-47,5)<br>20*          |  |
| 7-е сутки   | 4,13 (2,87-5,51)<br>30*        | 65,28 (51,16-76,12)<br>-24* | 38,05 (34,68-45,62)<br>24*        |  |
| 10-е сутки  | 4,67 (3,33-6)<br>40*           | 65,14 (54,09-81,2)<br>-22*  | 42,07 (30,86-51,48)<br>23*        |  |
| Пациенты с ПКТС, Me (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                                |                             |                                   |  |
| В момент операции   | 5,58 (4,33-6,26)<br>64*<br>18* | 69,93 (60,54-78,8)<br>-17*  | 50,09 (38,01-60,24)<br>48*<br>40* | 29,49 (10,41-45,89)                        |
| 1-е сутки   | 4,27 (3,76-4,92)<br>33*        | 67,48 (27,31-87,61)<br>-28* | 59,42 (41,26-64,6)<br>63*<br>31*  |  |
| 3-е сутки   | 4,69 (3,91-5,69)<br>46*        | 75,55 (66,29-86,27)         | 39,51 (35,27-52,64)               |  |
| 5-е сутки   | 5,01 (4,32-5,68)<br>54*        | 53,57 (39,51-72,63)<br>-34* | 43,26 (35,67-46,69)<br>26*        |  |
| 7-е сутки   | 4,78 (3,29-5,24)<br>34*        | 73,13 (60,2-80,54)          | 41,14 (34,29-44,42)<br>21*        |  |
| 10-е сутки  | 4,03 (3,26-6,12)<br>40*        | 77,03 (70,04-80,6)<br>16*   | 35,07 (26,89-51,05)               |  |

Примечание: В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения активности ГПО в плазме контрольной группы.

Содержание GSH заметно повышалось в эритроцитах пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения, что на 30-50% по сравнению с контрольной группой (рис. 18). Значительный прирост концентрации восстановленного глутатиона отмечен в эритроцитах крови пациентов с синдромом, увеличение уровня GSH составило 33-64%. Содержание GSH во 2-й группе больных в момент операции на 18% выше, чем в 1-й группе.

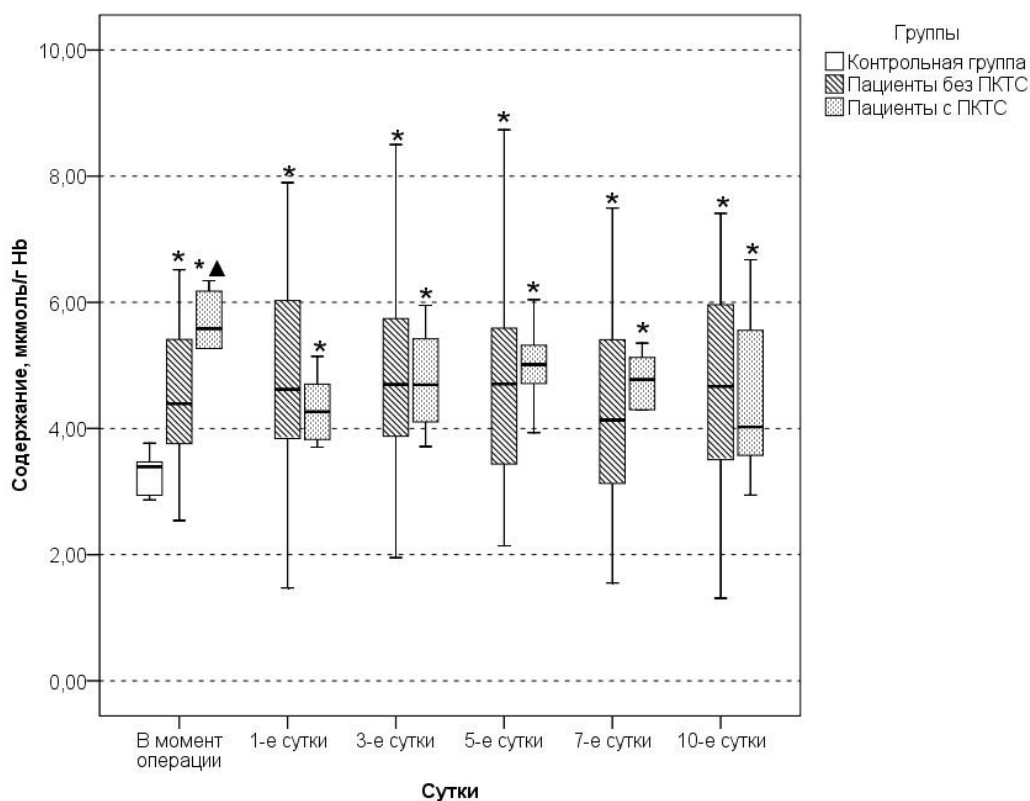


Рис. 18. Содержание GSH в эритроцитах крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Глутатион - низкомолекулярный тиольный антиоксидант, косубстрат глутатионовых ферментов, который входит в первую линию антиоксидантной защиты и является жизненно важным для поддержания функциональной



стабильности клеток (Gray D. et al., 2013). Существует ряд исследований, посвященных роли GSH в патогенезе атеросклероза. М. Rosenblat и сотрудники сообщали о способности GSH предотвращать окисление ЛПНП в человеческой крови, в исследованиях *in vitro* и модельном эксперименте на мышах (Rosenblat M. et al., 2007). Метаболизм холестерина тоже связан с глутатионом. Как показали исследования, GSH способен поддерживать ЛПВП-опосредованный отток холестерина из макрофагов (Rosenblat M. et al., 2007). В ранних исследованиях было показано, что дефицит GSH сопряжен с развитием сердечно-сосудистых патологий. Установлено, что низкий уровень GSH в плазме связан с риском послеоперационных осложнений (De Chiara B. et al., 2007). Манипулирование концентрацией глутатиона за счет источников цистеина либо с помощью непосредственного добавления липосомального глутатиона (Rosenblat M. et al., 2007), либо генетическим путем (Callegari A. et al., 2011) приводили к увеличению его продукции, что влияло на развитие атеросклеротических повреждений у мышей с гиперлипидемией (Rosenblat M. et al., 2002). В исследовании Т. Еге и сотрудников уровень глутатиона в эритроцитах пациентов, которым применялась перфузия через левую внутреннюю грудную артерию при проксимальных анастомозах, повышался после АКШ (Ege T. et al., 2003). В работе R. Rodrigo и сотрудников соотношение GSH/GSSG повышалось в эритроцитах крови пациентов в момент операции, однако на 5-е послеоперационные сутки возвращался к нормальным значениям (Rodrigo R. et al., 2013). Причиной повышения уровня GSH в настоящем исследовании могут выступать молекулы межклеточной адгезии ICAM-1, продукция которых возрастает в результате системного воспалительного ответа и секреции ФНО- $\alpha$ . ICAM-1 способны модулировать экспрессию ключевого фермента биосинтеза глутатиона – глутаматцистеинлигазы, тем самым обуславливая его прирост (Kevil C.G. et al., 2004). Кроме того, цитокины, в частности, интерлейкин-2, способны опосредованно усиливать продукцию восстановленного глутатиона (Palomares T. et al., 1997). Так, по-

вышение уровня GSH может свидетельствовать об интенсификации воспалительных процессов у пациентов, перенесших АКШ.

Установлено снижение активности ГПО на 20-29% в течение всего периода наблюдения в эритроцитах пациентов без ПКТС по сравнению с контрольной группой (табл. 8; рис. 19). Активность ГПО снижалась в эритроцитах крови пациентов с синдромом в момент операции, на 1-е и 5-е послеоперационные сутки на 17%, 28% и 34%, соответственно.

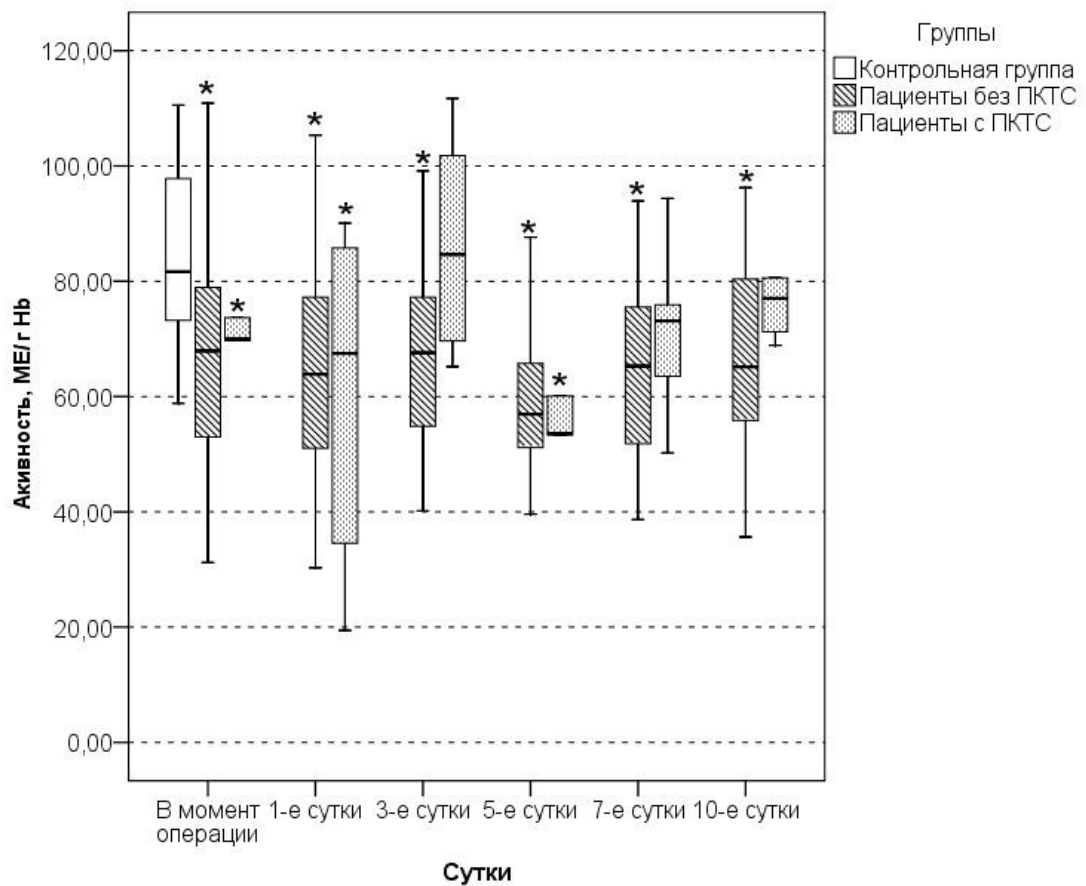


Рис. 19. Активность ГПО в эритроцитах крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем.

Известно, что фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний являются изменения активности сопряженного с глутатионом фермента - глутатионпероксидазы. С каждым днем растет количество доказательств в

пользу антиатерогенной роли данных ферментов. Мыши с дефицитом ГПО1 и ГПО3 имели аномалии структуры и функций сердца (Forgione M.A. et al., 2002), увеличение протромботического состояния в сочетании с сосудистой дисфункцией (Jin R.C. et al., 2011). Некоторые клинические исследования подтверждают защитную роль глутатионпероксидаз против сердечно-сосудистых изменений (Blankenberg S. et al., 2003), и их дефицит связан с артериальными тромбозами (Freedman J.E. et al., 1996). В работе I. Deblier и сотрудников активность глутатионпероксидазы не изменялась в эритроцитах пациентов, перенесших АКШ (Deblier I. et al., 2006). В исследовании К. Данова и сотрудников активность ГПО в эритроцитах пациентов с низкой фракцией выброса левого желудочка, перенесших АКШ, снижалась в течение 7-ми послеоперационных суток (Danova K. et al., 2005).

В данном исследовании причиной снижения активности ГПО в эритроцитах обеих групп больных может служить интенсификации продукции перекиси водорода в результате высокой активности эритроцитарной СОД. Известно, что чрезмерная концентрация  $H_2O_2$  может приводить к ингибированию фермента (Deronte M., 2013). Обнаружена обратная корреляционная зависимость между активностями ГПО и СОД ( $R=-0,6$ ,  $p<0,05$ ) в эритроцитах пациентов без ПКТС.

Изменения активности ГПО в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ, отличаются положительной динамикой (табл. 8; рис. 20). Активность фермента повышается на 24%, 20%, 24% и 23% в плазме крови пациентов без ПКТС по сравнению с контрольной группой в 1-е, 5-е, 7-е и 10-е послеоперационные сутки, соответственно. Значения показателя существенно повышались в плазме крови пациентов с синдромом в момент операции, 1-е, 5-е и 7-е послеоперационные сутки на 48%, 63%, 26% и 21%, соответственно. Активность ГПО во 2-й группе больных в момент операции и 1-е сутки послеоперационного периода была выше на 40% и 31%, чем в 1-й группе.

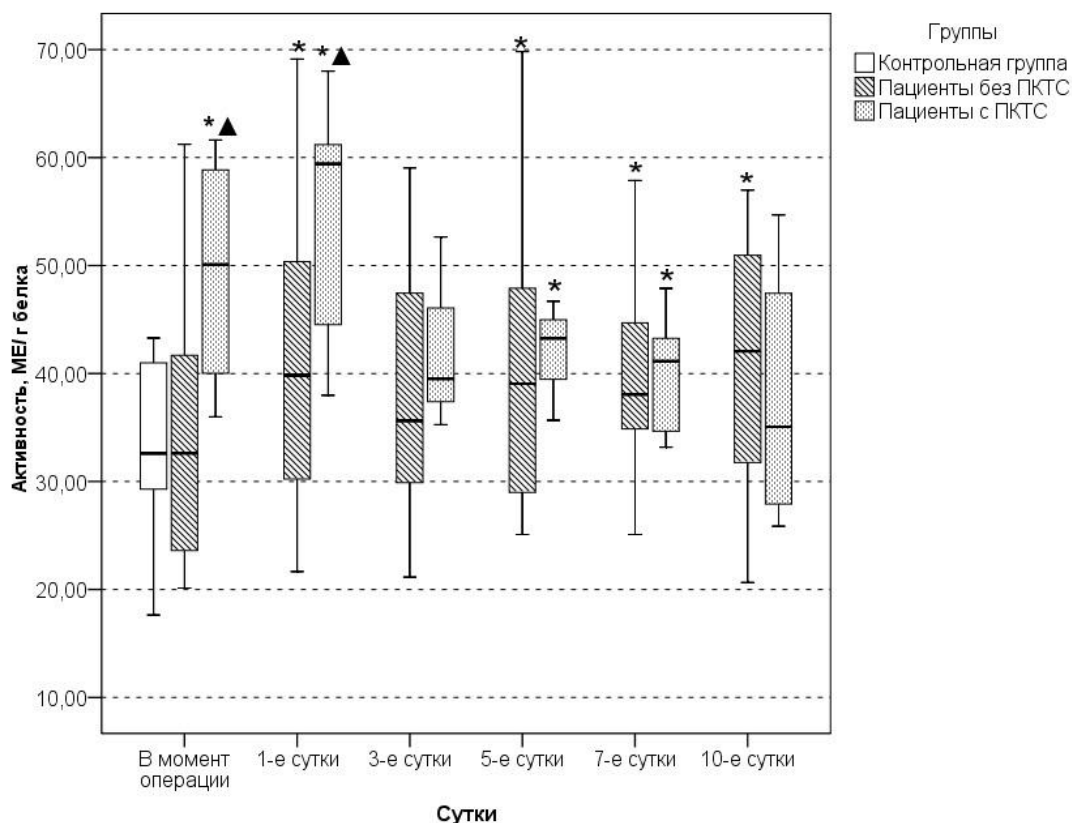


Рис. 20. Активность ГПО в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные отличия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

В плазме крови локализуется преимущественно третья изоформа глутатионпероксидазы. Клинические исследования и эксперименты с животными продемонстрировали роль ГПОЗ в тромботическом процессе (Voetsch B. et al., 2008; Jin R.C. et al., 2011). Кроме того, у животных с дефицитом ГПОЗ активация тромбоцитов и закупоривание сосудов происходили в большей степени, чем у животных дикого типа (Jin R.C. et al., 2011). Активность экстрацеллюлярной глутатионпероксидазы связана с развитием тромбоза посредством перекиси водорода, которая стимулирует продукцию тромбоксана A<sub>2</sub> - важного медиатора агрегации и дегрануляции тромбоцитов (Pignatelli P. et al., 1998). В исследовании В. Vuijsse и сотрудников установлена обратная

корреляционная зависимость между активностью ГПО в плазме и смертностью пациентов с низким содержанием ЛПВП (Buijsse V. et al., 2012). В работе А. Uysal и сотрудников активность глутатионпероксидазы в плазме пациентов, перенесших АКШ, повышалась в течение 5 суток послеоперационного периода (Uysal A. et al., 2013).

Изменения содержания пероксиредоксина-1 в плазме больных ИБС, перенесших АКШ, отличались отрицательной динамикой (табл. 9).

Таблица 9

Содержание Ptx1 в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки   | Ptx1 (нг/мл), плазма        | Ptx1 (нг/мл), перикардиальная жидкость |
|---|-----------------------------|--|
| Контрольная группа, Ме (25-75-й процентиль)                           | 12,5 (10-16,88)             | 12,5 (10-16,88)                        |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$              |                             |  |
| В момент операции   | 12,5 (10-15)                | 45 (32,5-60,84)<br>251*                |
| 1-е сутки   | 5 (3,75-10)<br>-49*         |  |
| 3-е сутки   | 7,5 (5-10)<br>-43*          |  |
| 5-е сутки   | 10 (7,5-10)<br>-33*         |  |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                             |  |
| В момент операции   | 5 (2,5-7,5)<br>-62*<br>-56* | 33,34 (23,34-36,66)<br>137*<br>-33*    |
| 1-е сутки   | 12,5 (12,5-15)<br>100*      |  |
| 3-е сутки   | 7,5 (5-7,5)<br>-49*         |  |
| 5-е сутки   | 15 (11,5-15,5)              |  |

Примечание: В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения содержания Ptx1 в плазме контрольной группы.

Содержание Ptx1 снижалось в плазме крови пациентов без ПКТС в 1-е, 3-и и 5-е послеоперационные сутки на 49%, 43% и 33% по сравнению с контрольной группой (табл. 9; рис. 21). Уровень Ptx1 существенно уменьшался в плазме крови пациентов с синдромом в момент операции и на 3-и послеопе-

рационные сутки на 62% и 49%, соответственно. Минимальных значений исследуемый показатель достигал в 1-е послеоперационные сутки в 1-й группе больных, в момент операции – во 2-й группе. В группе пациентов с ПКТС концентрация пероксиредоксина-1 была ниже на 56%, чем в группе пациентов без синдрома.

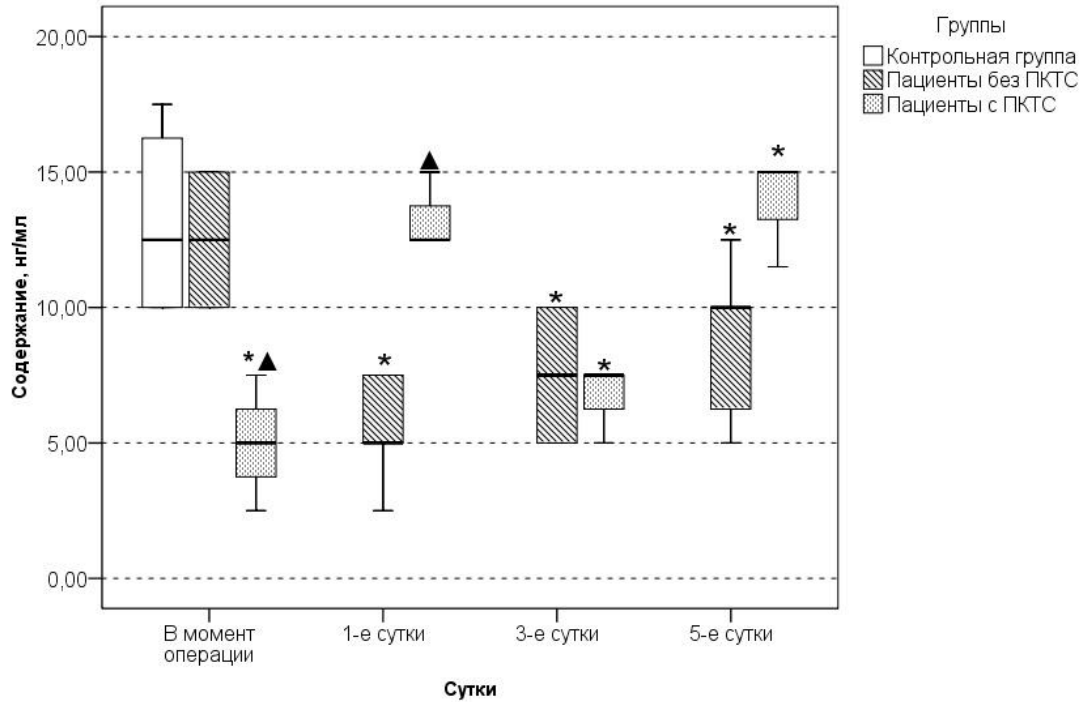


Рис. 21. Содержание Prx1 в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Пероксиредоксины - антиоксидантные тиольные ферменты, которые используют редокс-активные остатки цистеина для восстановления пероксидов и элиминирования ONOO-. Изменения концентрации пероксиредоксинов сопряжены с развитием болезни Пика, спорадическим синдромом Крейтцфельдта-Якоба, а также с атерогенезом (Tosaki A., Edes I., 2006). Известно, что сверхэкспрессия Prx1 и Prx2 происходит при васкулогенезе. Оба пероксиредоксина регулируют взаимосвязь между внеклеточным матриксом и сосудистыми клетками гладкой мускулатуры (Jones F.S. et al., 2001). Prx1 также

участвует в развитии гладкомышечной ткани сосудов во время эмбриогенеза (Ihida-Stansbury K. et al., 2015). Пероксиредоксин-1 регулирует уровень те-нацина С, который является ключевым показателем при таких патологиях, как гиперплазия, атеросклероз и легочная гипертония (Golledge J. et al., 2011). Уровень Prx1 снижается при фибрилляции, а накопление  $H_2O_2$  приводит к изменению клеточных функций (Simon J.N. et al., 2016). В настоящем исследовании обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем пероксиредоксина-1 в плазме и перикардиальной жидкости ( $R=0,62$ ,  $p<0,05$ ) пациентов без ПКТС, а также между уровнем пероксиредоксина-1 в плазме и перикардиальной жидкости ( $R=0,87$ ,  $p<0,05$ ) пациентов с синдромом. Установлена обратная корреляционная зависимость между содержанием Prx1 в плазме и активностью СОД в эритроцитах ( $R=-0,88$ ,  $p<0,05$ ) больных 1-й группы, а также прямая корреляционная взаимосвязь между концентрацией Prx1 и ИЛ-1 $\beta$  в плазме ( $R=0,8$ ,  $p<0,05$ ) пациентов с синдромом.

Уровень Prx1 был выше на 251% в перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС по сравнению с контролем (табл. 9; рис. 22). В перикардиальной жидкости пациентов с синдромом содержание Prx1 было выше на 137% по сравнению с контрольной группой. Значения исследуемого показателя на 33% ниже в перикардиальной жидкости больных 2-й группы, чем в 1-й группе.

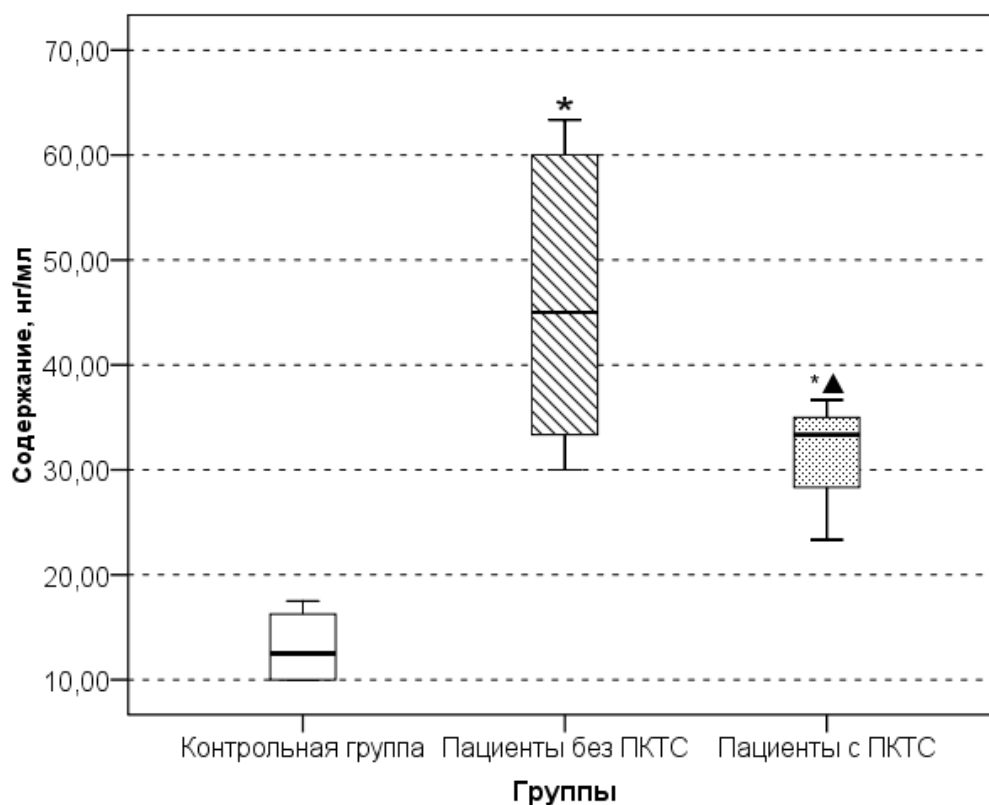


Рис. 22. Содержание Prx1 в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения Prx1 в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Снижение уровня Prx1 в плазме и перикардиальной жидкости и активности ГПО в эритроцитах пациентов, перенесших АКШ, свидетельствует о нарушении редокс-гомеостаза и дисбалансе в работе тиол-дисульфидной системы. Такого рода изменения могут свидетельствовать о развитии системного воспалительного ответа. Известно, что Prx-1 может служить маркером воспалительной реакции при кардиоваскулярных патологиях, поскольку данный пероксиредоксин имеет высокий коэффициент корреляции с уровнем С-реактивного белка и липопротеинами низкой плотности (El Eter E., Al-Masri A.A., 2015).



На фоне снижения уровня пероксиредоксина наблюдалось повышение активности ГР и GST в эритроцитах обеих групп больных ИБС после АКШ (табл. 10).

Таблица 10

Активность GST, ГР в эритроцитах и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки   | ГР, эритроциты (МЕ/мг Hb)       | GST, эритроциты (МЕ/г Hb)       | GST, перикардиальная жидкость (МЕ/г белка) |
|---|---------------------------------|---------------------------------|--|
| Контрольная группа, Ме (25-75-й процентиль)                           | 0,47 (0,29-1,06)                | 0,44 (0,34-0,55)                |  |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$              |                                 |                                 |  |
| В момент операции   | 2,43 (2,02-3,13)<br>300*        | 0,95 (0,54-1,35)<br>141*        | 0,06 (0,05-0,09)                           |
| 1-е сутки   | 2,68 (1,89-3,56)<br>354*        | 1,15 (0,85-1,70)<br>191*        |  |
| 3-е сутки   | 2,88 (2,07-3,34)<br>361*        | 1,07 (0,69-1,46)<br>156*        |  |
| 5-е сутки   | 2,88 (2,07-3,74)<br>358*        | 1,15 (0,73-1,71)<br>172*        |  |
| 7-е сутки   | 3,02 (2,49-3,83)<br>403*        | 0,93 (0,56-1,38)<br>138*        |  |
| 10-е сутки  | 2,67 (2,3-3,55)<br>361*         | 1,1 (0,69-1,18)<br>216*         |  |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                                 |                                 |  |
| В момент операции   | 3,28 (2,52-4,24)<br>431*<br>33* | 0,95 (0,82-1,69)<br>159*        | 0,32 (0,17-0,61)<br>444*                   |
| 1-е сутки   | 3,7 (2,92-4,18)<br>460*<br>23*  | 0,78 (0,57-2,09)<br>163*        |  |
| 3-е сутки   | 4,58 (3,78-5,52)<br>633*<br>59* | 1,08 (0,83-2,13)<br>222*        |  |
| 5-е сутки   | 3,22 (2,9-4,66)<br>465*<br>23*  | 1,13 (0,81-1,42)<br>151*        |  |
| 7-е сутки   | 3,09 (2,27-3,36)<br>360*        | 2,79 (2,09-3,5)<br>529*<br>165* |  |
| 10-е сутки  | 3,8 (2,96-5,46)<br>540*<br>39*  | 1,2 (1,02-1,73)<br>196*         |  |

Активность ГР повышалась на 300-361% в эритроцитах пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой (табл. 10; рис. 23). Активность фермента существенно возрастала в эритроцитах пациентов с синдромом и на 431-633% превышала уровень кон-

троля. Максимальных значений показатель достигал в обеих группах на 3-и послеоперационные сутки. По сравнению с 1-й группой активность ГР во 2-й группе была выше в момент операции, на 1-е, 3-и, 5-е и 10-е послеоперационные сутки на 33%, 23%, 59%, 23% и 39%, соответственно.

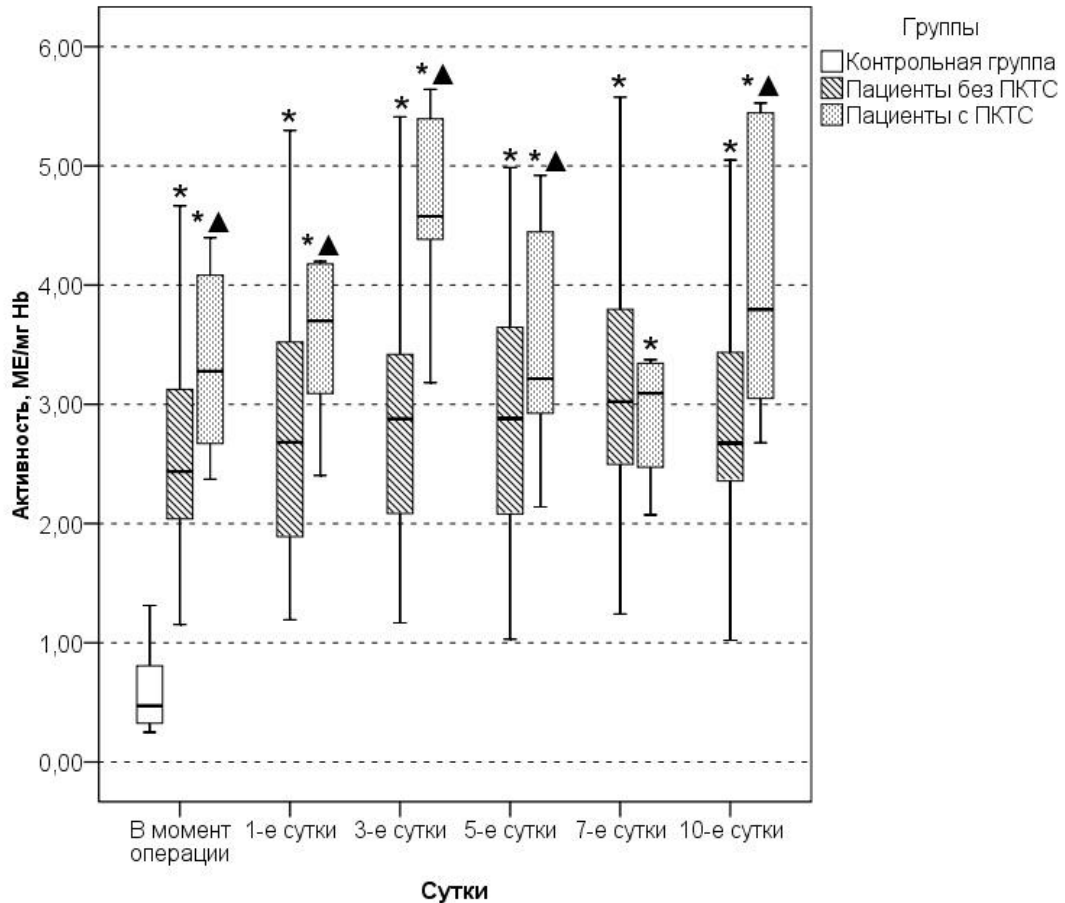


Рис. 23. Активность ГР в эритроцитах крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Глутатионредуктаза - ключевой фермент в метаболизме глутатиона, который связывает между собой пул НАДФН и тиолдисульфидный пул. Известно, что дефицит ГР в митохондриях ведет к нарушению в цепи переноса электронов при гипертонии, атеросклерозе и циррозе печени (Ithayaraja S.M. et al., 2011). В ранних исследованиях показано, что активность глутатионре-

дуктазы в плазме пациентов с нестабильной стенокардией значительно выше по сравнению с контрольной группой (Şapıra V. et al., 2011). В эксперименте по трансплантации сердца у свиней наблюдалось повышение активности ГР при реперфузии и ишемии (Castedo E. et al., 2004). E.J. Anderson и сотрудники не обнаружили корреляционной взаимосвязи между активностью ГР и фибрилляцией предсердий (Anderson E.J. et al., 2014). В работе Y.H. Kim и сотрудников установлено, что развитие фибрилляции предсердий сопряжено с окислительным стрессом и отрицательной регуляцией экспрессии гена глутатионредуктазы (Kim Y.H. et al., 2003). Активация глутатионредуктазы может быть обусловлена интенсификацией свободнорадикального окисления и высокой скоростью расходования восстановленного глутатиона как в неферментативных, так и в ферментативных реакциях, катализируемых глутатионпероксидазами и глутаредоксинами.

Установлено повышение на 138-216% активности GST в эритроцитах крови пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой (табл. 10; рис. 24). Активность фермента существенно возростала в эритроцитах крови пациентов с синдромом и на 151-529% превосходила норму. Максимальных значений показатель достигал в 1-й группе на 10-е послеоперационные сутки, во 2-й группе – на 7-е послеоперационные сутки. Активность GST была выше на 165% во 2-й группе на 7-е послеоперационные сутки, чем в 1-й в группе.

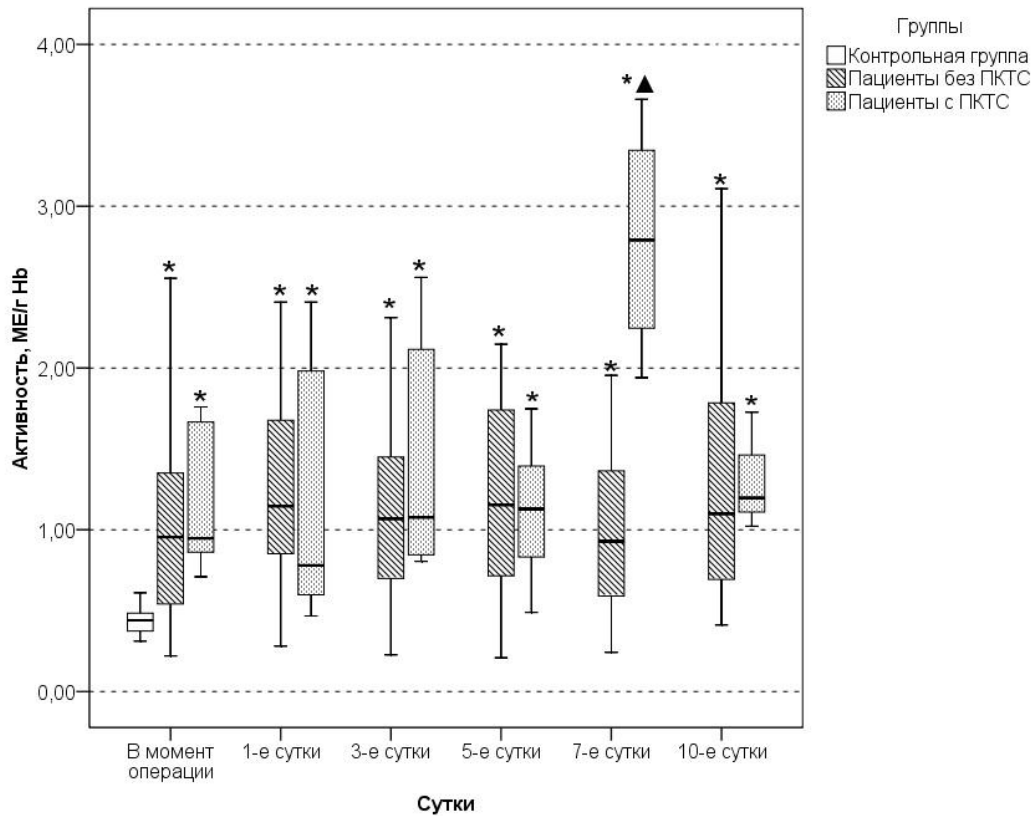


Рис. 24. Активность GST в эритроцитах крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Глутатион-S-трансферазы - антиоксидантные ферменты играют ключевую роль в защите клеток от ПОЛ и регуляции стресс-сигнальной трансдукции (Sharma R. et al., 2004). Благодаря своим функциям генетические изменения GST являются факторами риска развития сердечно-сосудистых патологий (Conklin D.J., Bhatnagar A., 2011). S.-J. Kim и сотрудники предположили, что нулевой генотип генов GSTM1/T1 ассоциирован с развитием ишемической болезни сердца (Kim S.-J. et al., 2008). В случае делеции гена фермент не экспрессируется, в результате способность организма метаболизировать экзогенные токсические соединения и эндогенные продукты ПОЛ значительно

снижается. Курение является сопутствующим фактором, который повышает риск развития ИБС (Данилкина С.Т. и др., 2008). В ранних исследованиях установлено повышение экспрессии GSTO1 в миокардиальной ткани после АКШ (Clements R.T. et al., 2008). В работе U. Gocen и сотрудников активность GSTP1 повышалась в плазме крови пациентов, перенесших АКШ. Исследователи предполагают, что активность глутатион-S-трансферазы P1 может служить прогностическим маркером развития послеоперационных осложнений на сердце (Gocen U. et al., 2016).

Наблюдалось повышение активности GST в перикардиальной жидкости пациентов с ПКТС в момент операции. Значения показателя во 2-й группе были выше на 444%, чем в 1-й группе (табл. 10; рис. 25).

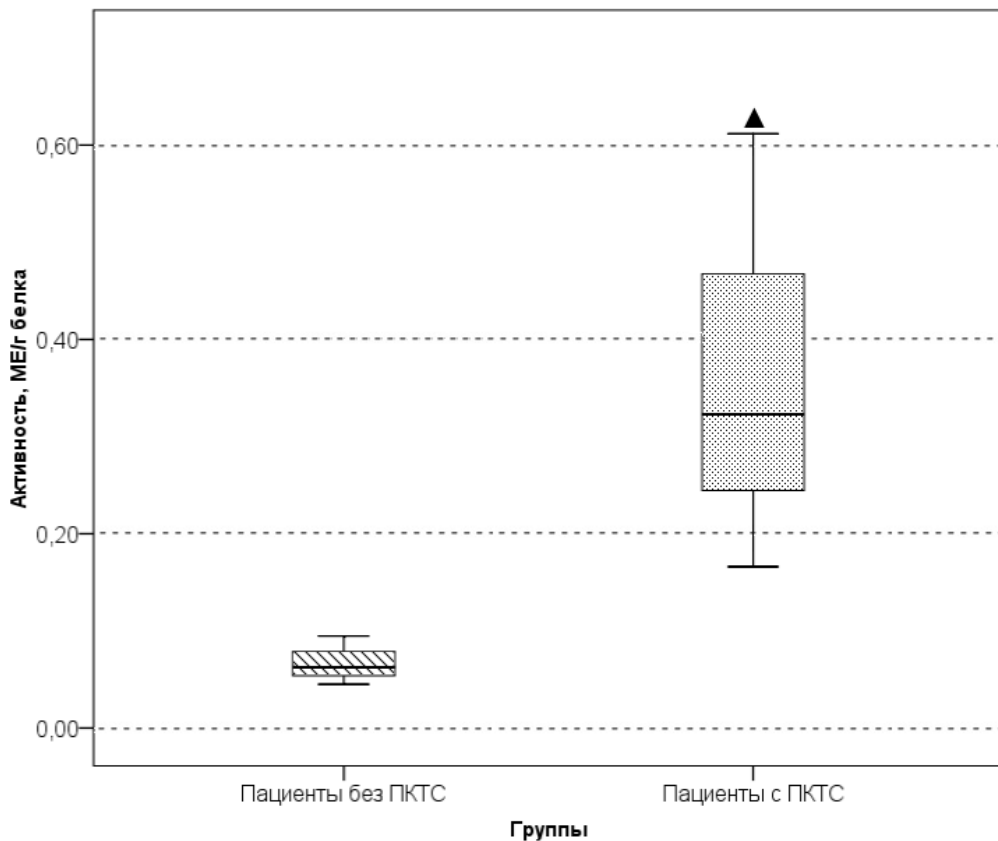


Рис. 25. Активность GST в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома ( $0,1 < p < 0,05$ ).

В настоящем исследовании установлена корреляционная зависимость между активностью GST в эритроцитах и перикардиальной жидкости ( $R=1,0$ ,  $p<0,05$ ) пациентов без ПКТС, а также пациентов с синдромом ( $R=1,0$ ,  $p<0,05$ ).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о нарушениях в работе антиоксидантной системы. Особенно следует отметить дисбаланс в функционировании СОД/каталазы и глутатионпероксидазы/глутатионредуктазы в эритроцитах больных ИБС, перенесших АКШ. Такие изменения сопряжены с нарушением редокс-гомеостаза и дестабилизацией эритроцитарных мембран. Снижение уровня пероксиредоксина-1 в сочетании с напряженностью в работе антиоксидантных ферментов может свидетельствовать об активации прооксидантной системы и усилении воспалительного ответа.

### 3.3 Содержание внеэритроцитарного гемоглобина и суммарная пероксидазная активность в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование

Уровни ВЭГ и СПА возрастали в плазме крови обеих групп больных ИБС после АКШ (табл. 11).

Таблица 11

Содержание ВЭГ и СПА в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки  | ВЭГ, плазма (мг/мл)      | СПА, плазма (е.о.п./мл)  | СПА, перикардиальная жидкость (е.о.п./мл) |
|--|--------------------------|--------------------------|---|
| Контрольная группа, Ме (25-75-й процентиль)              | 0,54 (0,37-0,82)         | 2,28 (2,06-2,68)         | 2,28 (2,06-2,68)                          |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%$ к |                          |                          |   |
| В момент операции  | 1,57 (1,45-1,77)<br>156* | 7,1 (4,39-9,23)<br>206*  | 2 (0,95-4,78)                             |
| 1-е сутки  | 1,24 (1,07-1,54)<br>112* | 5,27 (3,45-8,79)<br>170* |   |
| 3-е сутки  | 1,39 (1,22-1,65)<br>129* | 6,36 (5,18-8,1)<br>197*  |   |
| 5-е сутки  | 1,34 (1,26-1,64)<br>130* | 5,56 (4,35-8,17)<br>208* |   |
| 7-е сутки  | 1,54 (1,3-1,84)<br>154*  | 6,36 (4,69-8,08)<br>194* |   |
| 10-е сутки   | 1,64 (1,34-1,94)<br>165* | 4,93 (3,74-8,29)<br>199* |   |

| Группы, сутки   | ВЭГ, плазма (мг/мл)      | СПА, плазма (е.о.п./мл)   | СПА, перикардиальная жидкость (е.о.п./мл) |
|---|--------------------------|---------------------------|---|
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                          |                           |   |
| В момент операции   | 1,38 (1,23-2,18)<br>166* | 6,65 (3,25-11,81)<br>206* | 4,98 (2,42-6,31)<br>94*<br>70*            |
| 1-е сутки   | 1,4 (1,25-1,67)<br>134*  | 3,75 (3,33-7,4)<br>115*   |   |
| 3-е сутки   | 1,52 (1,3-1,86)<br>153*  | 5,91 (4,97-7,91)<br>167*  |   |
| 5-е сутки   | 1,49 (1,37-1,6)<br>141*  | 7,18 (4,52-11,67)<br>249* |   |
| 7-е сутки   | 1,46 (1,33-1,69)<br>143* | 7,78 (6-10,16)<br>246*    |   |
| 10-е сутки  | 1,64 (1,44-1,66)<br>154* | 7,89 (4,2-10,67)<br>232*  |   |

Примечание: В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения СПА в плазме контрольной группы.

Содержание ВЭГ повышалось на 112-165% в плазме пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой (табл. 11; рис. 26). Концентрация ВЭГ существенно возрастала в плазме крови пациентов с синдромом и на 134-166% превышала контроль.

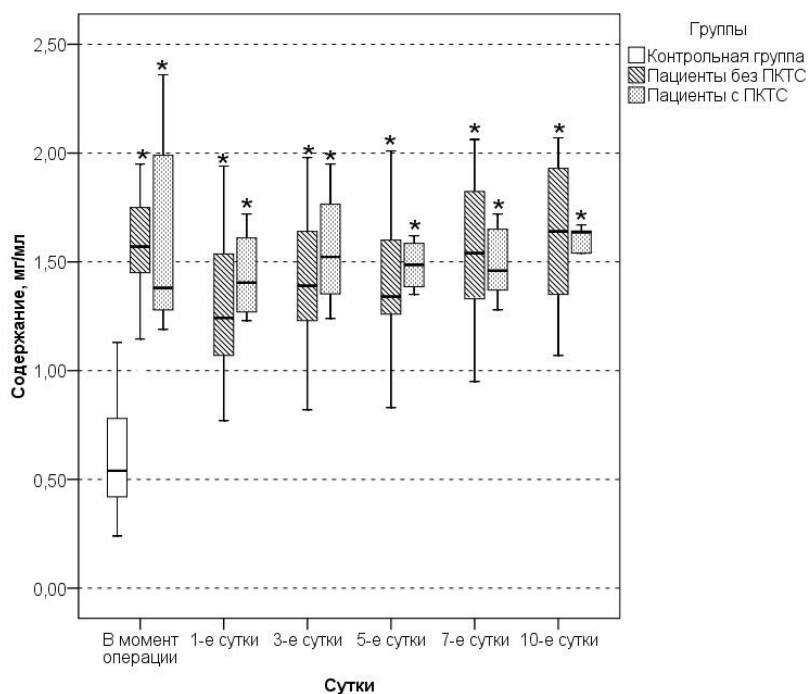


Рис. 26. Содержание ВЭГ в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Способность эритроцитов поддерживать свою структуру определяет свойство, которое называется стабильность. От концентрации холестерина в мембране зависит стабильность эритроцитов. При умеренном повышении содержания мембранного холестерина клетка становится осмотически устойчивее (Marks P.A., Johnson A.B., 1958). Но чрезмерное увеличение уровня холестерина повышает жесткость мембраны. Эритроциты с жесткой мембраной более восприимчивы к лизису и механическим воздействиям. С другой стороны, свободнорадикальное окисление также может изменять стабильность эритроцитов. АФК взаимодействуют с полиненасыщенными жирными кислотами мембранных липидов, в результате пероксидации мембраны становятся более чувствительными к разрушению (Çimen M.Y., 2008). Когда эритроцит разрушается, его антиоксидантная система становится очень дисперсной и теряет эффективность, что приводит к увеличению количества АФК. При этом повышается уровень внеэритроцитарного гемоглобина, который обуславливает повреждения не только эритроцитов, но и других типов клеток (Jeney V. et al., 2014). Вышеописанные изменения ассоциируются с развитием атеросклероза и воспалительными процессами (da Silva G.-F.M. et al., 2017). В ранних исследованиях отмечено повышение уровня внеэритроцитарного гемоглобина в период проведения АКШ (Windsant I.C.V. et al., 2014; Dybdahl B. et al., 2004). В работе P.A. Kramer и сотрудников повышение уровня окисленного гемоглобина в плазме пациентов, перенесших АКШ, свидетельствовало о развитии окислительного стресса (Kramer P.A. et al., 2015). В исследовании H.R. Omar и сотрудников доказано, что уровень ВЭГ может служить предиктором смертности в послеоперационный период пациентов, перенесших операцию с использованием экстракорпоральной мембранной оксигенации (Omar H.R. et al., 2015).

СПА повышалась на 170-208% в плазме крови пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой (табл. 11; рис. 27). СПА возрастала в плазме крови пациентов с синдромом на



115-249%. Максимальных значений показатель достигал в обеих группах больных на 5-е послеоперационные сутки.

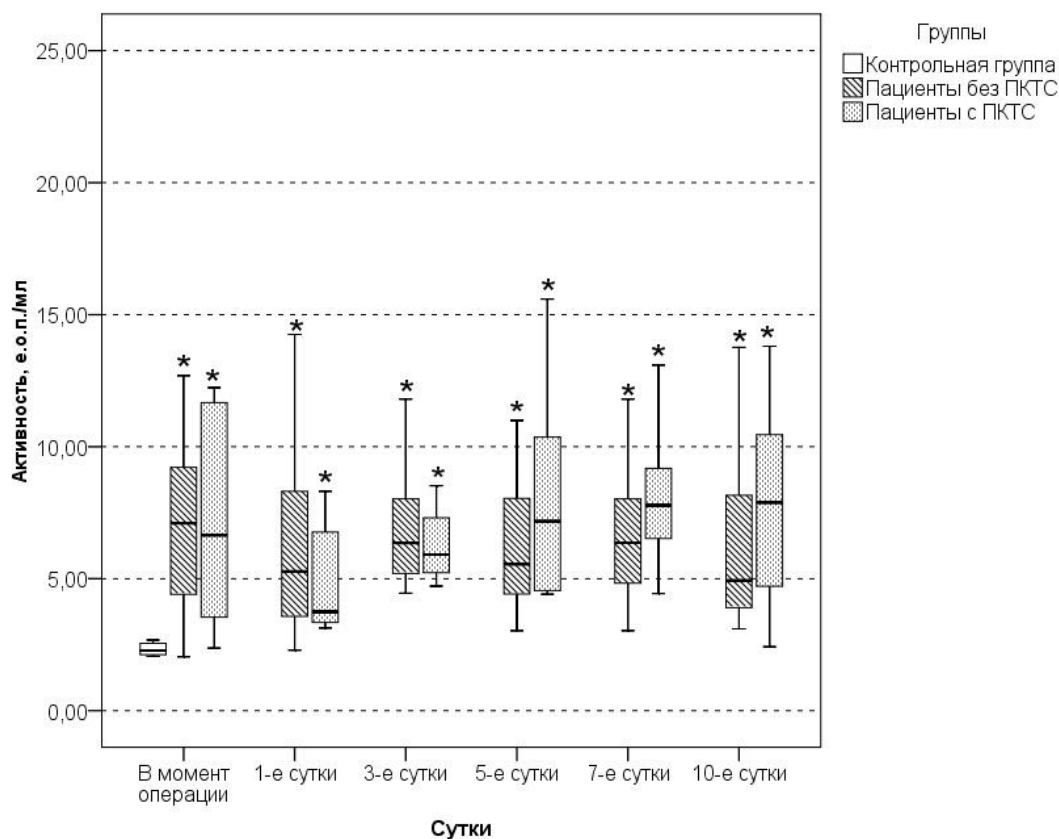


Рис. 27. СПА в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

В перикардиальной жидкости пациентов с ПКТС СПА возрастала по сравнению с контрольной группой на 94%. В перикардиальной жидкости СПА была выше на 70% во 2-й группе больных по сравнению с 1-й группой (табл. 11; рис. 28).

В перикардиальной жидкости СПА отражает уровень активности различных пероксидаз, в том числе миелопероксидазы, активность которой является маркером воспаления и наиболее существенно возрастает в группе больных с ПКТС.

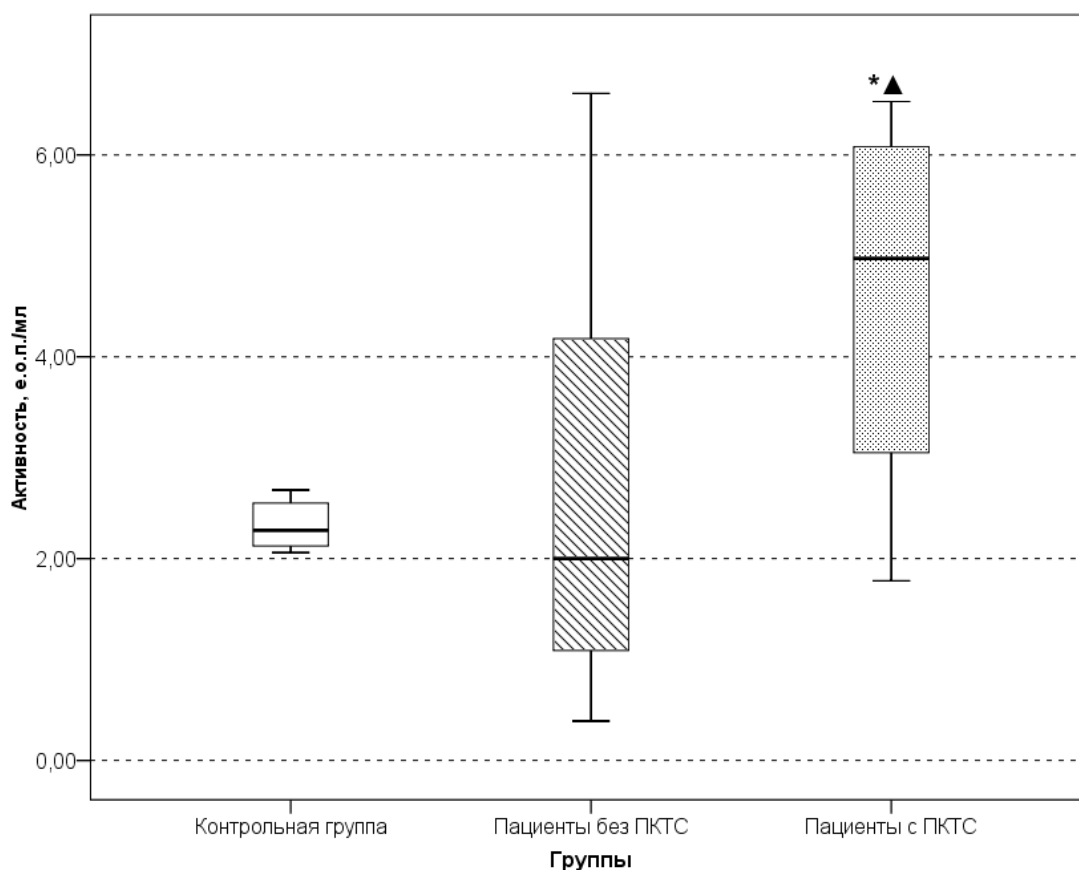


Рис. 28. СПА в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения СПА в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Обнаружена прямая корреляционная зависимость между СПА в плазме и перикардиальной жидкости ( $R=0,5$ ,  $p < 0,05$ ) пациентов без ПКТС, а также между СПА в плазме и перикардиальной жидкости ( $R=0,5$ ,  $p < 0,05$ ) пациентов с синдромом. Определена корреляционная зависимость между СПА и ВЭГ ( $R=0,9$ ,  $p < 0,05$ ) в плазме больных 1-й группы, а также между СПА и ВЭГ в плазме ( $R=0,5$ ,  $p < 0,05$ ) больных 2-й группы.

Таким образом, наблюдается повышение обоих показателей в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ. Полученные результаты могут свидетельствовать о нарушении стабильности эритроцитов и высвобождении гемоглобина.

Следует отметить, что уровни ВЭГ и СПА в плазме крови рассматриваются как чувствительные показатели стабильности мембран эритроцитов (Лукаш А.И. и др., 1996), и их прирост отражает повышение проницаемости эритроцитарных мембран и возрастание прооксидантного потенциала плазмы. Известно, что взаимодействие ВЭГ и  $H_2O_2$ , смесь которых называют "биологическим реактивом Фентона", приводит к образованию гидроксильного радикала и феррил- и перферрил-радикалов гемоглобина, которые являются эффективными индукторами ПОЛ (Владимиров Ю.А. и др., 1991; Теселкин Ю.О. и др., 1997). Совпадение направленности динамики ВЭГ и СПА в плазме крови больных ИБС после АКШ может быть связано с тем, что нарушение стабильности мембран эритроцитов приводит к выходу в плазму крови гема, продуктов его деструкции,  $Fe^{2+}$ , которые вносят существенный вклад в СПА.

Высокое содержание внеэритроцитарного гемоглобина обуславливает снижение биодоступности оксида азота и способствует развитию эндотелиальной дисфункции (Rother R.P. et al., 2005). ВЭГ способен легко окисляться, и его производные усиливают воспалительную реакцию эндотелиальных клеток сосудов, что, в конечном итоге, может стать причиной различных сердечно-сосудистых осложнений (Kaniyas T., Acker J.P., 2009).

### **3.4 Активность миелопероксидазы и арилэстеразная активность параоксоназы в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование**

В плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ, отмечены колебания активности МПО (табл. 12).

Активность МПО в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС,  
перенесших АКШ

Таблица 12

| Группы, сутки   | МПО, плазма (у.е./мг*мин)   | МПО, перикардиальная жидкость (у.е./мг*мин) |
|---|-----------------------------|---|
| Контрольная группа, Ме (25-75-й процентиль)                           | 0,022 (0,018-0,023)         | 0,022 (0,018-0,023)                         |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%_к$              |                             |   |
| В момент операции   | 0,021 (0,016-0,024)         | 0,046 (0,03-0,054)<br>98*                   |
| 1-е сутки   | 0,025 (0,021-0,029)<br>20*  |   |
| 3-е сутки   | 0,018 (0,015-0,023)         |   |
| 5-е сутки   | 0,019 (0,015-0,023)         |   |
| 7-е сутки   | 0,017 (0,014-0,02)<br>-16*  |   |
| 10-е сутки  | 0,021 (0,019-0,028)         |   |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%_к$ , $\Delta\%_1$ |                             |   |
| В момент операции   | 0,022 (0,019-0,024)         | 0,053 (0,046-0,067)<br>171*<br>37*          |
| 1-е сутки   | 0,026 (0,023-0,028)<br>27*  |   |
| 3-е сутки   | 0,016 (0,014-0,017)<br>-22* |   |
| 5-е сутки   | 0,02 (0,017-0,022)          |   |
| 7-е сутки   | 0,019 (0,013-0,02)          |   |
| 10-е сутки  | 0,019 (0,011-0,02)          |   |

**Примечание:** В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения активности МПО в плазме контрольной группы.

В плазме крови пациентов без ПКТС активность МПО повышалась в 1-е послеоперационные сутки на 20% и снижалась на 7-е послеоперационные сутки на 16% по сравнению с контролем (табл. 12; рис. 29). Активность МПО возрастала также в 1-е послеоперационные сутки на 27% в плазме крови пациентов с синдромом и снижалась на 3-и послеоперационные сутки на 22%.

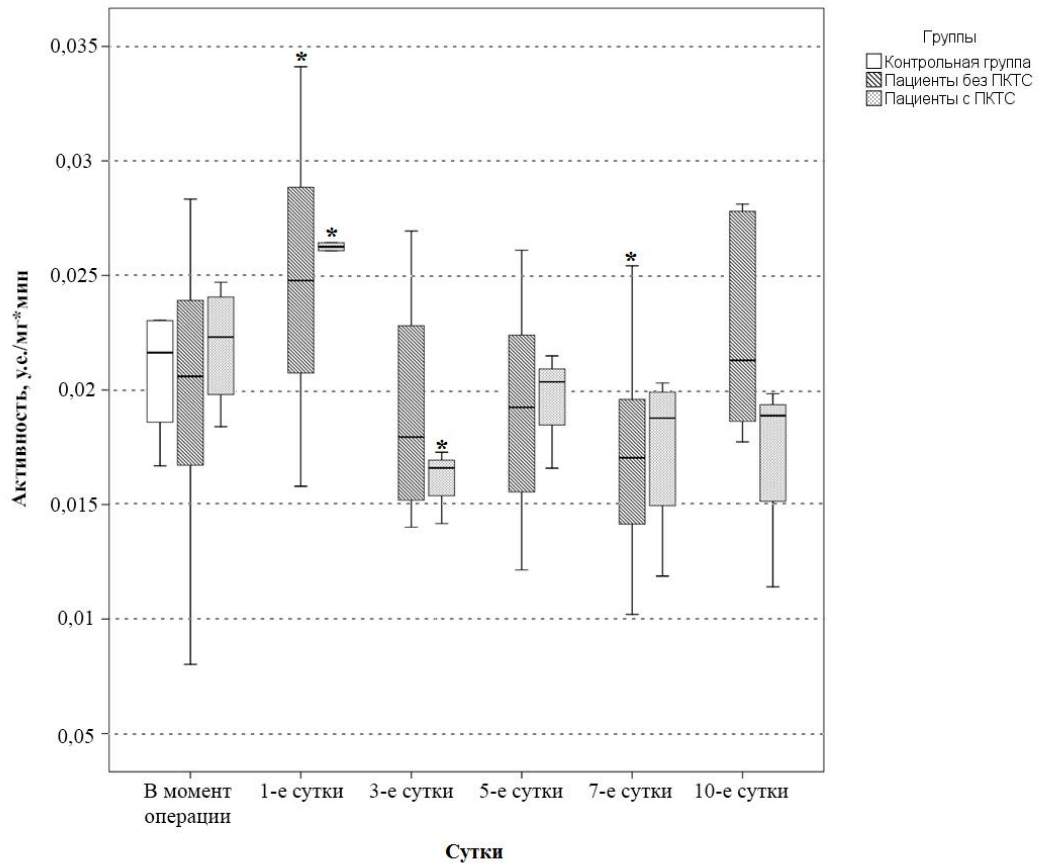


Рис. 29. Активность МПО в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Миелопероксидаза - фермент, связывающий воспаление и окислительный стресс в патогенезе сердечно-сосудистых патологий. Как следует из эпидемиологических исследований, высокие концентрации МПО сопряжены с риском ССЗ (Schindhelm R.K. et al., 2009). Первое эпидемиологическое сообщение о связи между МПО и ССЗ было опубликовано Н. Zhang и соавторами. Исследователями была продемонстрирована высокая корреляционная взаимосвязь между содержанием МПО в лейкоцитах и ишемической болезнью сердца (Zhang H. et al., 2001). S. Baldus и сотрудниками была показана прогностическая значимость уровня МПО по отношению к смертности и инфаркту миокарда. Установлено, что у пациентов с острым коронарным синдромом высокий уровень фермента в плазме коррелировал с риском повтор-

ного инфаркта и летальным исходом (Baldus S. et al., 2003). G. Brevetti и сотрудники установили, что данный показатель отличается высокой прогностической значимостью для оценки фатальных сердечно-сосудистых событий у пациентов с заболеванием периферических артерий (Brevetti G. et al., 2008). Высокий уровень МПО в плазме сопряжен с прогрессированием стеноза внутренней сонной артерии (Exner M. et al., 2006). Источником МПО в плазме являются активированные нейтрофилы. Секреция МПО и последующее образование активных форм хлора может быть обусловлено следующими механизмами: 1) воспаление вызывает рекрутинг и активацию нейтрофилов; 2) модифицированные ЛПНП в интиме вызывают приток моноцитов, которые созревают до макрофагов и секретируют МПО; 3) нейтрофилы связываются с поврежденными участками эндотелия. МПО изначально связывается с эндотелием сосудов, а затем проникает в клетку в субэндотелиальный матрикс (Schindhelm R.K. et al., 2009). Продукты реакции, катализируемой миелопероксидазой, приводят к окислению ЛПНП, которые способствуют развитию атерогенеза за счет накопления холестерина и превращению макрофагов в пенистые клетки. ЛПВП участвуют в оттоке и обратном транспорте холестерина, а также обладают противовоспалительными и антиоксидантными свойствами (Kontush A., Chapman M.J., 2006). В результате активации МПО происходит окисление ЛПВП высокореактивными гипохлоритами, что приводит к дисфункции липопротеинов и изменению их свойств на провоспалительные (Logia V. et al., 2008). Есть подтверждение того, что миелопероксидаза способна снижать биодоступность NO (Schindhelm R.K. et al., 2009). В работе S.R. Alam и сотрудников уровень МПО в плазме повышался через 2 часа после АКШ (Alam S.R. et al., 2015). В исследовании L. Ayaz и сотрудников активность МПО повышалась в лейкоцитах через сутки после операции (Ayaz L. et al., 2010). Известно, что уровень МПО повышается в придатках правых предсердий пациентов с мерцательной аритмией (Rudolph V. et al., 2010).

В перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, активность МПО повышалась по сравнению с контрольной группой (табл. 12; рис. 30). Активность фермента была выше в перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС на 98% по сравнению с контролем. Значения показателя существенно повышались в перикардиальной жидкости пациентов с синдромом и на 171% превосходили контроль. Активность МПО во 2-й группе была выше на 37%, чем в 1-й.

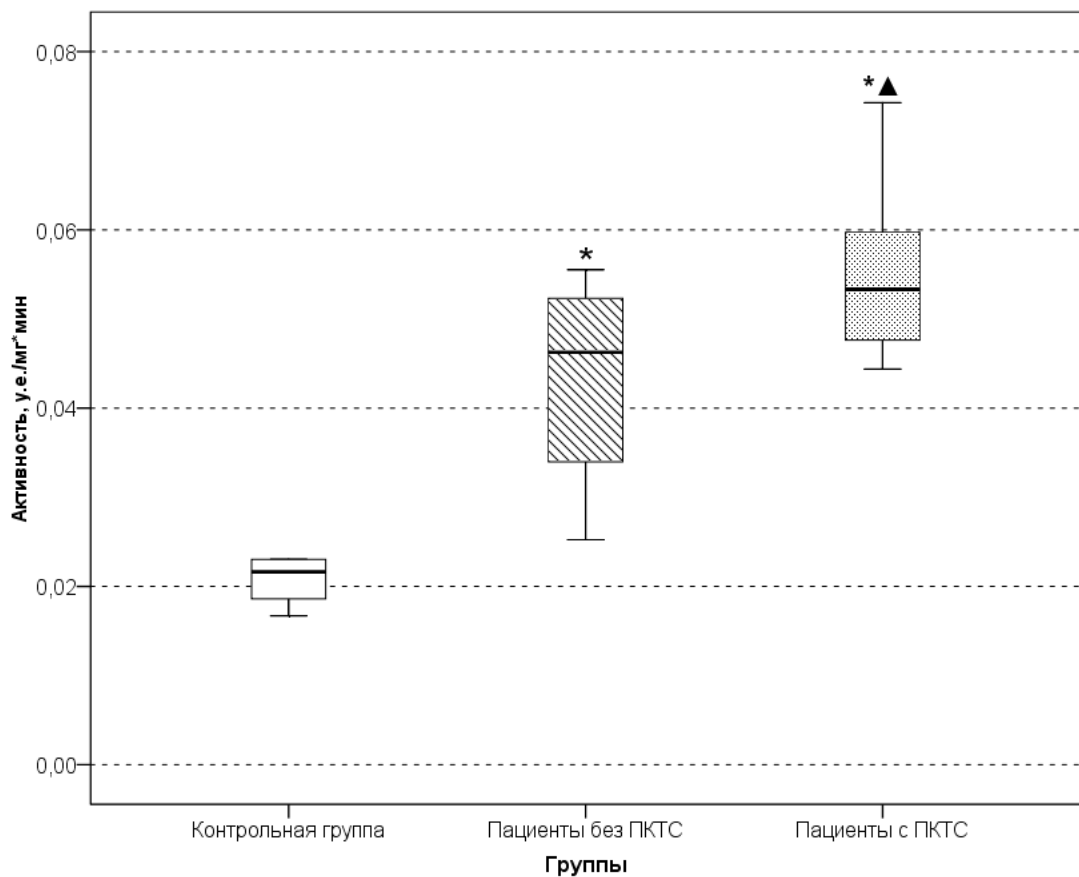


Рис. 30. Активность МПО в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения СПА в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Известно, что миелопероксидаза может инициировать апоптоз кардиомиоцитов через усиление продукции активных форм хлора и инактивацию

антиапоптотических молекул, таких как тиоредоксин. Другим фактором гибели клеток при ишемии/реперфузии является гиперохолестеринемия. Н.Р. Liu и сотрудники обнаружили прямую корреляционную зависимость между МПО и гиперохолестеринемией (Liu H.R. et al., 2008). В эксперименте с животными процессы ишемии и реперфузии способствовали повышению активности МПО в сердечной ткани (Buerke M. et al., 1995; Chandrasekar et al., 2001; Liu et al., 2008). В настоящем исследовании установлена прямая корреляционная взаимосвязь между активностью МПО в плазме и перикардиальной жидкости ( $R=0,9$ ,  $p<0,05$ ) пациентов без ПКТС, а также для пациентов с синдромом ( $R=0,71$ ,  $p<0,05$ ).

Полученные результаты свидетельствовали о снижении арилэстеразной активности параоксоназы в плазме крови обеих групп больных ИБС после АКШ (табл. 13).

Таблица 13

Арилэстеразная активность PON в плазме крови и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки  | PON, плазма (МЕ/мг белка)      | PON, перикардиальная жидкость (МЕ/мг белка) |
|--|--------------------------------|---|
| Контрольная группа, Me (25-75-й перцентиль)                          | 0,0365 (0,025-0,04)            | 0,0365 (0,025-0,04)                         |
| Пациенты без ПКТС, Me (25-75-й перцентиль), $\Delta\%к$              |                                |   |
| В момент операции  | 0,0031 (0,0018-0,0043)<br>-78* | 0,0113 (0,065-0,0236)<br>-52*               |
| 1-е сутки  | 0,0026 (0,0017-0,007)<br>-80*  |   |
| 3-е сутки  | 0,0025 (0,0014-0,0051)<br>-79* |   |
| 5-е сутки  | 0,0068 (0,0051-0,012)<br>-77*  |   |
| 7-е сутки  | 0,003 (0,003-0,0041)<br>-74*   |   |
| 10-е сутки   | 0,0054 (0,0033-0,0116)<br>-80* |   |
| Пациенты с ПКТС, Me (25-75-й перцентиль), $\Delta\%к$ , $\Delta\%^1$ |                                |   |
| В момент операции  | 0,0029 (0,0006-0,0156)<br>-71* | 0,0072 (0,0025-0,01)<br>-76*<br>-49*        |
| 1-е сутки  | 0,0037 (0,0011-0,0056)<br>-85* |   |
| 3-е сутки  | 0,0042 (0,0018-0,0072)<br>-72* |   |
| 5-е сутки  | 0,0037 (0,0024-0,0053)<br>-72* |   |



| Группы, сутки   | PON, плазма (МЕ/мг белка)      | PON, перикардиальная жидкость (МЕ/мг белка) |
|---|--------------------------------|---|
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%^k$ , $\Delta\%^l$ |                                |   |
| 7-е сутки   | 0,0033 (0,0016-0,0197)<br>-72* |   |
| 10-е сутки  | 0,0062 (0,004-0,0279)<br>-61*  |   |

Примечание: В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения арилэстеразной активности PON в плазме контрольной группы.

Арилэстеразная активность PON снижалась на 74-80% в плазме крови пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой (табл. 13; рис. 31). Арилэстеразная активность фермента существенно уменьшалась в плазме крови пациентов с синдромом и была на 61-85% ниже, чем в контроле. Минимальных значений исследуемый показатель достигал в обеих группах в 1-е послеоперационные сутки.

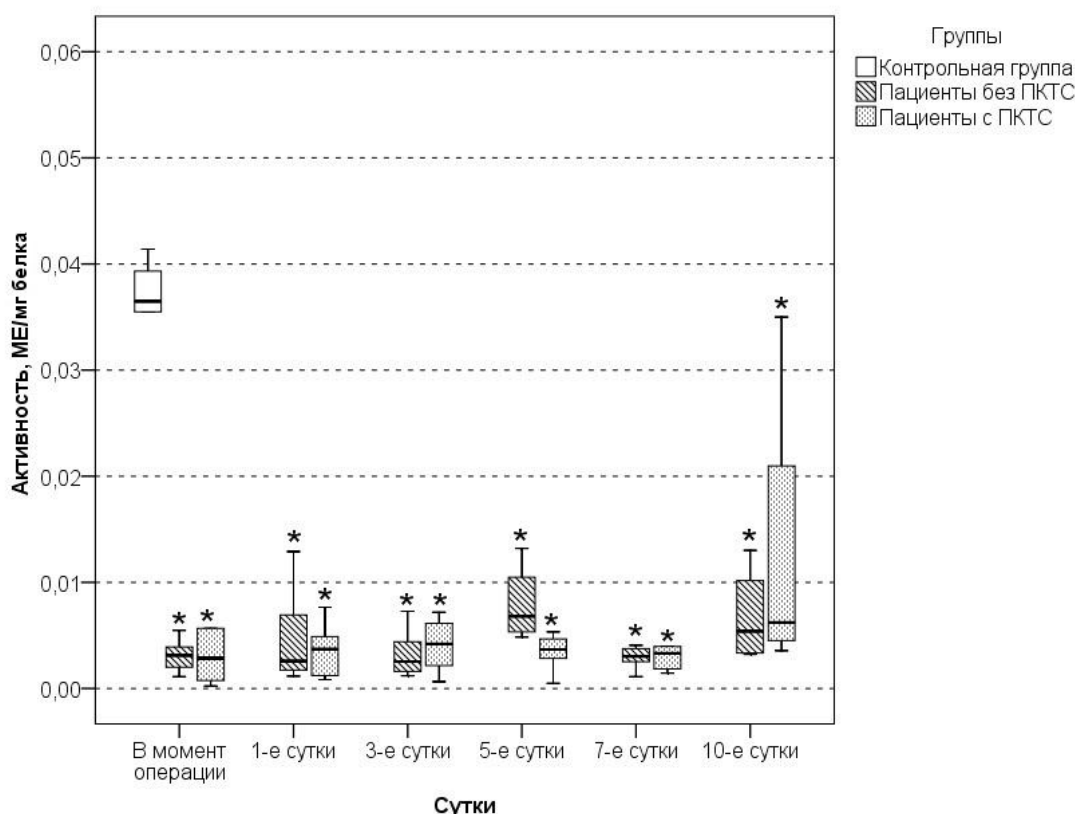


Рис. 31. Арилэстеразная активность PON в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Участие миелопероксидазы в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний тесно связано с функционированием другой группы ферментов - параоксоназ. Известно, что ЛПВП-ассоциированная параоксоназа 1 подавляет свободнорадикальные процессы в липопротеинах, макрофагах и атеросклеротических бляшках, в то время как параоксоназа 2 осуществляет антиоксидантный эффект на клеточном и гуморальном уровнях. Антиатерогенная функция параоксоназ неразрывно связана с их антиоксидантными свойствами (Rosenblat M., Aviram M., 2009). В ряде исследований PON рассматриваются как факторы риска и предикторы развития кардиопатологий. Так, в макрофагах нокаутных мышей содержание окисленных ЛПНП и подверженность атеросклерозу были выше, чем у мышей дикого типа (Oda M.N. et al., 2002). Активность и концентрация PON1 сильно варьирует у людей. Так, в отдельной популяции уровень фермента между индивидуумами может различаться в 13 раз. Помимо полиморфизмов влияние на активность PON1 оказывают приобретенные факторы такие, как диета, образ жизни и сопутствующие патологии (Gupta N. et al., 2009). В работе M. Cheraghi и сотрудников параоксоназная активность фермента снижалась в плазме крови пациентов с ИБС по сравнению с контрольной группой. Исследователи установили обратную корреляционную зависимость между параоксоназной активностью, коэффициентом атерогенности и индексом сердечно-сосудистого риска (Cheraghi M. et al., 2017). Согласно результатам T. Saxena и сотрудников активность параоксоназы снижалась в плазме крови пациентов в состоянии прегипертензии (Saxena T. et al., 2013). Сообщалось, что при инфаркте миокарда содержание и активность PON1 в плазме крови также снижается (Ayub A. et al., 1999). A. Wysocka и сотрудники доказали возможность использования активности PON1 в качестве прогностического маркера для предотвращения развития послеоперационных осложнений у пациентов, перенесших АКШ (Wysocka A. et al., 2014).

Арилэстеразная активность параоксоназы снижалась на 52% в перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС по сравнению с контролем, у паци-

ентов с синдромом – на 76% (табл. 13; рис. 32). Во 2-й группе больных арилэстеразная активность PON была ниже на 49%, чем в 1-й группе.

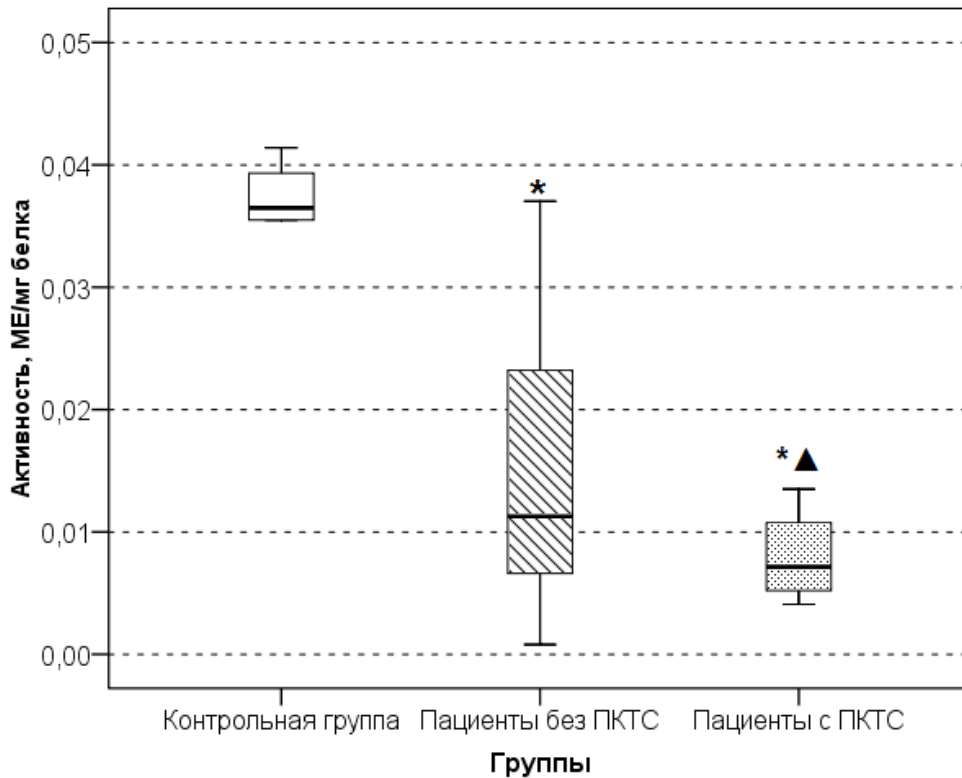


Рис. 32. Арилэстеразная активность PON в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения арилэстеразной активности PON в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Снижение активности параоксоназы в перикардиальной жидкости является фактором риска развития кардиопатологий (Hernandez A.F. et al., 1993). A.F. Hernandez и сотрудники предполагают, что снижение параоксоназной активности может указывать на атеросклеротическую причину инфаркта миокарда (Hernandez A.F. et al., 1993). В настоящем исследовании определена корреляционная взаимосвязь между арилэстеразной активностью PON в плазме и перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС ( $R=0,8$ ,  $p < 0,05$ ) и пациентов с синдромом ( $R=0,87$ ,  $p < 0,05$ ).

Полученные результаты свидетельствуют об активации МПО, что способствует реализации ее провоспалительных свойств в раннем послеоперационном периоде после АКШ. В патофизиологических условиях миелопероксидаза способна напрямую ингибировать ЛПВП-ассоциированную параоксоназу, а также опосредованно через активные формы хлора (Huang Y. et al., 2013; Sutherland W.H. et al., 2004). В настоящем исследовании установлена обратная корреляционная зависимость между арилэстеразной активностью параоксоназы и активностью миелопероксидазы в плазме крови ( $R=-0,9$ ,  $p<0,05$ ) пациентов без ПКТС и для пациентов с синдромом ( $R=-1,0$ ,  $p<0,05$ ). Определена корреляционная зависимость между активностью миелопероксидазы и арилэстеразной активностью PON в перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС ( $R=-0,8$ ,  $p<0,05$ ) и пациентов с синдромом ( $R=-0,6$ ,  $p<0,05$ ). В дальнейшем на основе данных показателей был разработан тест для прогнозирования развития постперикардотомного синдрома. В ходе исследования был рассчитан коэффициент для плазмы крови, характеризующий отношение активности МПО к арилэстеразной активности PON в 1-е послеоперационные сутки. Установлено, если у пациента в первые сутки послеоперационного периода данный коэффициент превышает 5,19, тогда с вероятностью 70% возможно развитие ПКТС после перенесенной реваскуляризации миокарда. Для перикардиальной жидкости такой коэффициент равен 4,27. Если соотношение активностей МПО/PON в перикардиальной жидкости у пациента будет выше 4,27, вероятность развития ПКТС составит 71,4 %. Для исследуемого соотношения активностей ферментов у больных ИБС, перенесших АКШ, установлена высокая прямая корреляционная зависимость между плазмой (первые послеоперационные сутки) и перикардиальной жидкостью (момент операции), коэффициент корреляции Спирмена составил 0,71 ( $p<0,05$ ). Для оценки эффективности прогностических методов были построены графики ROC-кривой (рис. 33). Чувствительность описанного способа для плазмы равна 87,5%, специфичность - 75%, общая точность – 80%. Для перикардиальной жидкости критерии теста равны 71,4%, 80% и 71,4%,

соответственно. AUC (Area Under Curve, площадь под ROC-кривой) теста для плазмы составила 0,875 (95-%-ДИ: 0,76-0,951), для перикардиальной жидкости – 0,779 (95-%-ДИ: 0,505-0,951). Установленные AUC свидетельствуют о высоком качестве описываемого способа (Simundic A.-M. et al., 2012).

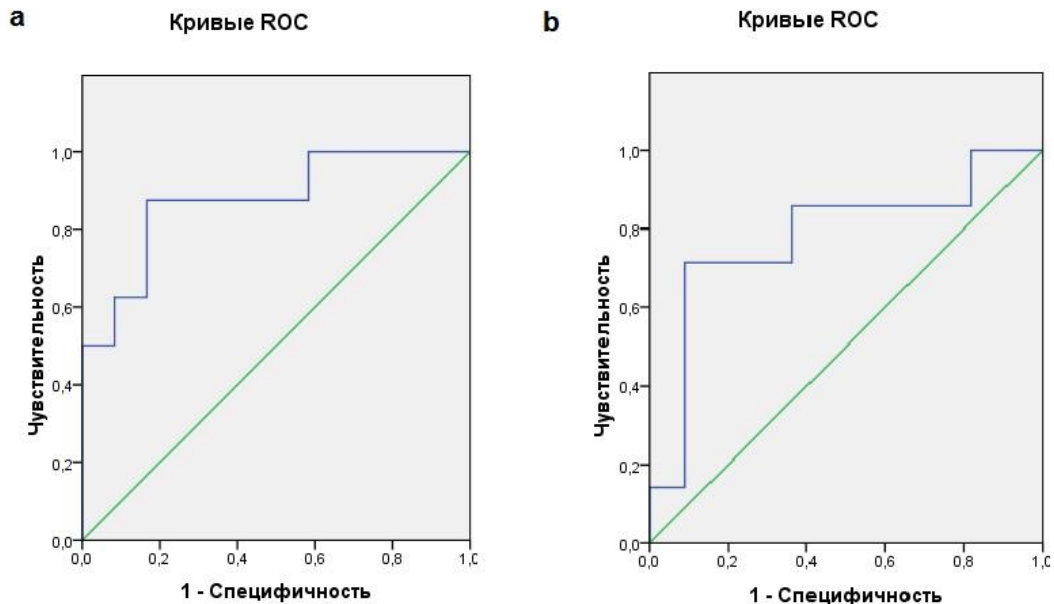


Рис. 33. ROC-кривая теста, предназначенного для прогнозирования ПКТС в плазме (а) и перикардиальной жидкости (b).

Результаты исследования свидетельствуют о нарушении функционирования параоксоназы, а, следовательно, о существенном снижении ее противовоспалительного эффекта как в плазме, так и в перикардиальной жидкости. Известно, что соотношение концентраций МПО и PON может использоваться в качестве предиктора развития атеросклероза и острого коронарного синдрома (Haraguchi Y. et al., 2014; Emami Razavi A. et al., 2013). В настоящей работе показана эффективность использования соотношения активностей исследуемых ферментов для прогнозирования развития ПКТС. Разработанный тест позволит оценивать вероятность развития синдрома уже на ранних послеоперационных сроках и выделить группу риска пациентов для целенаправленной терапии.

### 3.5 Уровень нитритов/нитратов и медиаторов эндотелиальной дисфункции в плазме и эритроцитах больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование.

Содержание стабильных метаболитов оксидаза азота нитритов/нитратов, асимметричного диметиларгинина и активность аргиназы возрастали в плазме и эритроцитах крови обеих групп больных ИБС после АКШ (табл. 14).

Таблица 14

Содержание NOx, ADMA и активность аргиназы в эритроцитах и плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ.

| Группы, сутки   | NOx, плазма (мкмоль/л)      | Аргиназа, эритроциты (МЕ/г Hb)  | ADMA, плазма (мкмоль/л)        |
|---|-----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Контрольная группа, Ме (25-75-й перцентиль)                                 | 19,27 (14,71-23,41)         | 0,57 (0,47-0,73)                | 0,38 (0,35-0,53)               |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й перцентиль), Δ%к                             |                             |                                 |                                |
| В момент операции   | 36,33 (27,53-39,7)<br>83*   | 0,91 (0,75-0,98)<br>48*         | 0,55 (0,47-0,56)               |
| 1-е сутки   | 34,4 (27,32-39,49)<br>77*   | 1,16 (0,98-1,24)<br>87*         | 0,54 (0,48-0,58)<br>24*        |
| 3-е сутки   | 33,38 (27,01-38,48)<br>73*  | 1,31 (1,04-1,38)<br>102*        | 0,56 (0,5-0,58)<br>27*         |
| 5-е сутки   | 34,55 (24,79-40,14)<br>76*  | 1,55 (1,35-1,63)<br>147*        | 0,74 (0,61-0,83)<br>67*        |
| 7-е сутки   | 34,93 (26,07-42,05)<br>80*  | 1,68 (1,56-1,88)<br>174*        |                                |
| 10-е сутки  | 33,38 (26,94-40,23)<br>76*  | 1,04 (1-1,54)<br>123*           |                                |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й перцентиль), Δ% <sup>к</sup> , Δ% <sup>1</sup> |                             |                                 |                                |
| В момент операции   | 38,61 (28,95-48,64)<br>104* | 1,03 (0,96-1,16)<br>75*<br>27*  | 0,66 (0,64-0,68)<br>54*<br>26* |
| 1-е сутки   | 31,36 (26,09-40,41)<br>67*  | 1,94 (1,77-2,01)<br>220*<br>71* | 0,53 (0,43-0,74)               |
| 3-е сутки   | 34,05 (25,76-44,01)<br>81*  | 1,54 (1,4-1,87)<br>176*<br>25*  | 0,59 (0,56-0,62)<br>39*<br>9*  |
| 5-е сутки   | 33,73 (30,77-41,85)<br>86*  | 1,64 (1,38-1,96)<br>188*        | 0,76 (0,74-0,76)<br>76*        |
| 7-е сутки   | 38,83 (30,45-46,73)<br>102* | 1,32 (1,01-1,75)<br>136*        |                                |
| 10-е сутки  | 40,86 (31,48-44,09)<br>95*  | 0,97 (0,91-1,08)<br>70*         |                                |

Уровень NOx повышался на 73-83% в плазме крови пациентов без ПКТС в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой (табл. 14; рис. 34). Содержание нитритов/нитратов существенно возрастало в плазме крови пациентов с синдромом и на 67-104% превосходило контроль.

Максимальных значений исследуемый показатель достигал в момент операции в обеих группах больных.

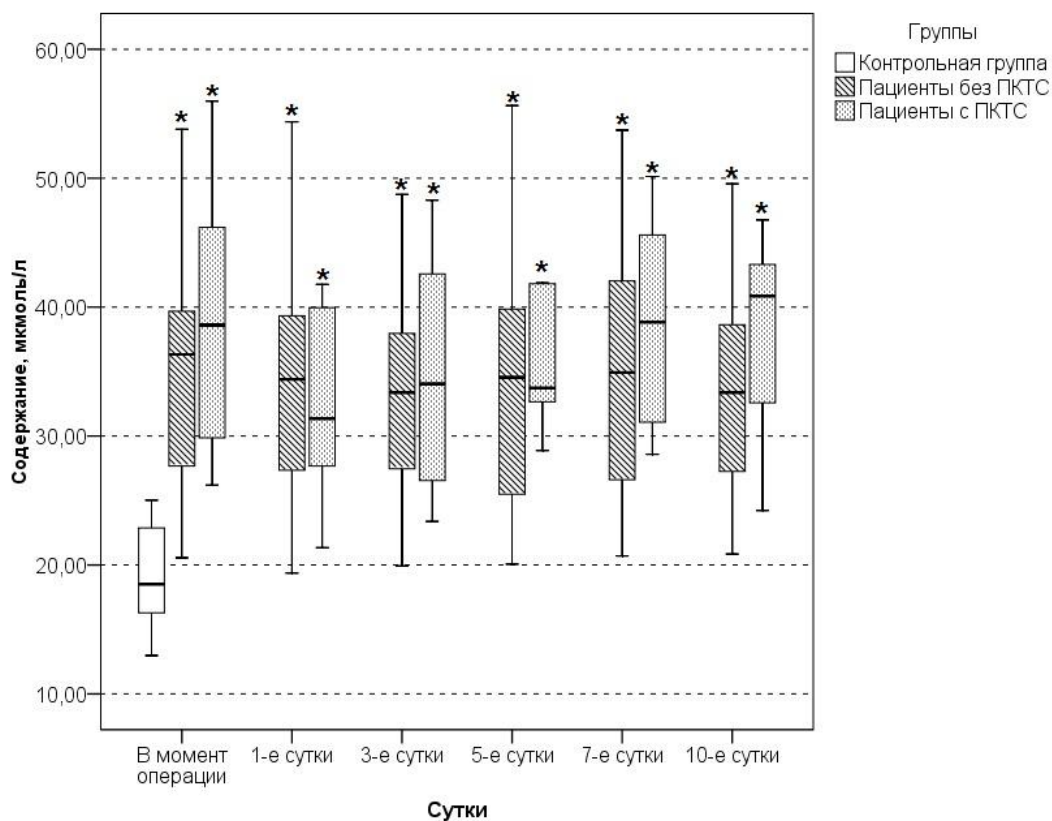


Рис. 34. Содержание NOx в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Многочисленные исследования показали важную и самостоятельную роль сосудистого эндотелия в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (Mudau M. et al., 2012; Steyers C.M., Miller F.J., 2014; Karatzis E.N., 2005). Эндотелий выступает в качестве регулятора тонуса сосудов. Аортокоронарное шунтирование зачастую сопровождается развитием эндотелиальной дисфункции (Balčiūnas M. et al., 2009). Патологические изменения эндотелия обуславливают протромботическое и провоспалительное состояние (Savoia C. et al., 2011), что в дальнейшем способствует возникновению послеоперационных осложнений. Эндотелиальная дисфункция сопряжена с нарушением релаксационных, антиагрегационных свойств, повышенным клеточным рос-

том, пролиферацией гладкомышечных клеток и аномальной проницаемостью сосудов (Vanhoutte P.M. et al., 2009). Основной причиной развития эндотелиальной дисфункции принято считать дефицит оксида азота (NO•). Оксид азота является ведущим гуморальным фактором релаксации сосудов (Yang Z., Ming X.-F., 2013). В норме NO• в небольших количествах синтезируется эндотелиальной NO-синтазой. Недостатку NO• в эндотелии и снижению его биодоступности, с одной стороны, способствует избыточная продукция цитокинов, с другой стороны - повышение активности аргиназы, которая конкурирует с eNOS за общий субстрат, L-аргинин. Кроме того, асимметричный диметиларгинин может непосредственно ингибировать эндотелиальную NO-синтазу и вызывать относительный дефицит NO• (Sibal L. et al., 2010). Несмотря на высокую активность аргиназы и чрезмерный уровень ADMA у больных ИБС, перенесших АКШ, в настоящем исследовании наблюдался прирост содержания нитритов/нитратов в плазме крови в течение всего периода наблюдения. Известно, что аргиназа конкурирует с NOS за L-аргинин и таким образом способна регулировать продукции NO•. Однако, Km аргиназы слишком высока (>1 ммоль/л) по сравнению с Km NOS (от 2 до 20 мкмоль/л), потому прямая конкуренция за субстрат в данном случае маловероятна. Но индуцируемая NO-синтаза способна нитрозилировать остатки цистеина аргиназы, снижая ее Km и повышая конкурентноспособность. L. Santhanam и сотрудники показали, что при повышении активности обоих ферментов происходит ингибирование эндотелиальной NO-синтазы и развитие эндотелиальной дисфункции (Santhanam L. et al., 2007). Стимулируют экспрессию индуцируемой NOS такие провоспалительные цитокины, как интерлейкин-1β и ФНО-α. Индуцируемая NO-синтаза интенсивно экспрессируется в условиях гипоксии (Rath M. et al., 2014). Известно также, что индуцируемая изоформа в меньшей степени подвержена ингибированию со стороны ADMA в сравнении с эндотелиальной и нейрональной NOS. Кроме того, при патологических условиях наибольшая концентрация ADMA отмечается в эндотелиальных клетках, что объясняет снижение активности эндотели-



альной NOS на 70%. Поэтому при интенсификации системного воспалительного ответа основной вклад в повышение уровня NO вносит индуцируемая NO-синтаза (Trocha M. et al., 2010).

Наблюдалось повышение на 48-174% активности аргиназы в эритроцитах крови пациентов без ПКТС в течение 10-ти послеоперационных суток по сравнению с контролем (табл. 14; рис. 35). В эритроцитах крови пациентов с синдромом активность аргиназы возрастала на 70-220% в течение всего периода наблюдения. Максимальных значений исследуемый показатель достигал в 1-й группе больных на 7-е послеоперационные сутки, во 2-й группе – в 1-е сутки послеоперационного периода. Во 2-й группе больных активность аргиназы была выше в момент операции на 27%, в 1-е послеоперационные сутки - на 71%, на 3-и послеоперационные сутки - на 25%, чем в 1-й группе.

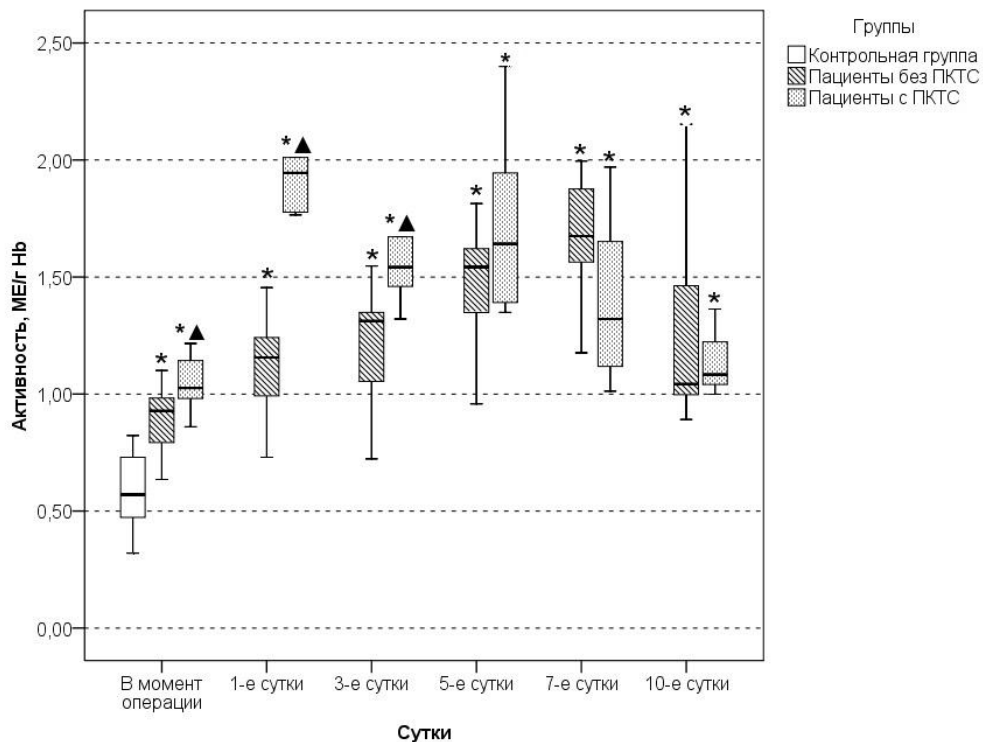


Рис. 35. Активность аргиназы в эритроцитах больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Активация аргиназы сопряжена с механизмом ишемии/реперфузии, который является пусковым фактором при развитии СВО. В условиях гипоксии c-jun-киназа активирует транскрипционный фактор AP-1 и протеинкиназу-C- $\alpha$ , что, в конечном итоге, переводит транспортер аргинина CAT2 в активное состояние и ингибирует конститутивно функционирующие изоформы NO-синтаз (эндотелиальную и нейрональную NOS). Следовательно, активность аргиназы в отсутствии конкуренции за L-аргинин повышается. При ишемии происходит нарушение сарколемной целостности, что приводит к высвобождению внутриклеточных молекул, в том числе, и энхансерных РНК, которые активируют шеддазу (TACE) и тем самым опосредуют секрецию ФНО- $\alpha$ . ФНО- $\alpha$ , в свою очередь, усиливает экспрессию и активность аргиназы (Schlüter K.-D. et al., 2015). В работе С. Jung и сотрудников показано повышение экспрессии аргиназы-1 в ишемизированном миокарде (Jung C. et al., 2010).

Установлено повышение на 24%, 27% и 67% уровня ADMA в плазме крови пациентов без ПКТС на 1-е, 3-и и 5-е послеоперационные сутки по сравнению с контрольной группой (табл. 14; рис. 36). Содержание ADMA заметно возросло в плазме крови пациентов с синдромом в момент операции, 3-и и 5-е послеоперационные сутки и было на 54%, 39% и 76% выше контроля. Значения исследуемого показателя были выше на 26% во 2-й группе в момент операции и на 9% на 3-и послеоперационные сутки, чем в 1-й группе.

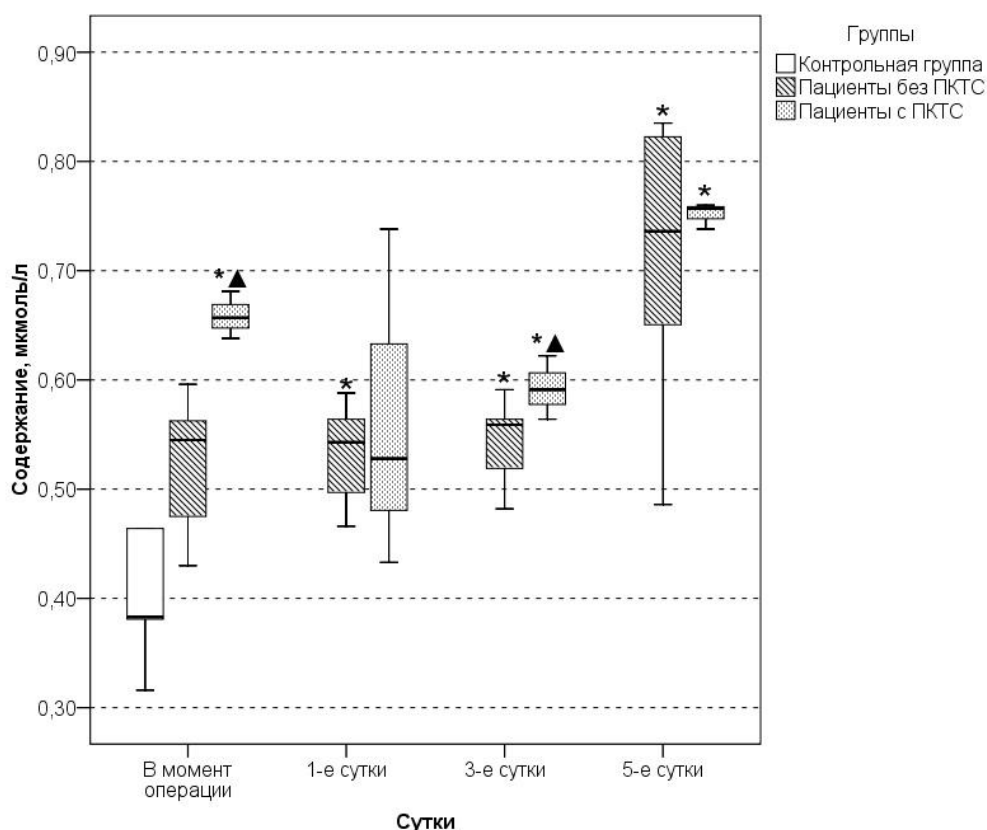


Рис. 36. Содержание ADMA в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Предполагается, что АКШ может инициировать накопление ADMA. В утилизации асимметричного диметиларгинина главную роль играют диметиларгинин-диметиламиногидролазы (ДДАГ). Развитие окислительного стресса, который возникает в ответ на хирургическую травму, введение протамина и анестезию, ингибирует ДДАГ и приводит к повышению концентрации ADMA (Sydow K., Böger R.H., 2012). D. Plicner и сотрудники в своем исследовании также отмечают повышение концентрации асимметричного диметиларгинина у больных, перенесших АКШ, с момента операции по 7-е сутки (Plicner D. et al., 2014). Доказано, что высокий уровень ADMA может служить предиктором послеоперационных осложнений (Plicner D. et al., 2014). В настоящем исследовании обнаружена прямая корреляционная зависимость

между активностью аргиназы в эритроцитах и содержанием ADMA в плазме пациентов без ПКТС ( $R=0,7$ ,  $p<0,05$ ). Установлена обратная корреляционная взаимосвязь между активностью аргиназы в эритроцитах и арилэстеразной активностью параоксоназы в плазме больных 1-й группы ( $R=-0,87$ ,  $p<0,05$ ) и больных 2-й группы ( $R=-1,0$ ,  $p<0,05$ ).

Известно, что аргиназа участвует в «разобщении» эндотелиальной NO-синтазы, что приводит к снижению уровня оксида азота, образованию высокоактивного пероксинитрита и окислению ЛПВП и ЛПНП (Zhu C. et al., 2017). Между концентрацией NO и содержанием окисленных ЛПНП существует обратная корреляционная взаимосвязь (Gad M.Z. et al., 2016). Окисленные ЛПНП и продукты ПОЛ (в частности, 4-гидроксиноненаль) ингибируют арилэстеразную активность параоксоназы (Aviram M. et al., 1998; Nguyen, Sok, 2003). Липиды с отрицательным зарядом, количество которых значительно возрастает в условиях окислительного стресса, также способны ингибировать PON (Nguyen S.D., Sok D.-E., 2004). Известно также, что повышение ADMA сопровождается снижением активности PON (Bayrak T. et al., 2014). Нами был разработан тест для прогнозирования развития постперикардотомного синдрома. В ходе исследования был рассчитан коэффициент, характеризующий отношение активности аргиназы к арилэстеразной активности параоксоназы, в 1-е послеоперационные сутки. Установлено, если у пациента в первые сутки послеоперационного периода данный коэффициент превышает 0,39, тогда с вероятностью 67% возможно развитие ПКТС после перенесенной реваскуляризации миокарда. Для оценки эффективности прогностического метода был построен график ROC-кривой (рис. 37). Чувствительность описанного способа прогнозирования постперикардотомного синдрома равна 75%, специфичность – 69,2%, общая точность – 75%. Площадь под ROC-кривой составила 0,779 (95% ДИ 0,579-0,981), что свидетельствует о высоком качестве описываемого способа.

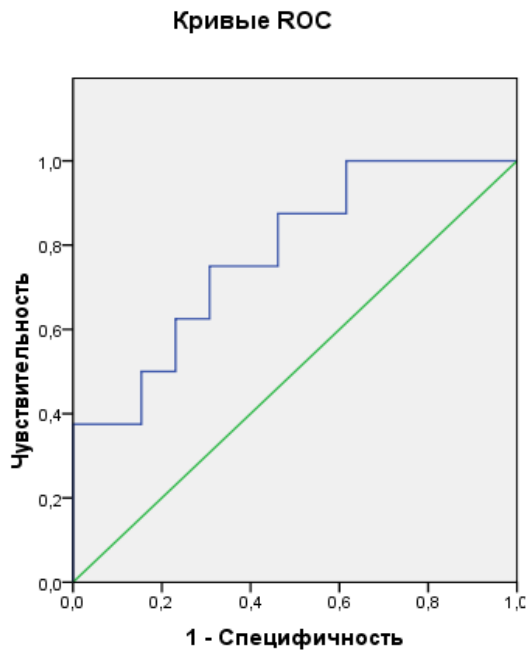


Рис. 37. ROC кривая теста, предназначенного для прогнозирования ПКТС.

Разработанный в ходе исследования тест позволяет существенно сократить сроки прогнозирования ПКТС и выделить группу риска для целенаправленной терапии.

### **3.6 Уровень провоспалительных цитокинов в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших аортокоронарное шунтирование**

Изменения уровня ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ, имели разнонаправленную динамику (табл. 13). Содержание ИЛ-1 $\beta$  повышалось в плазме крови пациентов без ПКТС, также наблюдалось повышение уровня ИЛ-6 и ИЛ-8, в то время как концентрация ИЛ-1 $\beta$  у пациентов с синдромом снижалась.

Содержание ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 в плазме и перикардиальной жидкости  
больных ИБС, перенесших АКШ

| Группы, сутки   | ИЛ-1 $\beta$ , плазма<br>(пкг/мл) | ИЛ-6, плазма<br>(пкг/мл)             | ИЛ-6, перикар-<br>диальная жид-<br>кость<br>(пкг/мл) | ИЛ-8, плазма<br>(пкг/мл)    | ИЛ-8, перикар-<br>диальная жид-<br>кость<br>(пкг/мл) |
|---|-----------------------------------|--------------------------------------|--|-----------------------------|--|
| Контрольная группа, Ме (25-75-й процентиль)                           | 2,56 (1,61-2,89)                  | 1,22 (0,89-1,78)                     | 1,22 (0,89-1,78)                                     | 4,75 (3,69-5,51)            | 4,75 (3,69-5,51)                                     |
| Пациенты без ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%_k$              |                                   |                                      |  |                             |  |
| В момент операции   | 2,44 (1,22-2,56)                  | 2,4 (1,65-3,8)<br>91*                | 45 (37,93-76,47)<br>3554*                            | 4 (3,25-6)                  | 18,14 (10,31-58,81)<br>607*                          |
| 1-е сутки   | 2,28 (2,11-3,19)                  | 51,78 (42,5-77,11)<br>4048*          |  | 6,25 (4,88-6,75)<br>28*     |  |
| 3-е сутки   | 3,33 (2,22-4,67)<br>30*           | 32,1 (23,33-50,97)<br>2589*          |  | 10,25 (8,5-12,88)<br>129*   |  |
| 5-е сутки   | 2,83 (2,69-3,22)<br>11*           | 9,6 (6,23-14,27)<br>650*             |  | 10,38 (9,82-13,07)<br>143*  |  |
| Пациенты с ПКТС, Ме (25-75-й процентиль), $\Delta\%_k$ , $\Delta\%_l$ |                                   |                                      |  |                             |  |
| В момент операции   | 0,89 (0,57-1,11)<br>-63*<br>-59*  | 4,6 (2,6-6,98)<br>238*<br>77*        | 33,5 (31,3-99,89)<br>3566*                           | 6,38 (4,22-7,88)            | 32,66 (10,63-58,67)<br>635*                          |
| 1-е сутки   | 1,06 (0,92-1,28)<br>-54*<br>-51*  | 78,78 (61,25-113,94)<br>6048*<br>48* |  | 5,5 (4,47-6,53)             |  |
| 3-е сутки   | 2,22 (1,67-2,67)<br>-34*          | 37,85 (30,78-42,63)<br>2517*         |  | 9,31 (6,47-11,41)<br>96*    |  |
| 5-е сутки   | 2,78 (2,67-3,22)                  | 30,8 (26,08-35,98)<br>2071*<br>191*  |  | 11,13 (10,41-19,78)<br>198* |  |

Примечание: В качестве контроля для перикардиальной жидкости использовали значения ИЛ-6 и ИЛ-8 в плазме контрольной группы.

Уровень ИЛ-1 $\beta$  повышался в плазме крови пациентов без ПКТС на 3-и послеоперационные сутки на 30%, на 5-е послеоперационные сутки – на 11% (табл. 15; рис. 38) по сравнению с контрольной группой. Содержание цитокина существенно снижалось в плазме крови пациентов с синдромом: в момент операции на 63%, в 1-е послеоперационные сутки - на 54%. Уровень исследуемого показателя был ниже во 2-й группе в момент операции на 59%, в

1-е послеоперационные сутки – на 51%, на 3-и послеоперационные сутки – на 34%, чем в 1-й группе.

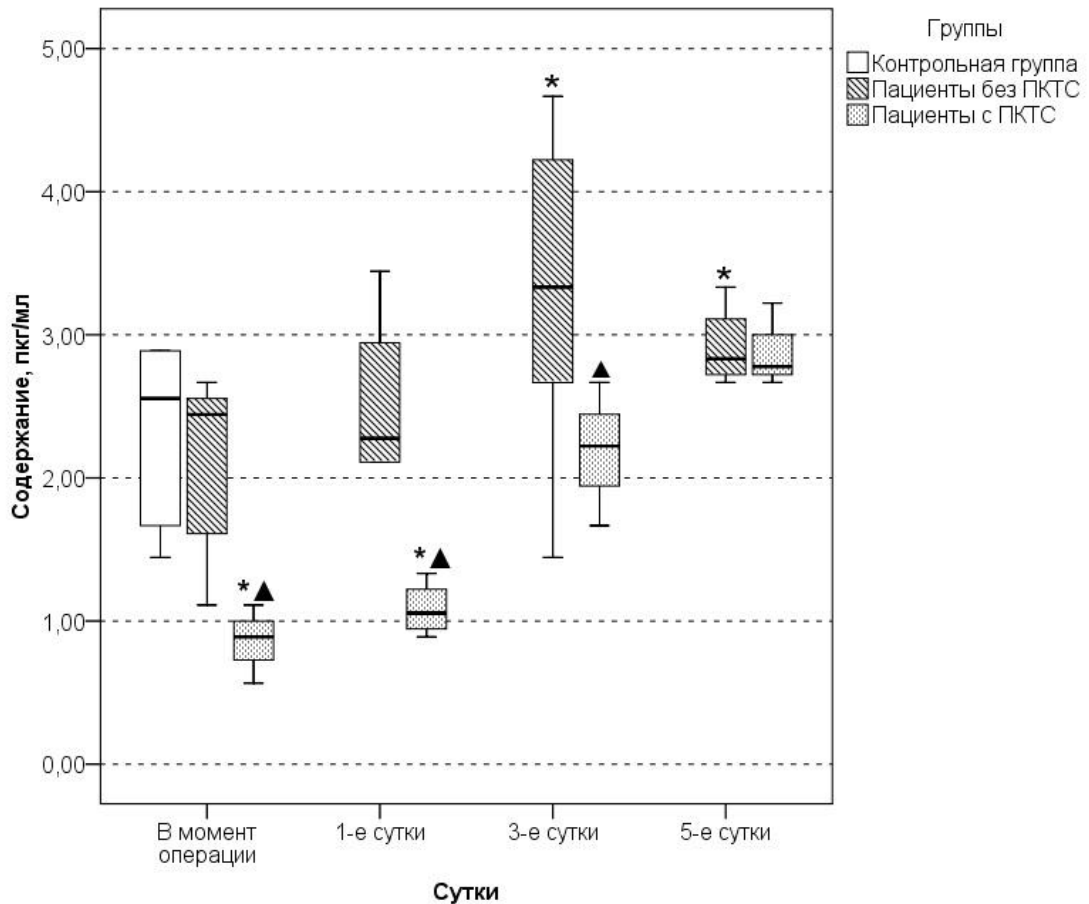


Рис. 38. Содержание ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Интерлейкин-1 $\beta$  является одним из наиболее важных медиаторов воспалительного ответа, который индуцирует каскад провоспалительных эффекторных молекул. В последнее время растет количество работ, посвященных роли интерлейкина-1 $\beta$  в сердечно-сосудистых патологиях (Vicenová V. et al., 2009). ИЛ-1 в процессе атерогенеза стимулирует атероматозную нестабильность бляшек через активацию матриксных металлопротеиназ (Tipping P.G., Hancock W.W., 1993). Проатерогенный потенциал цитокина объясняется способностью модулировать клеточную адгезию и последующую инфильтрацию

моноцитов в субэндотелиальное пространство. Согласно Н. Kirii и сотрудникам дефицит ИЛ-1 $\beta$  уменьшает выраженность атеросклероза у мышей с недостатком аполипопротеина E за счет снижения экспрессии молекулы адгезии сосудистых клеток (VCAM-1) и моноцитарного хемотаксического белка-1 в аорте (Kirii H. et al., 2003). Данный цитокин оказывает влияние на метаболизм холестерина и сывороточного амилоида A, изменения содержания которых ассоциированы с развитием атеросклероза (Vicenová V. et al., 2009). Пациенты, перенесшие инфаркт миокарда, имели высокие уровни ИЛ-1 и антогониста соответствующего рецептора (Guillen I. et al., 1995; Patti G. et al., 2004). Показано, что ИЛ-1 $\beta$  усиливает экспрессию тканевого фактора и индуцирует прокоагулянтную активность (Schwager I., Jungi T.W., 1993). Некоторые полиморфизмы гена ИЛ-1 $\beta$  сопряжены с высокой частотой инфаркта миокарда в молодом возрасте (Iacoviello L. et al., 2005). В ранних исследованиях сообщалось об увеличении уровней ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  при миокардите, индуцированным вирусом Коксаки (Okuno M. et al., 2000). ИЛ-1-опосредованная активация индуцибельной NO-синтазы вызывает сверхпродукцию оксида азота и отрицательный инотропный эффект на миокардиальную ткань (Nakano A. et al., 2001). Интерлейкин-1 $\beta$  может связываться с рецепторами на поверхности дендритных клеток и стимулировать секрецию цитокинов, в том числе ИЛ-12, необходимого для активации аутореактивных CD4 $^{+}$  клеток, которые ответственны за развитие аутоиммунного миокардита (Eriksson U. et al., 2003). Результаты исследований, посвященных влиянию АКШ на изменение уровня ИЛ-1 $\beta$ , разнятся. Согласно данным N. Lahat и сотрудников содержание исследуемого цитокина повышалось в плазме крови пациентов в послеоперационном периоде по сравнению с контролем (Lahat N. et al., 1992). С другой стороны, в работе M.S. Chew и сотрудников уровень ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови пациентов, перенесших АКШ с применением модифицированной ультрафильтрации, снижался по сравнению с дооперационными значениями, в то время как содержание антогониста рецептора ИЛ-1 повышалось (Chew M.S. et al., 2002). Интенсификация ПОЛ и накопление продук-



тов окисления оказывают ингибирующий эффект на экспрессию ИЛ-1 $\beta$ . L.G. Fang и сотрудники доказали, что избыточное содержание окисленных ЛПНП обуславливает снижение экспрессии данного цитокина (Fang L.G. et al., 1991).

Содержание ИЛ-6 в плазме крови пациентов без ПКТС повышалось на 91-4048% в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой на (табл. 15; рис. 39). Уровень цитокина в плазме крови пациентов с синдромом существенно возрастал и на 238-6048% превышал контроль. Значения исследуемого показателя во 2-й группе больных были выше на 77% в момент операции, в 1-е послеоперационные сутки - на 48%, на 5-е послеоперационные сутки - на 191%, чем в 1-й группе.

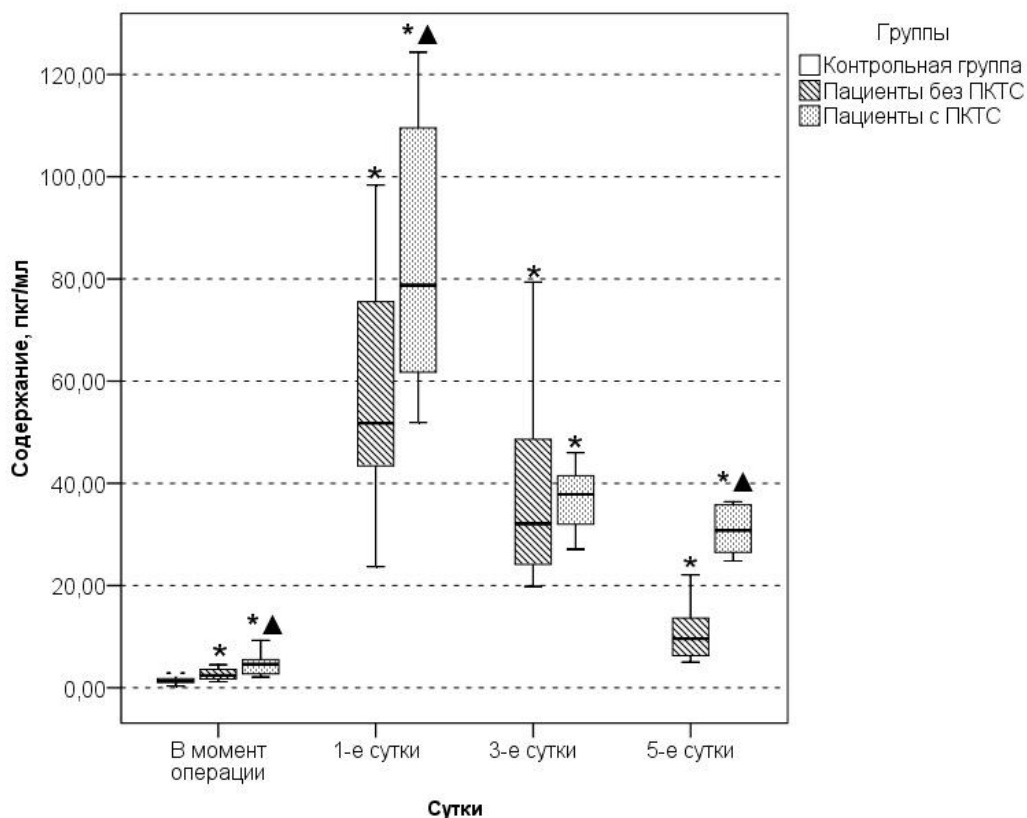


Рис. 39. Содержание ИЛ-6 в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ ; ▲ - отмечены статистически достоверные различия между пациентами с ПКТС и пациентами без синдрома.

Интерлейкин-6 обладает плейотропным эффектом и участвует в патогенезе таких кардиопатологий, как ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, вирусный миокардит, гипертрофия и миксома сердца (Kanda T., Takahashi T., 2004). Сообщалось, что изменения уровня ИЛ-6 наряду с другими провоспалительными цитокинами в плазме сопряжены с неблагоприятным исходом для пациентов с нестабильной стенокардией. Концентрация ИЛ-6 коррелирует с тяжестью заболевания и может служить предиктором последующих осложнений (Biasucci L.M. et al., 1999). Цитокин может принимать участие в дестабилизации и разрушении атеросклеротической бляшки за счет регуляции экспрессии матриксных металлопротеиназ (Schuett H. et al., 2009). Изменения концентрации ИЛ-6 коррелируют с дисфункцией левого желудочка и активацией симпатической и ренин-ангиотензиновой систем (Roig M.E. et al., 2004). В ранних исследованиях отмечалась сверхэкспрессия интерлейкина-6 у пациентов с сердечной недостаточностью (Plenz G. et al., 2001). Усиление экспрессии данного цитокина наблюдалось также при остром инфаркте миокарда (Deten A. et al., 2002). ИЛ-6 предотвращает повреждения миокарда у мышей с вирусным миокардитом. Кроме того, он модулирует ранний иммунный ответ, стимулируя активацию В-клеток, макрофагов и NK-клеток (Savvatis K. et al., 2014). Результаты нашей работы подтверждаются данными литературы. Согласно В. Stojkovic и сотрудникам концентрация ИЛ-6 повышается в плазме крови пациентов, перенесших АКШ, через 6 часов после операции по сравнению с исходным уровнем (Stojkovic B. et al., 2011). А. Sedighinejad и сотрудники также сообщали о повышении уровня ИЛ-6 в плазме после АКШ, максимальных значений исследуемый показатель достигал в 1-е послеоперационные сутки (Sedighinejad A. et al., 2016). Высокое содержание цитокина значительно увеличивает вероятность развития фибрилляции предсердий у больных, перенесших АКШ (Ucar H.I. et al., 2007). N. Sneffjellå и T. Lappegård сообщали об увеличении уровня ИЛ-6 в плазме крови пациентов с ПКТС, но статистически достоверных отличий по сравнению с группой больных без синдрома об-

наружено не было (Snefjellå N., Lappegård T., 2012). Аналогичные результаты получены в работе М. Jaworska-Wilczynska и сотрудников. Авторы также сообщали о том, что уровень ИЛ-6 в плазме пациентов с ПКТС через 5 дней после операции превышает исходные значения данного показателя в плазме тех же больных более, чем в 4 раза (Jaworska-Wilczynska M. et al., 2014).

В момент операции уровень ИЛ-6 в перикардиальной жидкости пациентов без ПКТС и пациентов с синдромом был выше на 3554% и 3566%, чем в контрольной группе (рис. 40).

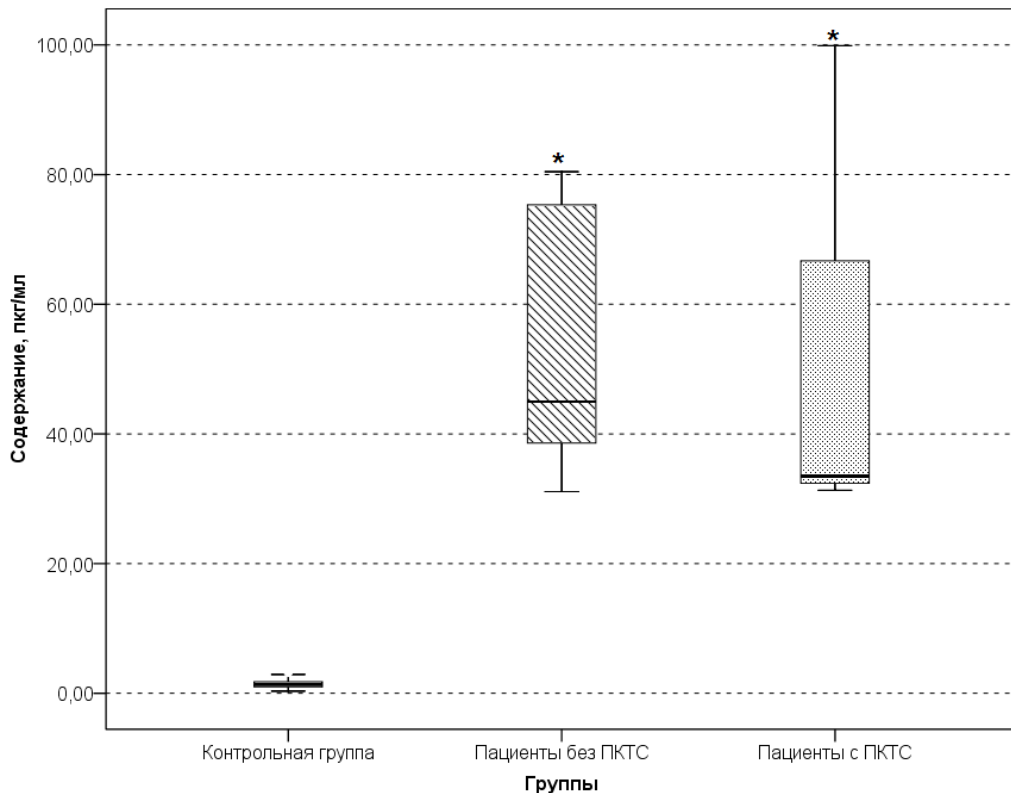


Рис. 40. Содержание ИЛ-6 в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения ИЛ-6 в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем.

Механизмы активации и патофизиологическая роль провоспалительных цитокинов при заболеваниях перикарда по-прежнему не раскрыты. Известно,

что фактор роста эндотелия (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), интерлейкин-1 $\beta$ , фактор некроза опухоли- $\alpha$  и интерлейкин-6 стимулируют накопление перикардального экссудата за счет усиления воспалительного ответа (Karatosios K. et al., 2012; Shikama N. et al., 2000). Нарушения в регуляции цитокинового каскада могут способствовать образованию фиброза при уплотнении перикарда (Ristic A.D. et al., 2013). В ранних исследованиях показано, что уровень ИЛ-6 в перикардальной жидкости пациентов с различными формами перикардита значительно выше значений данного показателя в плазме (Pankuweit S. et al., 2000; Ristic A.D. et al., 2013). Исследователи предположили, что уровень провоспалительных цитокинов может служить диагностическим маркером для различных форм перикардитов. Так, высокая концентрация ИЛ-6 свидетельствует об аутореактивной форме перикардита (Pankuweit S. et al., 2000; Ristic et al., 2013). D. Kaireviciute и сотрудники оценили изменения содержания С-реактивного белка и ИЛ-6 в периферической крови и перикардальной полости у пациентов после аортокоронарного шунтирования. Концентрации ИЛ-6 и С-реактивного белка были выше в полости перикарда больных с развившейся фибрилляцией предсердий, чем у больных с нормальным синусовым ритмом в послеоперационном периоде. Авторы особо отметили значимость интракардиальных воспалительных маркеров для прогнозирования развития послеоперационных осложнений на сердце (Kaireviciute D. et al., 2010). В нашем исследовании обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем интерлейкина-6 в плазме и перикардальной жидкости пациентов без ПКТС ( $R=0,7$ ,  $p<0,05$ ).

Уровень ИЛ-8 повышался в плазме крови пациентов без ПКТС в 1-е послеоперационные сутки на 28%, на 3-и послеоперационные сутки - на 129%, на 5-е послеоперационные сутки – на 143%, по сравнению с контрольной группой (табл. 15; рис. 41). Содержание цитокина существенно возрастало в плазме крови пациентов с синдромом и на 3-и послеоперационные сутки на 96%, на 5-е послеоперационные сутки – на 198% превышало контроль.

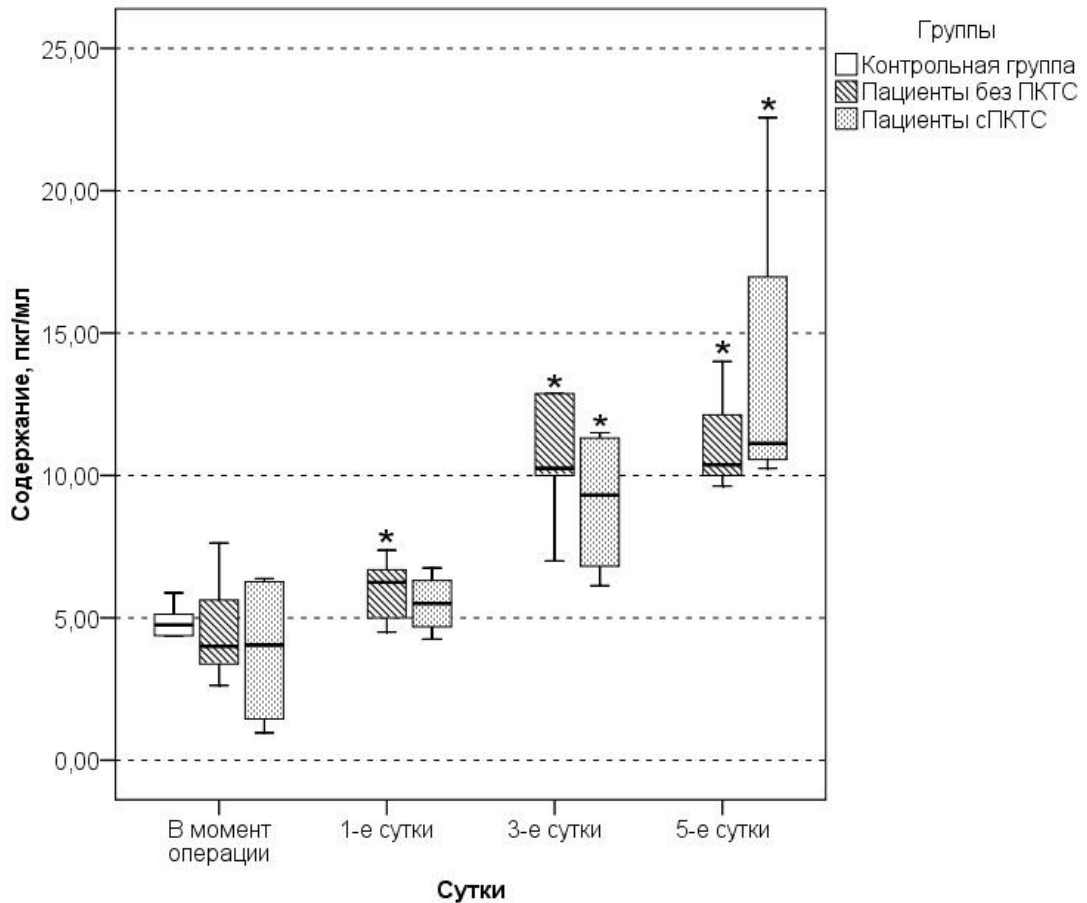


Рис. 41. Содержание ИЛ-8 в в плазме крови больных ИБС, перенесших АКШ. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$ .

Известно, что интерлейкин-8 будучи хемокином участвует в патогенезе атеросклероза и других сердечно-сосудистых заболеваний (Apostolakis S. et al., 2009). H.G.Rus и сотрудники первыми сообщили о высоком уровне ИЛ-8 в атеросклеротической артериальной стенке сосудов. Иммуноферментный анализ показал, что концентрация хемокина была выше в фиброзных бляшках по сравнению с нормальной интимой (Rus H.G. et al., 1996). P.D. N'Guessan и сотрудники доказали, что окисленные ЛПНП индуцируют секрецию ИЛ-8 и моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 в культуре эндотелиальных клеток (Dje N.G.P. et al., 2009). T. Ito и сотрудники сообщили о способности ангиотензина II стимулировать продукцию интерлейкина-8 и таким образом усиливать атеросклеротический процесс (Ito T. et al., 2002). В

исследовании E. Elmas и сотрудников наблюдалось повышение уровня тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 и ИЛ-8 в плазме крови пациентов с фибрилляцией желудочков (Elmas E. et al., 2007). A. Dominguez-Rodriguez оценили уровень данного хемокина в плазме крови пациентов с острым инфарктом миокарда после чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ). Авторы пришли к выводу, что повышение концентрации ИЛ-8 в плазме после ЧКВ является предиктором развития сердечной недостаточности у пациентов с инфарктом миокарда (Dominguez-Rodriguez A. et al., 2006). В исследованиях, посвященных состоянию цитокиновой сети у пациентов, перенесших АКШ, отмечалось повышение уровня ИЛ-8 уже через 6 часов после операции (Shinde S. et al., 2006). F. Onorati и сотрудники установили, что линейное коронарное шунтирование стимулирует активацию эндотелия и секрецию цитокинов. Так, содержание ИЛ-8 повышалось в плазме крови после оперативного вмешательства, и максимальных значений данный показатель достигал через 12 часов после линейного коронарного шунтирования (Onorati F. et al., 2010). В исследовании (Jaworska-Wilczyńska M. et al., 2012) наблюдалось повышение концентрации данного хемокина через 5 дней после АКШ по сравнению с контрольным и с исходным уровнем. Авторы пришли к выводу, что изменения уровня ИЛ-8 в плазме пациентов, перенесших АКШ, могут служить предиктором развития постперикардиотомного синдрома. P. Vasileiou и сотрудники сообщили о прогностической значимости уровня интерлейкина-8 в плазме, что может быть использованы для предупреждения идиопатического перикардита (Vasileiou P. et al., 2014).

В момент операции наблюдалось повышение уровня ИЛ-8 в перикардиальной жидкости 1-й группы больных на 607%, во 2-й группе – на 635% по сравнению с контролем (табл. 15; рис. 42).

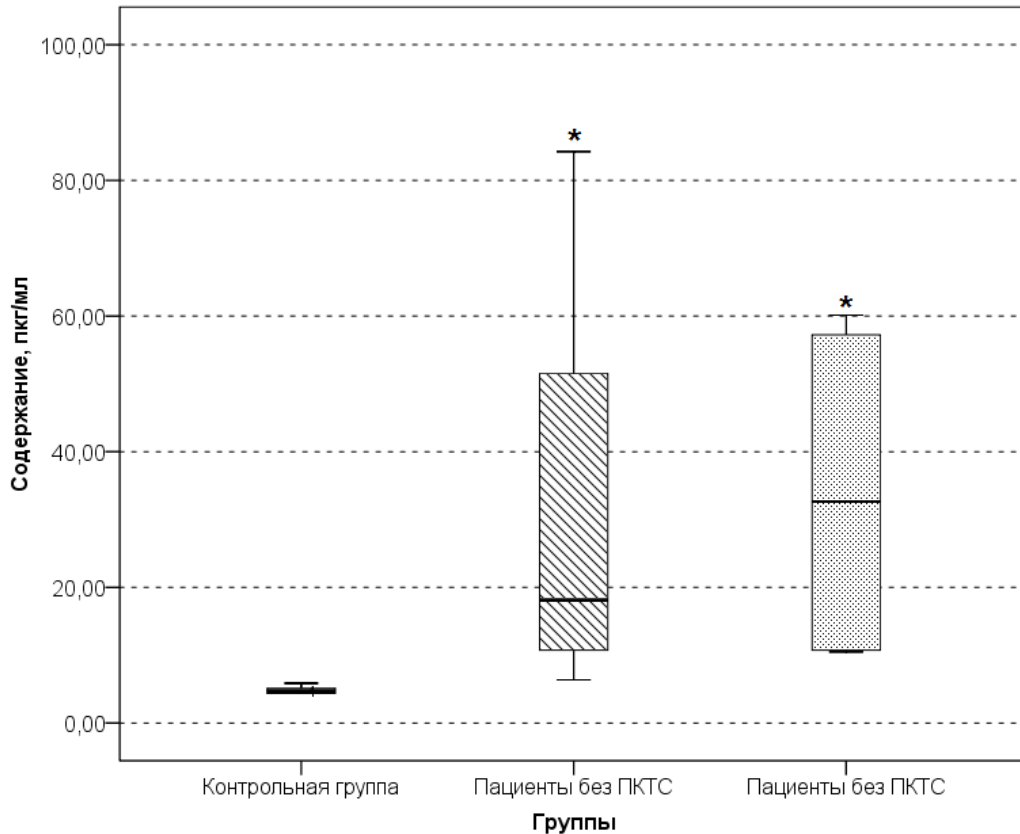


Рис. 42. Содержание ИЛ-8 в перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, в момент операции. В качестве контроля использовали значения ИЛ-8 в плазме доноров. \* - отмечены статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой при  $p < 0,05$  либо тенденция к достоверности  $0,1 < p < 0,05$  различий по сравнению с контролем.

Системный воспалительный ответ в перикардиальной жидкости сопровождается активацией нейтрофилов и секрецией провоспалительных цитокинов, в том числе интерлейкина-8. Т. Kameda и сотрудники показали, что уровень ИЛ-8 выше в перикардиальной жидкости пациентов с острым инфарктом миокарда по сравнению с больными стенокардией (Kameda T. et al., 2006). Кроме того, концентрация исследуемого хемокина может служить диагностическим маркером лимфоцитарной формы перикардита. S. Pankuweit и сотрудники установили, что значения данного показателя в перикардиальной жидкости при инфекционной, онкологической, лимфоцитарной и аутореактивной формах перикардита выше, чем в плазме. Причем, максимального

уровня ИЛ-8 достигал при лимфоцитарной форме перикардита (Pankuweit S. et al., 2000). В настоящем исследовании определена прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем ИЛ-8 в плазме и перикардальной жидкости пациентов без ПКТС ( $R=0,6$ ,  $p<0,05$ ) и пациентов с ПКТС ( $R=0,79$ ,  $p<0,05$ ).

Таким образом, для обеих групп больных характерно развитие системного воспалительного ответа и избыточная продукция провоспалительных цитокинов. Исключением является снижение уровня ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови больных с ПКТС, что может быть обусловлено, с одной стороны, высоким содержанием окисленных ЛПНП и накоплением продуктов ПОЛ, а с другой - экспрессией антогониста рецептора ИЛ-1. Дисбаланс в продукции противовоспалительных и провоспалительных цитокинов с сопутствующими редокс-нарушениями вызывают дисрегуляцию транскрипционных факторов и обуславливает апоптотическую гибель кардиомиоцитов (Чечина О.Е. и др., 2009). Такого рода события могут свидетельствовать о развитии исследуемого синдрома, поскольку именно у пациентов с ПКТС описываемые изменения наблюдаются в наиболее ранние сроки и отличаются глубиной проявления. Для пациентов с синдромом ключевыми оказались первые послеоперационные сутки, что подтверждается максимальными отклонениями от контрольных значений таких показателей, как содержание ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в плазме крови. Полученные результаты могут служить индикаторами быстрой формы постперикардитомного синдрома, когда патология развивается в первые семь суток после операции.

Клинические и экспериментальные данные подтверждают связь между эндотелиальной дисфункцией и воспалением. Провоспалительные цитокины являются ключевыми протагонистами в формировании атеросклеротической бляшки. Важно отметить, что развитие атеросклеротических поражений независимо от фактора риска, например, диабета, гипертонии, ожирения, характеризуется нарушением нормальной функции эндотелиальных клеток. Эндотелиальные клетки, которые выстилают внутренний просвет сосудов, являются частью сложной системы, которая регулирует вазодилатацию и су-



жение сосудов, рост клеток гладких мышц сосудов, воспаление и гемостаз, поддержание надлежащего кровоснабжения тканей и регулирование коагуляции. Современные концепции предполагают, что самым ранним событием в атерогенезе является эндотелиальная дисфункция, проявляющаяся в недостаточной продукции оксида азота (NO) и простациклина. Известно, что АКШ через контакт крови с оксигенатором и механизм ишемии/реперфузии способствует развитию системного воспалительного ответа и интенсификации свободнорадикальных процессов. В результате возникают благоприятные условия для реализации множества факторов, в том числе провоспалительных цитокинов, АФК, окисленных ЛПНП, которые напрямую или опосредованно активируют эндотелиальные клетки, вызывают нарушения релаксации сосудов, адгезию лейкоцитов повышают проницаемость эндотелия и обуславливают протромбиновое состояние.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено двум взаимосвязанным кардиопатологиям - ишемической болезни сердца и постперикардитомному синдрому. Известно, что обе патологии развиваются на фоне окислительного стресса и воспаления. Нами было показано, что аортокоронарное шунтирование у больных ИБС сопровождается сверхпродукцией провоспалительных цитокинов и нарушением клеточного редокс-гомеостаза. Накопление продуктов ПОЛ и дисрегуляция антиоксидантной системы способствуют развитию окислительного стресса, системного воспалительного ответа, нарушению стабильности эрит-роцитарных мембран, апоптотической гибели кардиоцитов и увеличению объема перикардального экссудата.

Полученные результаты могут свидетельствовать о быстрой форме ПКТС, характеризующейся развитием патологии в течение 7 послеоперационных суток. Разработанные биохимические предикторы риска развития ПКТС позволят существенно сократить сроки клинических исследований и своевременно скорректировать курс терапии. Настоящее исследование позволило раскрыть особенности взаимосвязи свободнорадикальных процессов, компонентов редокс-регулирующей системы, медиаторов воспаления и факторов эндотелиальной дисфункции у больных ИБС после прямой реваскуляризации миокарда. Их роль в механизмах патогенеза постперикардитомного синдрома представлена в интегральной гипотетической схеме на рис. 43.

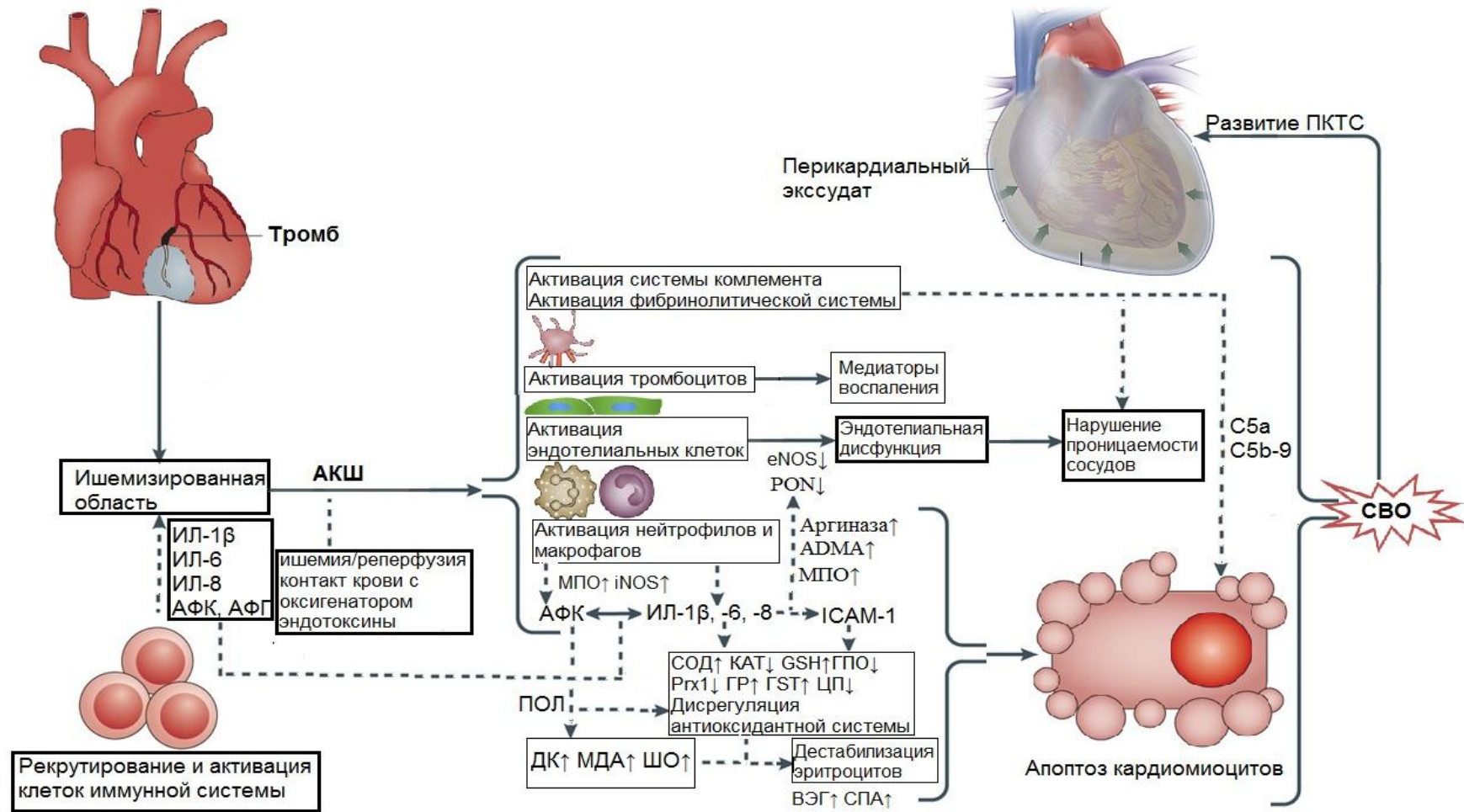


Рис. 43. Гипотетическая схема, отражающая роль продуктов ПОЛ, антиоксидантных, прооксидантных ферментов, медиаторов эндотелиальной дисфункции и провоспалительных цитокинов в механизмах развития постперикардотомного синдрома.

## ВЫВОДЫ

1. В плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ, наблюдалось увеличение уровня продуктов ПОЛ. Наиболее выраженные изменения концентрации ДК и МДА выявлены в плазме и перикардиальной жидкости пациентов с ПКТС.

2. В эритроцитах крови обеих групп больных обнаружен дисбаланс в работе антиоксидантных ферментов. Однонаправленный рост активности СОД/СУА и  $VN_2O_2$  в плазме сопровождается снижением активности каталазы в эритроцитах крови пациентов, перенесших АКШ. Для исследованных групп пациентов характерны редокс-нарушения, связанные с активацией ГР, GST, приростом уровня GSH в эритроцитах и снижением активности ГПО в эритроцитах и концентрации Ptx-1 в плазме. Установлено ингибирование оксидантной активности ЦП в плазме крови обеих групп больных. Данные изменения характерны для первых 5-и послеоперационных суток у пациентов с ПКТС.

3. Обнаружено нарушение стабильности мембран эритроцитов у больных ИБС, перенесших АКШ. Отмечено повышение уровня ВЭГ и СПА в плазме крови обеих групп больных. Уровень СПА в перикардиальной жидкости пациентов с ПКТС был значительно выше по сравнению с пациентами без синдрома.

4. Активация миелопероксидазы сопровождается ингибированием арилэстеразной активности параоксоназы в плазме и перикардиальной жидкости больных ИБС, перенесших АКШ. Соотношение активности МПО и арилэстеразной активности PON в плазме и перикардиальной жидкости служит предиктором развития постперикардотомного синдрома.

5. Обнаружено повышение уровня и активности медиаторов эндотелиальной дисфункции, асимметричного диметиларгинина и аргиназы, в эритроцитах и плазме крови больных ИБС после АКШ. Причем, активность аргиназы и концентрация ADMA выше в эритроцитах и плазме крови пациентов с ПКТС по сравнению с пациентами без синдрома. Установлена обрат-

ная корреляционная взаимосвязь между активностью аргиназы и арилэстеразной активностью параоксоназы. Соотношение активности аргиназы и PON может быть использовано для прогнозирования развития постперикардиотомного синдрома. Установлено повышение концентрации стабильных метаболитов оксида азота, нитритов и нитратов, в плазме крови обеих групп больных.

6. После проведения аортокоронарного шунтирования наблюдается сверхпродукция провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8. Концентрация ИЛ-1 $\beta$  повышалась в плазме крови пациентов без ПКТС, но снижалась в плазме крови пациентов с синдромом.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакумова Ю.В., Ардаматский Н. А. Свободно-радикальное окисление при атеросклерозе как патогенный фактор // Вестник новых медицинских технологий. – 2000. – Т.7 – С.66-71.
2. Богачевская С.А., Бондарь В.Ю., Капитоненко Н.А. и др. Эпидемиология болезней системы кровообращения, требующих применения высокотехнологичных видов медицинской помощи, в Российской Федерации за последние 10 лет: статистические «пробелы» // Дальневосточный медицинский журнал. - 2015. - №2. - С. 112-116.
3. Бокерия Л.А. Кардиология и кардиохирургия - инновационное развитие // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2012. - Т.67, №5. - С. 4-5.
4. Ващенко В.И., Ващенко Т.Н. Биология и фармакология церулоплазмина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2008. - Т. 6. - №1. - С. 32-44.
5. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. - 2000. - Т 6. - №12. - С 13-19.
6. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. - М., 1991. - Т. 29. - 252 с.
7. Воробьева Е.Н., Симонова Г.И., Воробьев Р.И. и др. Свободно-радикальное окисление и атеросклероз // Атеросклероз. - 2010. - Т. 6, №2. - С. 20-27.
8. Воронцова Н.Л., Богданов М.В., Головкин А.С. и др. Динамика показателей окислительного стресса в крови больных ишемической болезнью сердца до и после коронарного шунтирования // Бюллетень сибирской медицины. - 2012. - № 4. - С. 13-17.
9. Гавриленко Т.И., Рыжкова Н.А., Пархоменко А.Н. Миелопероксидаза и ее роль в развитии ишемической болезни сердца // Украинский кардиологический журнал. - 2014. - №4. - С. 119-126.

10. Гелис Л.Г., Медведева Е.А., Островский Ю.П. и др. Фармакологическая защита миокарда при коронарном шунтировании у больных с постинфарктной стенокардией. // Главный врач юга России. – 2007. – №4. – С.11-17.
11. Голиков П.П. Николаева Н.Ю. Метод определения нитрита/нитрата (NOx) в сыворотке крови // Вопросы биомед. Химии. - 2004. – №1. – С. 79–83.
12. Данилкина С.Т., Лифшиц Г.И., Воронина Е.Н. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний с течением болезни (клиническое наблюдение) // Вестник НГУ. Серия: биология, клиническая медицина. - 2008. - Т. 6, №2. - С. 33-38.
13. Димов А.С., Мультиановский Б.Л., Максимов Н.И. Экспертиза клинических факторов как основа для переоценки представлений о сущности и взаимоотношения ишемической и коронарной болезни сердца // Проблемы экспертизы в медицине. - 2013. - Т.13, №1. - С. 31-34.
14. Игольникова Л.Н., Никулина Е.Г. Постперикардитомный синдром: клиничко-лабораторная диагностика, лечение (обзор литературы) // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия – 2012. — №1 – С. 42-46.
15. Ильина А.Е., Станислав М.Л., Денисов Л.Н., Насонов Е.Л. Интерлейкин 1 как медиатор воспаления // Науч.-практич. ревматол. - 2011. №5. - С. 62–71.
16. Камышников В.С. Клиничко-биохимическая лабораторная диагностика // Справочник. В 2 томах. Издательство: Мн: Интерпрессервис, 2003. – 958с.
17. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. Минск: Беларусь. - 1982. – С. 290–292.
18. Колесниченко Л. С., Кулинский В. И. Глутатионтрансферазы // Успехи современной биологии.-1989. - Т 107, №2.-С. 179-194.

19. Коржов В. И., Жадан В. Н., Коржов М. В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // “Журн. АМН України”.-2007.-Том 13, №1.-С. 3-19.
20. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. - 1988. – № 1. – С. 16–19.
21. Кормош Н.Г. Физиологическая роль активных форм кислорода (субклеточный уровень) - взгляд клинициста // Российский биотерапевтический журнал. - 2011. - Т. 10, №4. - С. 29-35.
22. Кулинский В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита // Соросовский образовательный журнал. - 1999. - №1. - С. 2-7.
23. Лукаш А.И., Внуков В.В., Ананян А.А. и др. Металлосодержащие соединения плазмы крови при гипербарической оксигенации. (Экспериментальные и клинические аспекты). - Ростов-на-Дону. - 1996. - 88 с.
24. Мартынова М.Г., Накацева Е.В., Емельянова М.И. и др. Иммунолокализация предсердного натрийуретического пептида в тучных клетках перикарда крысы и человека // Цитология. - 2008. - Т. 50, №3. - С. 237-242.
25. Медведев А.П., Айвазьян С.А., Сидоров М.А. и др. Тактико-технические аспекты комплексного лечения гнойного перикардита с синдромом сдавления сердца и полиорганной недостаточностью // Патология кровообращения и кардиохирургия. - 2011. - С. 29-32.
26. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина. - 1987. – 368 с.
27. Меньшикова Е.Б. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты // М., 2006. - 553 с.
28. Михин В.П. Цитопротекция в кардиологии: достигнутые успехи и перспективы. Часть 1 // Архив внутренней медицины. - 2014. - Т. 15, № 1. - С. 44-49.



29. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. Дело. - 1986. – № 12. – С.724–727.
30. Накацева Е. В., Мартынова М. Г., Титаренко О. Т и др. Современные принципы диагностики лечения постперикардиотомного синдрома / Бюллетень федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. - 2010. – Т. 5. – Р. 95-102.
31. Насонов Е.Л., Елисеев М.С. Роль интерлейкина 1 в развитии заболеваний человека // Науч.-практич. ревматол. - 2016. - Т. 54. - № 1. - С. 60–77.
32. Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В. Редокс-регуляция клеточных функций // Биохимия.-2007.-Том 72, №2.-С. 158-171.
33. Палеев Ф. Н., Белокопытова И. С., Минченко Б. И. et al. Роль цитокинов в патогенезе ишемической болезни сердца // Креативная кардиология. -2011. - № 1. - С- 75-80.
34. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // Успехи биол. химии.– 2013.– Т. 53.– С. 195–244.
35. Реброва Т.Ю., Шипулин В.М., Афанасьев С.А., Воробьева Е.В., Кийко О.Г. Опыт применения аскорбиновой кислоты как антиоксиданта у пациентов после операции коронарного шунтирования с использованием искусственного кровообращения // Кардиология. - 2012. - Т. 52, №7. - С. 73-76.
36. Рузов В.И., Комарова Л.Г., Крестьянинов М.В. и др. Оценка агрегации тромбоцитов и перекисного окисления липидов у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование // Ульяновский медико-биологический журнал. - 2014. – № 2. – С. 8–13.
37. Саидов М.З. Пинегин Б.В. Спектрофотометрический метод определения миелопероксидазы в фагоцитирующих клетках // Лабораторное дело. -1991, №3. - С. 56 - 59.

38. Сидоров Р.В., Шаповалов А.М., Поспелов Д.Ю. Современное состояние и тенденции развития коронарной хирургии // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. - 2011. - Т. 6, № 1. - С. 138-140.
39. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и его использование для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы медицинской химии. - 1999. - №3. – С. 263–272.
40. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
41. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
42. Теселкин Ю. О., Бабенкова И. В., Любицкий О. Б. и др. Ингибирование сывороточными антиоксидантами окисления люминола в присутствии гемоглобина и пероксида водорода // Вопросы медицинской химии. - 1997. - Т. 43. С. 87–93.
43. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления // Медицинская иммунология. - 2012. - Т. 14, №1-2. - С. 9-20.
44. Чечина О.Е., Биктасова А.К., Сазонова Е.В. и др. Роль цитокинов в редокс-зависимой регуляции апоптоза // Бюл. сибир. мед. - 2009. - № 2. - С. 67–72.
45. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов // Лаб. Дело. - 1989.–№ 4.–С.19–21.
46. Abelló D., Sancho E., Camps J. et al. Exploring the Role of Paraoxonases in the Pathogenesis of Coronary Artery Disease: A Systematic Review // Int. J. Mol. Sci. - 2014. - Vol. 15. - №11. - P. 20997-21010.

47. Afonina I.S., Müller C., Martin S.J. et al. Proteolytic Processing of Interleukin-1 Family Cytokines: Variations on a Common Theme // *Immunity*. - 2015. - 42. - Vol. №6. - P. 991-1004.
48. Alam S.R., Lewis S.C., Zamvar V. et al. Perioperative elafin for ischaemia-reperfusion injury during coronary artery bypass graft surgery: a randomised-controlled trial // *Heart*. - 2015. - Vol. 101. - №20. - 1639-1645.
49. Alderman E.L., Bourassa M.G., Cohen L.S. et al. Ten-year follow-up of survival and myocardial infarction in the randomized coronary artery Surgery Study // *Circulation*. - 1990. - Vol. 82. - P. 1629–1646.
50. Ali Y. M., Erdal S., Kasim K. et al. Acute phase reactants in pericardial fluid are indicators of coronary artery disease // *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*. - 2012. - Vol. 1. - №6. - P. 69-74.
51. Alraies M.C., Al Jaroudi W., Shabrang C. et al. Clinical features associated with adverse events in patients with post-pericardiotomy syndrome following cardiac surgery. *Am J Cardiol*. 2014. - Vol. 114. - №9. - P. 1426-1430.
52. Anderson E.J., Efird J.T., Davies S.W. et al. Monoamine oxidase is a major determinant of redox balance in human atrial myocardium and is associated with postoperative atrial fibrillation // *J Am Heart Assoc*. - 2014. - Vol. 3. - №1. - P. 1-12.
53. Aouffen M., Paquin J., Furtos A. et al. Oxidative aggregation of ceruloplasmin induced by hydrogen peroxide is prevented by pyruvate // *Free Radic Res*. - 2004. - Vol. 38. - №1. - P. 19-26.
54. Apostolakis S., Vogiatzi K., Amanatidou V., Spandidos D.A. Interleukin 8 and cardiovascular disease // *Cardiovascular Research*. - 2009. - Vol. 84. - P. 353–360.
55. Arak-Lukmann A., Zilmer M., Maaros J. et al. Oxidative stress before and after exercise conditioning in patients following surgical revascularization of the myocardium / *International Journal of Rehabilitation Research*. - 2002. –Vol. 25. – P. 305–312.

56. Ashtiani H. R., Bakhshandi A. K., Rahbar M., Mirzaei A., Malekpour A., Rastegar H. Glutathione, cell proliferation and differentiation // *African Journal of Biotechnology*. -2011.-Vol.10.-№34.-P. 6348-6363.
57. Aviram M., Billecke S., Sorenson R. et al. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. - 1998. - Vol. 18. - №10. - P. 1617-1624.
58. Ayala A., Muñoz M.F., Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. - 2014. - P. 1-31.
59. Ayaz L., Unlu A., Sucu N. et al. Role of Neopterin, C-Reactive Protein and Myeloperoxidase in Patients Undergoing Cardiopulmonary Bypass // *Med Princ Pract*. - 2010. - Vol. 19. - P. 479–484.
60. Ayub A., Mackness M.I., Arrol S. et al. Serum Paraoxonase After Myocardial Infarction // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. -1999. - Vol. 19. - P. 330-335.
61. Baek I.J., Yon J.M., Lee S.R. et al. Differential expression of gastrointestinal glutathione peroxidase (GI-GPx) gene during mouse organogenesis // *Anat Histol Embryol*. - 2011. - Vol. 40. - №3. - P. 210-208.
62. Balčiūnas M., Bagdonaitė L., Samalavičius R. et al. Markers of endothelial dysfunction after cardiac surgery: soluble forms of vascular-1 and intercellular-1 adhesion molecules // *Medicina (Kaunas)*. - 2009. - Vol. 45. - №6. - P. 434-439.
63. Baldus S., Heeschen C., Meinertz T. et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes // *Circulation*. - 2003. - Vol. 108. - №12. - P. 1440-1445.
64. Balk R. A. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) // *Virulence*. - 2014. - Vol. 5. - №1. - P. 20–26.

65. Bayrak T., Bayrak A., Işıldak M. et al. Increased asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels and decreased homocysteine thiolactonase/paraoxonase (HTLase/PONase) activities are related to the risk of cardiovascular disease in prediabetic/diabetic patients // *Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem.* - 2014. - Vol. 39. - №3. - P. 270–276.
66. Bento I., Peixoto C., Zaitsev V.N. et al. Ceruloplasmin revisited: structural and functional roles of various metal cation-binding sites // *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* - 2007. - Vol. 63. - P. 240-248.
67. Berger M.M., Soguel L., Shenkin A. et al. Influence of early antioxidant supplements on clinical evolution and organ function in critically ill cardiac surgery, major trauma, and subarachnoid hemorrhage patients // *Critical Care.* - 2008. - Vol. 12. - №4. - P. 1-13.
68. Bergt C., Marsche G., Panzenboeck U. et al. Human neutrophils employ the myeloperoxidase/hydrogen peroxide/chloride system to oxidatively damage apolipoprotein A-I // *Eur. J. Biochem.* - 2001. - Vol. 268. - P. 3523-3531.
69. Bergt C., Pennathur S., Fu X. et al. The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport // *PNAS.* - 2004. - Vol. 101. - №35. - P. 13032–13037.
70. Berry C.E., Hare J.M. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications // *J Physiol.* 2004. - Vol. 555. - P. 589-606.
71. Besler C., Heinrich K., Rohrer L. et al. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease // *J Clin Invest.* - 2011. - Vol. 121. - №7. - P. 2693-2708.
72. Beuckmann C.T., Fujimori K., Urade Y. et al. Identification of mu-class glutathione transferases M2-2 and M3-3 as cytosolic prostaglandin E synthases in the human brain // *Neurochem Res.* - 2000 - Vol. 25. - №5. - P. 733-738.

73. Bhagwat V.R., Yadav A.S., Rathod I. M. Homocysteine, lipid indices and antioxidants in patients with ischaemic heart disease from Maharashtra, India // Singapore Med J. - 2009. - Vol. 50. - №4. - P. 418-424.
74. Bhattacharjee S. Membrane lipid peroxidation and its conflict of interest: the two faces of oxidative stress // Current science. - Vol. 107. - №11. - P. 1811-1823.
75. Biasucci L.M., Liuzzo G., Fantuzzi G. et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events // Circulation. - 1999. - Vol. 99. - №16. - P. 2079-2084.
76. Bidlack W.R., Tappel A.L. Fluorescent products of phospholipids during lipid peroxidation // Lipids. - 1973. – Vol. 8. – №4. – P. 203-207.
77. Blankenberg S., Rupprecht H.J., Bickel C. et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease // N Engl J Med. - 2003. – Vol. 349. – №17. – P. 1605-1613.
78. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method for total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. - 1959. –Vol. 37. – P.911-917.
79. Board P.G., Coggan M., Watson S. et al. CLIC-2 modulates cardiac ryanodine receptor Ca<sup>2+</sup> release channels // Int J Biochem Cell Biol. - 2004. - Vol. 36. - №8. - P. 1599-1612.
80. Board P.G., Menon D. Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology // Biochim Biophys Acta. - 2013. - Vol. 1830. - №5. - 3267-3288.
81. Brener S. Frequency and long-term impact of myonecrosis after coronary stenting // Eur. Heart. J. - 2002. - № 23. - P. 869–876.
82. Brevetti G., Schiano V., Laurenzano E. et al. Myeloperoxidase, but not C-reactive protein, predicts cardiovascular risk in peripheral arterial disease // Eur Heart J. - 2008 - Vol. 29. - №2. - P. 224-230.
83. Brigelius-Flohé R., Maiorino M. Glutathione peroxidases // Biochimica et Biophysica Acta. - 2013. - Vol. 1830. - P. 3289–3303.

84. Broderick G., Katz B.Z., Fernandes H. et al. Cytokine expression profiles of immune imbalance in post-mononucleosis chronic fatigue // *J Transl Med.* - 2012. - Vol.10. - №191. - P. 1-11.
85. Brown G.C. Reversible binding and inhibition of catalase by nitric oxide // *Eur J Biochem.* - 1995. - Vol. 232. - №1. - P. 188-191.
86. Bucekova E., Simkova I., Hulman M. Postpericardiotomy syndrome – postcardiac injury syndrome // *Bratisl Lek Listy.* - 2012. - Vol. 113. - P. 481-485.
87. Buerke M., Murohara T., Skurk C. et al. Cardioprotective effect of insulin-like growth factor I in myocardial ischemia followed by reperfusion // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 1995 - Vol. 92 - №17. - P. 8031–8035.
88. Buijsse B., Lee D.-H., Steffen L. et al. Low Serum Glutathione Peroxidase Activity Is Associated with Increased Cardiovascular Mortality in Individuals with Low HDLc's // *PLoS One.* - 2012. - Vol. 7. - №6. - P. 1-6.
89. Callegari A., Liu Y., White C.C. et al. Gain and loss of function for glutathione synthesis: impact on advanced atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2011. - Vol. 31. - №11. - P. 2473-2482.
90. Cao J., Schulte J., Knight A. et al. Prdx1 inhibits tumorigenesis via regulating PTEN/AKT activity // *EMBO J.* - 2009. - Vol. 28. - №10. - P. 1505-1517.
91. Casati V., Gerli C., Franco A. et al. Activation of Coagulation and Fibrinolysis during Coronary Surgery // *Anesthesiology.* - 2001. - Vol. 95. P. 1103–1109.
92. Castedo E., Segovia J., Escudero C. et al. Ischemia-reperfusion injury during experimental heart transplantation. Evaluation of trimetazidine's cytoprotective effect // *Rev Esp Cardiol.* - 2005. -Vol. 58. - №8. - P. 941-950.
93. Čermák T., Mužáková V., Matějka J., Skalický J., Laštovička P., Líbalová M., Kand'ár R., Novotný V., Čegan A. Fatty acid profile in erythrocyte membranes and plasma phospholipids affects significantly the extent of inflamma-

tory response to coronary stent implantation // *Physiol Res.* - 2016. - Vol 65. - № 6. - P. 941-951.

94. Chandrasekar B., Smith J.B., Freeman G.L. Ischemia-reperfusion of rat myocardium activates nuclear factor-KappaB and induces neutrophil infiltration via lipopolysaccharide-induced CXC chemokine // *Circulation.* - 2001. - Vol. 103. - №18. - P. 2296-2302.

95. Cheraghi M., Shahsavari G., Maleki A. et al. Paraoxonase 1 Activity, Lipid Profile, and Atherogenic Indexes Status in Coronary Heart Disease // *Reports of Biochemistry & Molecular Biology.* - 2017. - Vol.6. - №1. - P. 1-7.

96. Chew M.S., Brix-Christensen V., Ravn H.B. et al. Effect of modified ultrafiltration on the inflammatory response in paediatric open-heart surgery: a prospective, randomized study // *Perfusion.* - 2002. - Vol.17. - P. 327-333.

97. Chhipa R.R., Lee K.S., Onate S. et al. Prx1 enhances androgen receptor function in prostate cancer cells by increasing receptor affinity to dihydrotestosterone // *Mol Cancer Res.* - 2009. - Vol. 7. - №9. - P. 543-552.

98. Cimen M.Y. Free radical metabolism in human erythrocytes // *Clin Chim Acta.* - 2008. - Vol. 390. - №1-2. - P. 1-11.

99. Clements R.T., Smejkal G., Sodha N.R. et al. Pilot Proteomic Profile of Differentially Regulated Proteins in Right Atrial Appendage Before and After Cardiac Surgery Using Cardioplegia and Cardiopulmonary Bypass // *Circulation.* - 2008. - Vol. 118. - P. 24–S31.

100. Closa D., Folch-Puy E. Oxygen Free Radicals and the Systemic Inflammatory Response // *IUBMB Life.* – Vol. 56. – №4. – P. 185–191.

101. Comstedt P., Storgaard M., Lassen A.T. The Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in acutely hospitalised medical patients: a cohort study // *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* - 2009. - Vol. 17. - №67. - P. 1-6.

102. Conklin D.J., Bhatnagar A. Are Glutathione S-Transferase Null Genotypes “Null and Void” of Risk for Ischemic Vascular Disease? // *Circ Cardiovasc Genet.* - 2011. - Vol. 4. - №4. - P. 339–341.



103. Costa L.G., de Laat R., Dao K. et al. Paraoxonase-2 (PON2) in brain and its potential role in neuroprotection // *Neurotoxicology*. - 2014. - Vol. 43. - P. 3-9.
104. da Silva G.-F.M., Bernardino-Neto M., Penha-Silva N. Influence of Erythrocyte Membrane Stability in Atherosclerosis // *Curr Atheroscler Rep*. - 2017. - Vol. 19. - 4. - P. 1-7.
105. Dadu R.T., Dodge R., Nambi V. et al. Ceruloplasmin and heart failure in the Atherosclerosis Risk in Communities study // *Circ Heart Fail*. - 2013. - Vol. 6. - №5. - P. 936-943.
106. Danová K., Pechán I., Olejarova I. et al. Production of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense Systems in Patients after Coronary Artery Bypass Grafting: One-Week Follow-up Study // *J Clin Basic Cardiol*. - 2005. - Vol. 8. - P. 33-36.
107. Day J.R., Taylor K.M. The systemic inflammatory response syndrome and cardiopulmonary bypass // *Int J Surg*. - 2005. - Vol. 3. - №2. - P. 129-140.
108. De Chiara B., Mafriaci A., Campolo J. et al. Low plasma glutathione levels after reperfused acute myocardial infarction are associated with late cardiac events // *Coron Artery Dis*. - 2007. - Vol. 18. - №2. - P. 77-82.
109. Deakin S.P., Bioletto S., Bochaton-Piallat M.L. et al. HDL-associated paraoxonase-1 can redistribute to cell membranes and influence sensitivity to oxidative stress // *Free Radic Biol Med*. - 2011. - Vol. 50. - №1. - P. 102-109.
110. Deblier I., Sadowska A.M., Janssens A. et al. Markers of inflammation and oxidative stress in patients undergoing CABG with CPB with and without ventilation of the lungs: a pilot study // *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. - 2006. - Vol. 5. - №4. - P. 387-391.
111. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes *Biochim Biophys Acta*. - 2013. - Vol. 1830. - №5. - P. 3217-3266.

112. Deten A., Volz H.C., Briest W. et al. Cardiac cytokine expression is upregulated in the acute phase after myocardial infarction. Experimental studies in rats // *Cardiovasc Res.* - 2002. - Vol. 55. - №2. - P. 329-340.
113. Devarajan A., Grijalva V.R., Bourquard N. et al. Macrophage paraoxonase 2 regulates calcium homeostasis and cell survival under endoplasmic reticulum stress conditions and is sufficient to prevent the development of aggravated atherosclerosis in paraoxonase 2 deficiency/apoE<sup>-/-</sup> mice on a Western diet // *Mol Genet Metab.* - 2012. - Vol. 107. - №3. - P. 416-427.
114. Didion S.P., Ryan M.J., Didion L.A. et al. Increased superoxide and vascular dysfunction in CuZnSOD-deficient mice // *Circ Res.* - 2002. - Vol. 91. - №10. - P. 938-944.
115. Dioguardi F.S. To give or not to give? Lessons from the arginine paradox // *J Nutrigenet Nutrigenomics.* - 2011. - Vol. 4. - №2. - P. 90-98.
116. Dje N.G.P., Riediger F., Vardarova K. et al. Statins control oxidized LDL-mediated histone modifications and gene expression in cultured human endothelial cells // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2009. - Vol. 29. - №3. - P. 380-386.
117. Dominguez-Rodriguez A., Abreu-Gonzalez P., Garcia-Gonzalez M. et al. Prognostic value of interleukin-8 as a predictor of heart failure in patients with myocardial infarction and percutaneous intervention // *International Journal of Cardiology.* - 2006. - Vol. 111. - №1. - P. 158-160.
118. Dorion S., Lambert H., Landry J. Activation of the p38 signaling pathway by heat shock involves the dissociation of glutathione S-transferase Mu from Ask1 // *J Biol Chem.* - 2002. - Vol. 277. - №34. - P. 30792-30797.
119. Draganov D.I., Teiber J.F., Speelman A. et al. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities // *J Lipid Res.* - 2005. - Vol. 46. - №6. - P. 1239-1247.
120. Draganov D.I. Human PON3, Effects Beyond the HDL. Clues From Human PON3 Transgenic Mice // *Circ Res.* - 2007. - Vol. 100. - P. 1104-1105.
121. Dulhunty A.F., Pouliquin P., Coggan M. et al. A recently identified member of the glutathione transferase structural family modifies cardiac RyR2

substate activity, coupled gating and activation by Ca<sup>2+</sup> and ATP // *Biochem J.* - 2005. - Vol. 390. - P. 333-343.

122. Dybdahl B., Wahba A., Haaverstad R. et al. On-pump versus off-pump coronary artery bypass grafting: more heat-shock protein 70 is released after on-pump surgery // *Eur J Cardiothorac Surg.* - 2004. - Vol. 25. - 6. - P. 985-992.

123. Ege T., Eskiocak S., Yuksel V. et al. Importance of internal mammary artery perfusion in cardiac ischemia and reperfusion // *Perfusion.* - 2003. – Vol. 18. – P. 351–356.

124. El Eter E., Al-Masri A.A. Peroxiredoxin isoforms are associated with cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* - 2015. - Vol. 48. - №5. - P. 465-469.

125. El Kebir D., Filep J.G. Targeting Neutrophil Apoptosis for Enhancing the Resolution of Inflammation // *Cells.* 2013. - Vol. 2. - №2. - P. 330–348.

126. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem.* - 1959.– Vol.82.– P.70–77.

127. Elmas E., Lang S., Dempfle C.E. et al. High plasma levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and interleukin-8 (IL-8) characterize patients prone to ventricular fibrillation complicating myocardial infarction // *Clin Chem Lab Med.* - 2007. - Vol. 45. - №10. - P. 1360-1365.

128. Elroy-Stein O., Bernstein Y., Groner Y. Overproduction of human Cu/Zn-superoxide dismutase in transfected cells: extenuation of paraquat-mediated cytotoxicity and enhancement of lipid peroxidation // *EMBO J.* - 1986. - Vol. 5. - №3. - P. 615-622.

129. Elsby R., Kitteringham N.R., Goldring C.E. et al. Increased constitutive c-Jun N-terminal kinase signaling in mice lacking glutathione S-transferase Pi // *J Biol Chem.* - 2003. - Vol. 278. - №25. - P. 22243-22249.

130. Emami Razavi A., Basati G., Varshosaz J. et al. Association between HDL Particles Size and Myeloperoxidase/ Paraoxonase-1 (MPO/PON1) Ratio in Patients with Acute Coronary Syndrome // *Acta Medica Iranica.* - 2013. - Vol. 51. - № 6. - P. 365-371.

131. Engle M. A., Ehlers K., O'Loighlin J. E. et al. The postpericardiotomy syndrome: iatrogenic illness with immunologic and virologic components. // *Cardiovasc. Clin.* - 1981. - Vol. 11. - №2. - P. 381-391.
132. Engström G., Börner G., Lindblad B. et al. Incidence of fatal or repaired abdominal aortic aneurysm in relation to inflammation-sensitive plasma proteins // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2004. - Vol. 24. - №2. - P. 337-341.
133. Eriksson U., Kurrer M.O., Sonderegger I. et al. Activation of Dendritic Cells through the Interleukin 1 Receptor 1 Is Critical for the Induction of Auto-immune Myocarditis // *J Exp Med.* - 2003. - Vol. 197. - №3. - P. 323–331.
134. Exner M., Minar E., Mlekusch W. et al. Myeloperoxidase Predicts Progression of Carotid Stenosis in States of Low High-Density Lipoprotein Cholesterol // *Journal of the American College of Cardiology.* - 2006. - Vol. 47. - №11. - P. 2212-2218.
135. Fang L.G., T. Fong A.T., Cooper A.D. Inhibition of lipopolysaccharide-induced interleukin-1 $\beta$  mRNA expression in mouse macrophages by oxidized low density lipoprotein // *J. Lipid Res.* - 1991. - Vol. 32. P. 1899–1910.
136. Fang Y.Z., Yang S., Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition // *Nutrition.* - 2002. - Vol. 18. - №10. - P. 872-879.
137. Ferretti G., Bacchetti T., Busni D. et al. Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients // *J Clin Endocrinol Metab.* - 2004. - Vol. 89. - №6. - P. 2957-2962.
138. Firoozrai M., Mehrabi H., Ehsani A. et al. Activities of Anti-Oxidative Enzymes, Catalase and Glutathione Reductase in Red Blood Cells of Patients with Coronary Artery Disease // *Asian Journal of Biochemistry.* - 2007. - Vol. 2. - №6. - P. 437-440.
139. Fleming I., Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* - 2003. - Vol. 284. - №1. - P. 1-12.

140. Flohé L., Brigelius-Flohé R.. Its Molecular Biology and Role in Human Health // Springer New York: 2011. - P. 167-180.
141. Forgiione M.A., Cap A., Liao R., Moldovan N.I., Eberhardt R.T., Lim C.C., Jones J., Goldschmidt-Clermont P.J., Loscalzo J. Heterozygous cellular glutathione peroxidase deficiency in the mouse: abnormalities in vascular and cardiac function and structure // *Circulation*. - 2002. - Vol. 106. - №9. - P. 1154-1158.
142. Förstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function // *Eur Heart J*. - 2012. - Vol. 33. - №7. - P. 829-837.
143. Freedman J.E., Loscalzo J., Benoit S.E. et al. Decreased platelet inhibition by nitric oxide in two brothers with a history of arterial thrombosis // *J Clin Invest*. - 1996. - Vol. 97. - №4. - P. 979-987.
144. Fukai T., Ushio-Fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases // *Antioxid. Redox Signal*. - 2011. - Vol. 15. - № 6. - P. 1583–1606.
145. Gad M.Z., Abdel-Maksoud S.M., Hassanein S.I. et al. Nitric Oxide Regulating Proteins as Biochemical and Genetic Markers of Coronary Artery Disease // *Biomarkers in Cardiovascular Disease*. - 2016. - P. 1-27.
146. Gaudino M., Anselmi A., Abbate A. et al. Myocardial Apoptosis Predicts Postoperative Course after Aortic Valve Replacement in Patients with Severe Left Ventricular Hypertrophy // *J Heart Valve Dis*. - 2007. - Vol. 16. - №4. - P. 344-348.
147. Gaze D.C. Introduction to Ischemic Heart Disease // *InTech*. - 2013. - P- 1-13.
148. Gerszten R.E., Garcia-Zepeda E.A., Lim Y.C. et al. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions // *Nature*. - 1999. - Vol. 398. - №6729. - P. 718-23.
149. Giurgea N., Constantinescu M.I., Stanciu R., Suciuc S., Muresan A. Ceruloplasmin – acute-phase reactant or endogenous antioxidant? The case of cardiovascular disease // *Med Sci Monit*. - 2005. - Vol. 11. - №2. - P. 48-51.

150. Gocen U., Keklik V., Atalay A. et al. Analysis of early predictor effect of serum Glutathione S-Transferase P1 isoenzyme on post-operative results in paediatric cardiac surgery // *Int J Clin Exp Med.* - 2016. – Vol. 9. – №6. – P. 11494-11501.
151. Golledge J., Clancy P., Maguire J. The role of tenascin C in cardiovascular disease // *Cardiovascular Research.* - 2011. - Vol. 92. - P. 19–28.
152. Gomez-Lazaro M., Galindo M.F., Melero-Fernandez de Mera R.M. et al. Reactive oxygen species and p38 mitogen-activated protein kinase activate Bax to induce mitochondrial cytochrome c release and apoptosis in response to malonate // *Mol Pharmacol.* - 2007. - Vol. 71. - №3. - P. 736-743.
153. Goszcz K., Deakin S.J., Duthie G.G. et al. Antioxidants in Cardiovascular Therapy: Panacea or False Hope? // *Front Cardiovasc Med.* - 2015. - Vol. 2. - №29. - P. 1-22.
154. Góth L. Serum catalase: reversibly formed charge isoform of erythrocyte catalase // *Clin Chem.* - 1991. – Vol. 37. – №12. – P. 2043-2047.
155. Goyal M.M., Basak A. Human catalase: looking for complete identity // *Protein Cell.* - 2010. - Vol. 1. - №10. - P. 888-897.
156. Gray D., Saviola B., Guilford F. et al. Role glutathione in infection and cardiovascular diseases // *Glutathione: Biochemistry, Mechanisms of Action and Biotechnological Implications.* Publisher: Nova Publishers. - 2013. – P. 143–164.
157. Guillén I., Blanes M., Gómez-Lechón M.J. et al. Cytokine signaling during myocardial infarction: sequential appearance of IL-1 beta and IL-6 // *Am J Physiol.* - 1995. - Vol. 269. - P. 229-235.
158. Gupta N., Gill K., Singh S. Paraoxonases: structure, gene polymorphism & role in coronary artery disease // *Indian J Med Res.* - 2009. - Vol. 130. - №4. - P. 361-368.
159. Habig W.H., Pabst M.J., Jacoby W.B. Glutathione S-Transferases the first step in mercapturic acid formation // *The Journal of Biological Chemistry.* - 1974.–Vol. 249.–№ 22.–P. 7130-7139.

160. Halliwell, B. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view // *Nutr. Rev.* - 2012. - Vol. 70. - P. 257–265.
161. Haraguchi Y., Toh R., Hasokawa M. et al. Serum myeloperoxidase/paraoxonase 1 ratio as potential indicator of dysfunctional high-density lipoprotein and risk stratification in coronary artery disease // *Atherosclerosis.* - 2014. - Vol. 234. - №2. - P. 288-294.
162. Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey I.R. Glutathione transferases // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* - 2005. - Vol. 45. - P. 51–88.
163. Hayes J.D., Pulford D.J. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance // *Crit Rev Biochem Mol Biol.* - 1995. - Vol. 30. - №6. - P. 445-600.
164. Hayes J.D., Wolf C.R. Molecular mechanisms of drug resistance // *Biochem J.* - 1990. - Vol. 272. - №2. -P. 281–295.
165. Hellman N.E., Gitlin J.D. Ceruloplasmin metabolism and function // *Annu Rev Nutr.* - 2002. - Vol. 22. - P. 439-458.
166. Herbette S., Roeckel-Drevet P., Drevet J. R. Seleno-independent glutathione peroxidases more than simple antioxidant scavengers // *FEBS Journal.*-2007.-Vol. 274.-P. 2163–2180.
167. Hernandez A.F., Pla A., Valenzuela A. et al. Paraonase activity in human pericardial fluid: its relationship to coronary artery disease // *Int J Leg Med.* - 1993. - Vol. 105. - P. 321-324.
168. Herter J.M., Rossaint J., Zarbock A. Platelets in inflammation and immunity // *Journal of thrombosis and haemostasis.* - 2014. - Vol. 13. - P. 1764–1775.
169. Higgins L.G., Hayes J.D. Mechanisms of induction of cytosolic and microsomal glutathione transferase (GST) genes by xenobiotics and pro-inflammatory agents // *Drug Metab Rev.* - 2011. - Vol. 43. - №2. - P. 92-137.
170. Hill B. G., Bhatnagar A. Role of Glutathiolation in Preservation, Restoration and Regulation of Protein Function // *J. Life.*-2007.-Vol.59.-№1-P. 21-26.

171. Himmelfarb J., McMenemy M.E., Loseto G. et al. Myeloperoxidase-catalyzed 3-chlorotyrosine formation in dialysis patients // *Free Radic Biol Med.* - 2001. - Vol. 31. - №10. - P. 1163-1169.
172. Horke S., Witte I., Wilgenbus P. et al. Protective effect of paraoxonase-2 against endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis is lost upon disturbance of calcium homeostasis // *Biochem J.* 2008. - Vol. 416. - №3. - P. 395-405.
173. Huang Y., Wu Z., Riwayanto M. et al. Myeloperoxidase, paraoxonase-1, and HDL form a functional ternary complex // *J Clin Invest.* - 2013. - Vol. 123. - №9. - P. 3815–3828.
174. Hueb W., Lopes N.H., Gersh B.J. et al. Five-year follow-up of the Medicine, Angioplasty, or Surgery Study (MASS II): a randomized controlled clinical trial of 3 therapeutic strategies for multivessel coronary artery disease // *Circulation.* - 2007 - Vol. 115. - № 9. - P. 1082-1089.
175. Hueb W., Soares P.R., Gersh B.J. et al. The medicine, angioplasty, or surgery study (MASS-II): a randomized, controlled clinical trial of three therapeutic strategies for multivessel coronary artery disease: one-year results // *J Am Coll Cardiol.* - 2004. - Vol. 43. - № 10. - P. 1743-1751.
176. Iacoviello L., Di Castelnuovo A., Gattone M. et al. Polymorphisms of the Interleukin-1 Gene Affect the Risk of Myocardial Infarction and Ischemic Stroke at Young Age and the Response of Mononuclear Cells to Stimulation In Vitro // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2005. - Vol. 25. - P. 222-227.
177. Ihida-Stansbury K., Ames J., Chokshi M. et al. Role played by Prx1-dependent extracellular matrix properties in vascular smooth muscle development in embryonic lungs // *Pulm Circ.* - 2015. - Vol. 5. - №2. - P. 382–397.
178. Imazio M., Brucato A., Cemin R. et al. A randomized trial of colchicine for acute pericarditis // *N Engl J Med.* - 2013. – Vol. 369. - № 16. - P. 1522-1528.



179. Ithayaraja C.M. Mini-review: metabolic functions and molecular structure of glutathione reductase // *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. - 2011. - Vol. 9. - №2. - P. 104-115.
180. Ito T., Ikeda U., Yamamoto K. et al. Regulation of interleukin-8 expression by HMG-CoA reductase inhibitors in human vascular smooth muscle cells // *Atherosclerosis*. - 2002. - Vol. 165. - №1. - P. 51-55.
181. Ives A., Nomura J., Martinon F. et al. Xanthine oxidoreductase regulates macrophage IL1 $\beta$  secretion upon NLRP3 inflammasome activation // *Nat Commun*. - 2015. - Vol. 6. - P. 1-11.
182. Iwakura A., Fujita M., Hasegawa K. et al. Pericardial fluid from patients with ischemic heart disease induces myocardial cell apoptosis via an oxidant stress-sensitive p38 mitogen-activated protein kinase pathway // *J Mol Cell Cardiol*. - 2001. - Vol. 33. - №3. - P. 419-430.
183. Jablonska M., Sztanke M., Pasternak K. et al. Changes in antioxidant enzyme activities in erythrocytes in patients undergoing CABG – A pilot study // *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology*. - 2008. – Vol. 12. – P. 13–19.
184. Jaffer U., Wade R.G., Gourlay T. et al. Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome: a review // *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth*. - 2010. - Vol. 2. - №3. - P. 161–175.
185. Jarvis R.M., Hughes S.M., Ledgerwood E.C. Peroxiredoxin 1 functions as a signal peroxidase to receive, transduce, and transmit peroxide signals in mammalian cells // *Free Radic Biol Med*. - 2012. - Vol. 53. - №7. - P. 1522-1530.
186. Jaworska-Wilczyńska M., Hryniewiecki T., Gorska E. et al. Low Interleukin - 8 Level Predicts the Occurrence of the Postpericardiotomy Syndrome // *Centr Eur J Immunol*. - 2012. – Vol. 37. – №2. – P. 154–158.
187. Jaworska-Wilczynska M., Magalska A., Piwocka K. et al. Low Interleukin - 8 Level Predicts the Occurrence of the Postpericardiotomy Syndrome // *PLoS ONE*. - 2014. – Vol. 9. – №10. – P. 1-8.
188. Jeney V., Balla G., Balla J. Red blood cell, hemoglobin and heme in the progression of atherosclerosis // *Front Physiol*. - 2014. - Vol. 5. - P. 1-11.

189. Jin R.C., Mahoney C.E., Coleman Anderson L. et al. Glutathione peroxidase-3 deficiency promotes platelet-dependent thrombosis in vivo // *Circulation*. - 2011. - Vol. 123. - №18. - P. 1963–1973.
190. Johansson A.S., Mannervik B. Human glutathione transferase A3-3, a highly efficient catalyst of double-bond isomerization in the biosynthetic pathway of steroid hormones // *J Biol Chem*. - 2001. - Vol. 276. - №35. - P. 33061-33065.
191. Jones F.S., Meech R., Edelman D.B. et al. Prx1 controls vascular smooth muscle cell proliferation and tenascin-C expression and is upregulated with Prx2 in pulmonary vascular disease // *Circ Res*. - 2001. - Vol. 89. - №2. - P. 131-138.
192. Jung C., Gonon A.T., Sjöquist P.O., Lundberg J.O., Pernow J. Arginase inhibition mediates cardioprotection during ischaemia-reperfusion // *Cardiovasc Res*. - 2010. - Vol. 85. - №1. - 147-154.
193. Jung O., Marklund S.L., Geiger H. et al. Extracellular superoxide dismutase is a major determinant of nitric oxide bioavailability: in vivo and ex vivo evidence from ecSOD-deficient mice // *Circ Res*. - 2003. - Vol. 93. - №7. - P. 622-629.
194. Juul K., Tybjaerg-Hansen A., Marklund S. et al. Genetically reduced antioxidative protection and increased ischemic heart disease risk: The Copenhagen City Heart Study // *Circulation*. - 2004. - Vol. 109. - №1. - P. 59-65.
195. Kameda T., Ohkawa R., Yano K. et al. Effects of Myeloperoxidase-Induced Oxidation on Antiatherogenic Functions of High-Density Lipoprotein // *Journal of Lipids*. - 2015. - P. 1–8.
196. Kamerbeek N.M., van Zwieten R., de Boer M. et al. Molecular basis of glutathione reductase deficiency in human blood cells // *Blood*. - 2007. - Vol. 109. - №8. - P. 3560-3566.
197. Kanda T., Takahashi T. Interleukin-6 and cardiovascular diseases // *Jpn Heart J*. - 2004. - Vol. 45. - №2. - P. 183-193.

198. Kang J.H., Kim K.S., Choi S.Y. et al. Oxidative modification of human ceruloplasmin by peroxy radicals // *Biochim Biophys Acta*. - 2001. - Vol. 1568. - №1. - P. 30-36.
199. Kanas T., Acker J.P. Biopreservation of red blood cells – the struggle with hemoglobin oxidation // *FEBS Journal*. - 2010. - Vol. 277. - P. 343–356.
200. Karatolios K., Moosdorf R., Maisch B. et al. Cytokines in Pericardial Effusion of Patients with Inflammatory Pericardial Disease // *Mediators of Inflammation*. - 2012. - P. 1-7.
201. Karatzis E.N. The role of inflammatory agents in endothelial function and their contribution to atherosclerosis // *Hellenic J Cardiol*. - 2005. - Vol. 46. - №3. - P. 232-239.
202. Kevil C.G., Pruitt H., Kavanagh T.J. et al. Regulation of endothelial glutathione by ICAM-1: implications for inflammation // *FASEB J*. - 2004. - Vol. 18. - №11. - P. 1321-1323.
203. Kilic S.S., Aydin S., Kilic N. Serum arylesterase and paraoxonase activity in patients with chronic hepatitis // *World J Gastroenterol*. - 2005. - Vol. 11. - P. 7351-7354.
204. Kim J.H., Bugaj L.J., Oh Y.J. et al. Arginase inhibition restores NOS coupling and reverses endothelial dysfunction and vascular stiffness in old rats // *J Appl Physiol*. - 2009 - Vol. 107. - №4. - P. 1249-1257.
205. Kim Y.H., Lim D.S., Lee J.H. et al. Gene expression profiling of oxidative stress on atrial fibrillation in humans // *Exp Mol Med*. - 2003. - Vol. 35. - №5. - P. 336-349.
206. Kim S.J., Kim M.G., Kim K.S. et al. Impact of glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms on the smoking-related coronary artery disease // *J Korean Med Sci*. - 2008. - Vol. 23. - №3. - P. 365-372.
207. Kirii H., Niwa T., Yamada Y. et al. Lack of interleukin-1beta decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. - 2003. - Vol. 23. - №4. - P. 656-660.

208. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe // *J Leukoc Biol.* - 2005. - Vol. 77. - №5. - P. 598-625.
209. Kodydková J., Vávrová L., Kocík M. et al. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases // *Folia Biol.* - 2014. – Vol. 60. – №4. – P. 153-167.
210. Kontush A., Chapman M.J. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis // *Pharmacol Rev.* - 2006. - Vol. 58. - №3. - P. 342-374.
211. Kopicinovic L.M., Culej J. Pleural, peritoneal and pericardial effusions – a biochemical approach // *Biochemia Medica.* - 2014. - Vol. 24. - №1. - P. 123–137.
212. Kramer P.A., Chacko B.K., Ravi S. et al. Hemoglobin-associated oxidative stress in the pericardial compartment of postoperative cardiac surgery patients // *Laboratory Investigation.* - 2015. – Vol. 95. – P. 132–141.
213. Kulka M. A review of paraoxonase 1 properties and diagnostic applications // *Pol J Vet Sci.* - 2016. - Vol. 19. - №1. - P. 225-232.
214. Kunjathoor V.V., Tseng A.A., Medeiros L.A. et al.  $\beta$ -Amyloid promotes accumulation of lipid peroxides by inhibiting CD36-mediated clearance of oxidized lipoproteins // *Journal of Neuroinflammation.* - 2004. - Vol. 1. - №23. - P. 1-12.
215. Kutay V., Noyan T., Ozcan S. et al. Biocompatibility of heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits in coronary patients with left ventricular dysfunction is superior to PMEA-coated circuits // *J Card Surg.* - 2006. – Vol. 21. – №6. – P. 572–577.
216. Lahat N., Zlotnick A.Y., Shtiller R. et al. Serum levels of IL-1, IL-6 and tumour necrosis factors in patients undergoing coronary artery bypass grafts or cholecystectomy // *Clin Exp Immunol.* - 1992. - Vol. 89. - №2. - P. 255-260.
217. Landmesser U., Merten R., Spiekermann S. et al. Vascular Extracellular Superoxide Dismutase Activity in Patients With Coronary Artery Disease // *Circulation.* 2000. - Vol. 101. - P. 2264-2270.

218. Landmesser U., Spiekermann S., Dikalov S. et al. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase // *Circulation*. - 2002. - Vol. 106. - №24. - P. 3073-3078.
219. Lassègue B., Griendling K.K. NADPH oxidases: functions and pathologies in the vasculature // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. - 2010. - Vol. 30. - №4. - P. 653-661.
220. Lee Y.M., Park S.H., Shin D.I. et al. Oxidative modification of peroxiredoxin is associated with drug-induced apoptotic signaling in experimental models of Parkinson disease // *J Biol Chem*. - 2008. - Vol. 283. - №15. - P. 9986-9998.
221. Levy E., Trudel K., Bendayan M. et al. Biological role, protein expression, subcellular localization, and oxidative stress response of paraoxonase 2 in the intestine of humans and rats // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. - 2007. - Vol. 293. - №6. - P. 1252-1261.
222. Li H., Meininger C.J., Hawker J.R. Jr. et al. Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline syntheses in endothelial cells // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. - 2001. - Vol. 280. - №1. - P. 75-82.
223. Libby P., Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease // *Circulation*. - 2005. - Vol. 111. - №25. - P. 3481-3488.
224. Listowsky I. Proposed intracellular regulatory functions of glutathione transferases by recognition and binding to S-glutathiolated proteins // *J Pept Res*. 2005. - Vol. 65. - №1. - P. 42-46.
225. Liu H.R., Tao L., Gao E. et al. Rosiglitazone inhibits hypercholesterolaemia-induced myeloperoxidase upregulation--a novel mechanism for the cardioprotective effects of PPAR agonists // *Cardiovasc Res*. - 2009. - Vol. 81. - №2. - P. 344-352.
226. Liu J.Q., Zelko I.N., Folz R.J. Reoxygenation-induced constriction in murine coronary arteries: the role of endothelial NADPH oxidase (gp91phox) and

intracellular superoxide // *J Biol Chem.* - 2004. - Vol.279. - №23. - P. 24493-24497.

227. Loria V., Dato I., Graziani F. et al. Myeloperoxidase: A New Biomarker of Inflammation in Ischemic Heart Disease and Acute Coronary Syndromes // *Mediators Inflamm.* - 2008. - Vol. 2008. - P. 1-4.

228. Luoma J.S., Strålin P., Marklund S.L. et al. Expression of extracellular SOD and iNOS in macrophages and smooth muscle cells in human and rabbit atherosclerotic lesions: colocalization with epitopes characteristic of oxidized LDL and peroxynitrite-modified proteins // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 1998. - Vol. 18. - №2. - P. 157-167.

229. Lushchak V.I. Classification of oxidative stress based on its intensity // *EXCLI J.* - 2014. - Vol. 13. - P. 922-937.

230. Luyten C.R., Overveld F.J., De Backer L.A. et al. Antioxidant defence during cardiopulmonary bypass surgery // *European Journal of Cardiothoracic Surgery.* - 2005. – Vol. 27. – P. 611–616.

231. MacAllister R.J., Parry H., Kimoto M. et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase // *Br J Pharmacol.* 1996. - Vol. 119. - №8. - P. 1533-1540.

232. Madamanchi N.R., Moon S.K., Hakim Z.S. et al. Differential activation of mitogenic signaling pathways in aortic smooth muscle cells deficient in superoxide dismutase isoforms // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2005. – Vol. 25. – №5. – P. 950–956.

233. Mahajan R.D., Mishra B., Singla P. Ceruloplasmin - an update // *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.* - 2011. -Vol. 9. - P. 116-119.

234. Maisch B., Seferović P.M., Ristić A.D. et al. Guidelines on the diagnosis and management of pericardial diseases executive summary; The Task force on the diagnosis and management of pericardial diseases of the European society of cardiology // *Eur Heart J.* - 2004. - Vol. 25. - №7. - P. 587-610.

235. Mangaraj M., Kumari S., Nanda R. et al. Pleural fluid MDA and serum-effusion albumin gradient in pleural effusion // *Indian J Clin Biochem.* - 2008. - Vol. 23. - №1 - P. 81-84.
236. Mangge H., Becker K., Fuchs D. et al. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease // *World J Cardiol.* - 2014. - Vol. 6. - №6. - P. 462-477.
237. Markiewski M.M., Lambris J.D. The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight // *Am J Pathol.* 2007. - Vol. 171. - №3 - P. 715-727.
238. Marks P.A., Johnson A.B. Relationship Between the Age of Human Erythrocytes and Their Osmotic Resistance: A Basis for Separating Young and Old Erythrocytes // *J Clin Invest.* - 1958. - Vol. 37. - №11. - P. 1542-1548.
239. Mathy-Hartert M., Hogge L., Sanchez C. et al. Interleukin-1beta and interleukin-6 disturb the antioxidant enzyme system in bovine chondrocytes: a possible explanation for oxidative stress generation // *Osteoarthritis Cartilage.* - 2008. - Vol. 16. - №7 - P. 756-763.
240. McElhanon K.E., Bose C., Sharma R. et al. Gsta4 Null Mouse Embryonic Fibroblasts Exhibit Enhanced Sensitivity to Oxidants: Role of 4-Hydroxynonenal in Oxidant Toxicity // *Open J Apoptosis.* - 2013. - Vol. 2. - №1. - P. 1-22.
241. Mehta J.L., Li D. Identification, Regulation and Function of a Novel Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor. - 2002. - Vol. 39. - №. 9. - P. 1429-1435.
242. Meng Q.H., Zhu S., Sohn N. et al. Release of cardiac biochemical and inflammatory markers in patients on cardiopulmonary bypass undergoing coronary artery bypass grafting // *J Card Surg.* - 2008. - Vol. 23. - №6. - P. 681-687.
243. Meyers D.G., Meyers R.E., Prendergast T.W. The usefulness of diagnostic tests on pericardial fluid // *Chest.* - 1997. - Vol. 111. - №5. - P. 1213-1221.
244. Moreau M., Brocheriou I., Petit L. et al. Interleukin-8 mediates downregulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in cholesterol-

loaded human macrophages: relevance to stability of atherosclerotic plaque // *Circulation*. - 1999. - Vol. 99. - №3. - P. 420-426.

245. Mudau M., Genis A., Lochner A. et al. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis // *Cardiovasc J Afr*. - 2012. - Vol. 23. - №4. - P. 222-231.

246. Mueller C.F., Laude K., McNally J.S. et al. ATVB in focus: redox mechanisms in blood vessels // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. - 2005. - Vol. 25. - №2. - P. 274-278.

247. Mukhopadhyay C.K., Mazumder B., Lindley P.F. et al. Identification of the prooxidant site of human ceruloplasmin: A model for oxidative damage by copper bound to protein surfaces // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 1997. - Vol. 94. - №21. - P. 11546–11551.

248. Naghavi M., Libby P., Falk E. et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. // *Circulation*. - 2003. - Vol. 108. - №14. - P. 1664-1672.

249. Naik E, Dixit V.M. Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production. *The Journal of Experimental Medicine*. 2011. - Vol. 208. - №3. - P. 417-420.

250. Nakano A., Matsumori A., Kawamoto S. et al. Cytokine Gene Therapy for Myocarditis by In Vivo Electroporation // *Human gene therapy*. - 2001. - Vol. 12. - P. 1289–1297.

251. Nassour H., Wang Z., Saad A. et al. Peroxiredoxin 1 interacts with and blocks the redox factor APE1 from activating interleukin-8 expression // *Sci. Rep*. 2016. - Vol. 6. - №29389. - P. 1-17.

252. Negreva M.N., Georgiev S. J., Penev A.P. et al. Assessment of Copper Status in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation // *J Cardiobiol*. -2014 - Vol.2. - №2. - P. 1-5.

253. Netea M.G., van de Veerdonk F.L., van der Meer J.W. et al. Inflammasome-independent regulation of IL-1-family cytokines // *Annu Rev Immunol*. - 2015. - Vol. 33. - P. 49-77.



254. Nguyen S.D., Sok D.E. Oxidative inactivation of paraoxonase1, an antioxidant protein and its effect on antioxidant action // *Free Radic Res.* - 2003. - Vol. 37. - №12. - P. 1319-1330.
255. Nguyen S.D., Sok D.E. Preferential inhibition of paraoxonase activity of human paraoxonase 1 by negatively charged lipids // *J Lipid Res.* - 2004. - Vol. 45. - №12. - P. 2211-2220.
256. Noichri Y., Chalghoum A., Chkioua L. et al. Low erythrocyte catalase enzyme activity is correlated with high serum total homocysteine levels in tunisian patients with acute myocardial infarction // *Diagn Pathol.* - 2013. - Vol. 8. - №68. - P. 1-7.
257. Ochoa J.J., Vílchez M.J., Ibáñez S. et al. Oxidative stress is evident in erythrocytes as well as plasma in patients undergoing heart surgery involving cardiopulmonary bypass // *Free Radic Res.* 2003. – Vol. 37. – №1. –P. 11-17.
258. Oda M.N., Bielicki J.K., Ho T.T. et al. Paraoxonase 1 overexpression in mice and its effect on high-density lipoproteins // *Biochem Biophys Res Commun.* - 2002. - Vol. 290. - №3. - P. 921-927.
259. Okuno M., Nakagawa M., Shimada M. et al. Expressional patterns of cytokines in a murine model of acute myocarditis: early expression of cardiotrophin-1 // *Lab Invest.* - 2000. - Vol. 80. - №3. - P. 433-440.
260. Omar H.R., Mirsaeidi M., Socias S. et al. Plasma Free Hemoglobin Is an Independent Predictor of Mortality among Patients on Extracorporeal Membrane Oxygenation Support // *PLoS One.* - 2015. - Vol. 10. - 4. - P. 1-10.
261. Onorati F., Rubino A.S., Nucera S. et al. Off-pump coronary artery bypass surgery versus standard linear or pulsatile cardiopulmonary bypass: endothelial activation and inflammatory response // *Eur J Cardiothorac Surg.* - 2010. – Vol. 37. – №4. – P. 897-904.
262. Palomares T., Alonso-Varona A., Alvarez A. et al. Interleukin-2 increases intracellular glutathione levels and reverses the growth inhibiting effects of cyclophosphamide on B16 melanoma cells // *Clin. Exp. Metastasis.* - 1997. - Vol. 15. - P. 329–337.

263. Panichi V., Taccola D., Rizza G.M. et al. Ceruloplasmin and acute phase protein levels are associated with cardiovascular disease in chronic dialysis patients // *J Nephrol.* - 2004. - Vol. 17. - №5. - P. 715-20.
264. Pankuweit S., Wädlich A., Meyer E., Portig I., Hufnagel G., Maisch B. Cytokine Activation in Pericardial Fluids in Different Forms of Pericarditis // *Herz.* - 2000. - Vol. 25. - №8. - P. 748-754.
265. Pantovic S., Bozovic D., Nikolic G. et al. Markers of inflammation and antioxidant enzyme activities in restenosis following percutaneous coronary intervention // *J. Serb. Chem. Soc.* - 2015. – Vol. 80. – №2. – P. 143–157.
266. Park S.Y., Yu X., Ip C. et al. Peroxiredoxin 1 interacts with androgen receptor and enhances its transactivation // *Cancer Res.* - 2007. - Vol. 67. - №19. - P. 9294-9303.
267. Parthasarathy S., Raghavamenon A., Garelnabi M.O. et al. Oxidized Low-Density Lipoprotein // *Methods Mol Biol.* - 2010. - Vol. 610. - P. 403–417.
268. Parvizi R., Rahbani N.M., Hassanzadeh S. Oxidative stress and homocysteine metabolism following coronary artery grafting by on pump and off pump CABG techniques // *The Journal of Tehran University Heart Center.* - 2007. – Vol. 2. – №1. – P. 1–7.
269. Patti G., D'Ambrosio A., Mega S. et al. Early interleukin-1 receptor antagonist elevation in patients with acute myocardial infarction // *J Am Coll Cardiol.* - 2004. - Vol. 43. - №1. - P. 35-38.
270. Pepine C.J., Nichols W.W. The Pathophysiology of Chronic Ischemic Heart Disease // *Clin Cardiol.* - 2007. - Vol. 30. - №2. - P. 4-9.
271. Perry J.J., Shin D.S., Getzoff E.D. et al. The structural biochemistry of the superoxide dismutases // *Biochim Biophys Acta.* - 2010. - Vol. 1804. - №2. - P. 245-262.
272. Petersen A.M., Pedersen B.K. The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise // *J Physiol Pharmacol.* - 2006. - Vol. 57. - P. 43-51.

273. Pignatelli P., Pulcinelli F.M., Lenti L. et al. Hydrogen peroxide is involved in collagen-induced platelet activation // *Blood*. - 1998. - Vol. 91. - №2. - P. 484-490.
274. Plenz G., Song Z.F., Tjan T.D. et al. Activation of the cardiac interleukin-6 system in advanced heart failure // *Eur J Heart Fail*. - 2001. - Vol. 3. - №4. - P. 415-421.
275. Plicner D., Mazura P., Sadowski J. et al. Asymmetric dimethylarginine and oxidative stress following coronary artery bypass grafting: associations with postoperative outcome // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. - 2014. - Vol. 45. - P. 1–6.
276. Polgar J., Matuskova J., Wagner D.D. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad // *J Thromb Haemost*. - 2005. - Vol. 3. - №8. - P. 1590-1596.
277. Pompella A., Visvikis A., Paolicchi A., Tata V., Casini A. F. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist // *Biochemical Pharmacology*. - 2003. - Vol. 66. - P. 1499-1503.
278. Porntadavity S., Permpongpaiboon T., Sukketsiri W. Human paraoxonase 2 // *EXCLI Journal*. - 2010. - Vol. 9. - P. 159-172.
279. Preston T.J., Muller W.J., Singh G. Scavenging of Extracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by Catalase Inhibits the Proliferation of HER-2/Neu-transformed Rat-1 Fibroblasts through the Induction of a Stress Response // *The journal biological chemistry*. - 2001. - Vol. 276. - № 12. - P. 9558–9564.
280. Ramos V., Valenzuela A., Villanueva E. et al. Antioxidant-related enzymes in myocardial zones and human pericardial fluid in relation to the cause of death // *Int J Legal Med*. - 1997. - Vol. 110. - P. 1-4.
281. Rath M., Müller I., Kropf P. et al. Metabolism via Arginase or Nitric Oxide Synthase: Two Competing Arginine Pathways in Macrophages // *Frontiers in immunology*. - 2014. - Vol. 5. - № 532. - P. 1-10.
282. Reddy S.T., Wadleigh D.J., Grijalva V. et al. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 pro-

tein but is not regulated by oxidized lipids // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2001. - Vol. 21. - №4. - P. 542-547.

283. Ristić A.D., Pankuweit S., Maksimović R. et al. Pericardial cytokines in neoplastic, autoreactive, and viral pericarditis // *Heart Fail Rev.* - 2013 - Vol. 18. - №3. - P. 345-53.

284. Roberts W.C. Pericardial heart disease: its morphologic features and its causes // *Proc (Bayl Univ Med Cent).* - 2005. - Vol. 18. - №1. - P. 38–55.

285. Rodrigo R., Korantzopoulos P., Cereceda M. et al. A randomized controlled trial to prevent post-operative atrial fibrillation by antioxidant reinforcement // *J Am Coll Cardiol.* - 2013. – Vol. 62. – №16. – P. 1457–1465.

286. Roig M.E. Clinical use of markers of neurohormonal activation in heart failure // *Rev Esp Cardiol.* - 2004. - Vol. 57. - №4. - P. 347-356.

287. Romero L., Andrews K., Ng L. et al. Human GSTA1-1 reduces c-Jun N-terminal kinase signalling and apoptosis in Caco-2 cells // *Biochem J.* - 2006. - Vol. 400. - №1. - P. 135-41.

288. Rosenblat M., Aviram M. Paraoxonases role in the prevention of cardiovascular diseases // *Biofactors.* - 2009. - Vol. 35. - №1. - P. 98-104.

289. Rosenblat M., Coleman R., Aviram M. Increased macrophage glutathione content reduces cell-mediated oxidation of LDL and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice // *Atherosclerosis.* - 2002. - Vol. 163. - 1. - P. 17-28.

290. Rosenblat M., Volkova N., Coleman R. et al. Anti-oxidant and anti-atherogenic properties of liposomal glutathione: studies in vitro, and in the atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice // *Atherosclerosis.* - 2007. -Vol. 195. - №2. -P. 61-68.

291. Rother R.P., Bell L., Hillmen P. et al. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease // *JAMA.* - 2005. - Vol. 293. - №13. - 1653-1662.

292. Rubanenko O.A., Fatenkov O.V., Khokhlunov S.M. Predictors of new-onset atrial fibrillation in elderly patients with coronary artery disease after

coronary artery bypass graft // *Journal of Geriatric Cardiology*. - 2016. - Vol. 13. - P. 444-449.

293. Rudolph V., Andrié R.P., Rudolph T.K. et al. Myeloperoxidase acts as a profibrotic mediator of atrial fibrillation // *Nat Med*. - 2010. - Vol. 16. - №4. - P. 470-474.

294. Rus H.G., Vlaicu R., Niculescu F. Interleukin-6 and interleukin-8 protein and gene expression in human arterial atherosclerotic wall // *Atherosclerosis*. - 1996. - Vol. 127. - №2. - P. 263-271.

295. Sahoo S., Mukherjee B., Patra S. Comparative Study between Serum Ischemia Modified Albumin, Nitric Oxide Products and Malondialdehyde in Patients of Sepsis // *International Journal of Health Sciences & Research*. - 2015. - Vol.5. - P. 161-172.

296. Salman K.A., Ashraf S. Reactive Oxygen Species: A link between chronic inflammation and cancer // *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol*. - 2013. - Vol. 21. - №2. - P. 42-49.

297. Sancho P., Troyano A., Fernández C. et al. Differential effects of catalase on apoptosis induction in human promonocytic cells. Relationships with heat-shock protein expression // *Mol Pharmacol*. - 2003. - Vol. 63. - №3. - P. 581-589.

298. Santhanam L., Lim H. K., Lim H. K. et al. Inducible NO Synthase–Dependent S-Nitrosylation and Activation of Arginase1 Contribute to Age-Related Endothelial Dysfunction // *Circulation Research*. - 2007. - Vol. 101. - P. 692-702.

299. Sapira V., Cojocaru I.M., Socoliuc G. et al. Glutathione reductase levels in patients with unstable angina // *Rom J Intern Med*. - 2011. - Vol. 49. - №3. - P. 197-201.

300. Savoia C., Sada L., Zezza L. et al. Vascular inflammation and endothelial dysfunction in experimental hypertension // *Int J Hypertens*. -2011. Vol. 2011. - P. 1-8.

301. Savvatis K., Müller I., Fröhlich M. et al. Interleukin-6 receptor inhibition modulates the immune reaction and restores titin phosphorylation in experimental myocarditis // *Basic Res Cardiol*. - 2014. - Vol. 109. - №6. - P. 1-14.

302. Saxena T., Agarwal B.K., Sharma V.K. et al. Paraoxonase Activity in Prehypertension and its Relation to Oxidative Stress // *Biomedical & Pharmacology Journal*. - 2013. - Vol. 6. - №2. - P. 389-394.
303. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin 6 // *Biochim. Biophys. Acta*. - 2011. - Vol. 1813. - P. 878–888.
304. Schindhelm R. K., Zwan L. P., Teerlink T. et al. Myeloperoxidase: A Useful Biomarker for Cardiovascular Disease Risk Stratification? // *Clinical Chemistry*. - 2009. – Vol. 55. – №8. – P. 1462-1470.
305. Schlüter K.-D., Schulz R., Schreckenber R. Arginase induction and activation during ischemia and reperfusion and functional consequences for the heart // *Frontiers in Physiology*. - 2015. - Vol. 6. - № 65. - P. 1-8.
306. Schmitt J.P., Schröder J., Schunkert H., Birnbaum D.E., Aebert H. Role of apoptosis in myocardial stunning after open heart surgery // *Ann Thorac Surg*. - 2002. - Vol. 73. - №4. - P. 1229-1235.
307. Schriener S.E., Linford N.J. Extension of mouse lifespan by overexpression of catalase // *Age (Dordr)*. - 2006. - Vol. 28. - №2. - P. 209-218.
308. Schuett H., Luchtefeld M., Grothusen C. et al. How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis // *Thromb Haemost.* - 2009. - Vol. 102. - №2. - P. 215-222.
309. Schwager I., Jungi T.W. Effect of human recombinant cytokines on the induction of macrophage procoagulant activity // *Blood*. - 1994. - Vol. 83. - №1. - P. 152-160.
310. Schweikert E.-M., Devarajan A., Witte I. et al. PON3 is upregulated in cancer tissues and protects against mitochondrial superoxide-mediated cell death // *Cell Death Differ.* - 2012. - Vol. 19. - №9. - P. 1549–1560.
311. Sedighinejad A., Imantalab V., Mirmansouri A. et al. Effects of Low-dose Selenium on the Inflammatory Response in Coronary Artery Bypass Graft Surgery: A Clinical Trial // *Iran Red Crescent Med J*. - 2016. – Vol. 18. – №8. – P. 1–11.

312. Seligman J., Newton G.L., Fahey R.C., Shalgi R. Nonprotein thiols and disulfides in rat epididymal spermatozoa and epididymal fluid: role of gamma-glutamyl-transpeptidase in sperm maturation // *J Androl.* - 2005. - Vol. 26. - №5. - P. 629-637.
313. Semchyshyn H.M., Lushchak V.I. Interplay Between Oxidative and Carbonyl Stresses: Molecular Mechanisms, Biological Effects and Therapeutic Strategies of Protection // *InTech.* - 2012. - P. 15-46.
314. Seres L., Soós P., Székely M. et al. Antioxidant capacity of the human pericardial fluid: does gender have a role? // *Clin Chem Lab Med.* -2004. -Vol. 42. - №8. - P. 952-957.
315. Sharma R., Yang Y., Sharma A. et al. Antioxidant role of glutathione S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis // *Antioxid Redox Signal.* - 2004. – Vol. 6. – №2. – P. 289-300.
316. Shih D.M., Xia Y.R., Wang X.P. et al. Decreased obesity and atherosclerosis in human paraoxonase 3 transgenic mice // *Circ Res.* - 2007. -Vol. 100. - №8. - P. 1200-1207.
317. Shikama N., Terano T., Hirai A. A case of rheumatoid pericarditis with high concentrations of interleukin-6 in pericardial fluid // *Heart.* - 2000. - Vol. 83. - P. 711–712.
318. Shinde S., Kumar P., Neela P. Systemic inflammatory changes after off-pump and on-pump coronary artery bypass surgery // *IJTCVS.* - 2006. – Vol. 22. – P. 10–14.
319. Sibal L., Agarwal S.C., Home P.D. et al. The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease // *Curr Cardiol Rev.* - 2010. – Vol. 6. – №2. – P. 82-90.
320. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine // *Redox Biol.* - 2015. - Vol. 4. - P.180-183.
321. Sigfrid L.A., Cunningham J.M., Beeharry N. et al. Cytokines and nitric oxide inhibit the enzyme activity of catalase but not its protein or mRNA ex-

pression in insulin-producing cells // *J Mol Endocrinol.* 2003. –Vol. 31. – №3. – P. 509-518.

322. Simon J.N., Ziberna K., Casadei B. Compromised redox homeostasis, altered nitroso-redox balance, and therapeutic possibilities in atrial fibrillation // *Cardiovasc Res.* - 2016. - Vol. 109. - №4. - P. 510-518.

323. Simundic A.M. Diagnostic Accuracy—Part 1: Basic Concepts: Sensitivity and Specificity, ROC Analysis, STARD Statement // *Point of Care.* - 2012. - Vol.11. - P. 6-8.

324. Snefjellå N., Lappegård K.T. Development of post-pericardiotomy syndrome is preceded by an increase in pro-inflammatory and a decrease in anti-inflammatory serological markers // *Journal of Cardiothoracic Surgery.* - 2012. - Vol. 7. - P. 72-74.

325. Sniecinski R.M., Chandler W.L. Activation of the Hemostatic System During Cardiopulmonary Bypass // *Anesth Analg.* - 2011. - Vol. 113. - №6. - P. 1319-1333.

326. Sochaski M.A., Jarabek A.M., Murphy J. et al. 3-chlorotyrosine and 3,5-dichlorotyrosine as biomarkers of respiratory tract exposure to chlorine gas // *J Anal Toxicol.* - 2008. - Vol. 32. - №1. - P. 99-105.

327. Stahl G.L., Shernan S.K., Smith P.K. et al. Complement activation and cardiac surgery: a novel target for improving outcomes // *Anesth Analg.* - 2012. - Vol. 115. - №4. - P. 759-771.

328. Stamp L.K., Khalilova I., Tarr J.M. et al. Myeloperoxidase and oxidative stress in rheumatoid arthritis // *Rheumatology (Oxford).* - 2012. - Vol. 51. - №10. - P. 1796-1803.

329. Steyers C.M., Miller F.J Jr. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases // *Int J Mol Sci.* - 2014. - Vol. 15. - №7. - P. 11324-11349.

330. Stojkovic B., Vukovic P., Milojevic P. et al. Changes in Interleukin-6 and Highly Sensitive C-Reactive Protein in Patients who Underwent Redo Coronary Artery Bypass Grafting // *J Clin Exp Cardiol.* - 2011. – Vol. 7. – P. 1–6.



331. Sutherland W.H., de Jong S.A., Walker R.J. Hypochlorous acid and low serum paraoxonase activity in haemodialysis patients: an in vitro study // *Nephrol Dial Transplant.* - 2004. - Vol.19. - №1. - P.75-82.
332. Sydow K., Böger R. H. Reloaded: ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inaemia: effects of L-arginine and B vitamins // *Cardiovascular Research.* - 2012. - Vol. 96. - P. 167–171.
333. Takatsu H., Tasaki H., Kim H.N. et al. Overexpression of EC-SOD suppresses endothelial-cell-mediated LDL oxidation // *Biochem Biophys Res Commun.* - 2001. - Vol. 285. - №1. - P. 84-91.
334. Takhtfooladi H.A., Asl A.H.K., Shahzamani M. et al. Tramadol Alleviates Myocardial Injury Induced by Acute Hindlimb Ischemia Reperfusion in Rats // *Arq Bras Cardiol.* - 2015. – Vol. 105. – №2. – P. 151–159.
335. Tamarappoo B.K., Klein A.L. Post-pericardiotomy Syndrome // *Curr Cardiol Rep.* - 2016. - Vol. 18. - №116. - P. 1-5.
336. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL 6 in inflammation, immunity, and disease // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* - 2014. - Vol. 6. - № 10. - P. 1–16.
337. Tang W.H.W., Wu Y., Hartiala J. et al. Clinical and Genetic Association of Serum Ceruloplasmin with Cardiovascular Risk // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* - 2012. - Vol. 32. - №2. - P. 516–522.
338. Thomas J.P., Maiorino M., Ursini F. et al. Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation. In situ reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides // *J Biol Chem.* - 1990. - Vol. 265. - №1. - P. 454-461.
339. Tipping P.G., Hancock W.W. Production of tumor necrosis factor and interleukin-1 by macrophages from human atheromatous plaques // *Am J Pathol.* - 1993. - Vol. 142. - №6. - P. 1721–1728.
340. Toivonen H.J., Ahotupa M. Free radical reaction products and antioxidant capacity in arterial plasma during coronary artery bypass grafting // *The Journal Thoracic and cardiovascular surgery* - 1994. - Vol. 108. - P. 140–147.

341. Tosaki A., Edes I. The role of peroxiredoxins in ischemia-reperfusion-induced cardiac damage // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* - 2006. - Vol. 291. - P. 2586–2587.
342. Townsend D.M., Manevich Y., He L. et al. Novel role for glutathione S-transferase pi. Regulator of protein S-Glutathionylation following oxidative and nitrosative stress // *J Biol Chem.* - 2009. - Vol. 284. - №1. - P. 436-445.
343. Trachootham D., Lu W., Ogasowara M.A. et al. Redox Regulation of Cell Survival // *Antioxidants & redox signaling.*-2008.-Vol.10.-№8.-P. 1344-1348.
344. Tribble D.L., Barcellos-Hoff M.H., Chu B.M. et al. Ionizing Radiation Accelerates Aortic Lesion Formation in Fat-Fed Mice via SOD-Inhibitable Processes // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 1999. - Vol. 19. - P. 1387-1392.
345. Trocha M., Merwid-Ląd A., Szuba A. et al. Effect of selected drugs on plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels // *Adv Clin Exp Med.* - 2010. - Vol. 19. - №2. P. 233–243.
346. Ucar H.I., Tok M., Atalar E. et al. Predictive significance of plasma levels of interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein in atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery // *Heart Surg Forum.* - 2007. - Vol. 10. - №2. - P. 131-135.
347. Uysal A., Azak S., Colak M.C. et al. Perioperative High-Dose Amiodarone Elevates Nitric Oxide Levels in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Surgery // *Biomedical Research.* - 2013 – Vol.24. – №4. – P. 486–492.
348. Vacek T.P. Matrix metalloproteinases in atherosclerosis: role of nitric oxide, hydrogen sulfide, homocysteine, and polymorphisms // *Vascular Health and Risk Management.* - 2015. - Vol. 11. - P. 173–183.
349. Valko M., Leibfritz D., Moncol J. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *Int J Biochem Cell Biol.* - 2007. - Vol. 39. - №1. - P. 44-84.
350. van der Veen B.S., de Winther M.P., Heeringa P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease // *Antioxid Redox Signal.* 2009. - Vol. 11. - №11. - P. 2899-2937.

351. Vanhoutte P.M. Endothelial dysfunction and atherosclerosis // *Eur Heart J.* - 1997. - Vol. 18. - P. 19-29.
352. Vanhoutte P.M., Shimokawa H., Tang E.H.C. Endothelial dysfunction and vascular disease // *Acta Physiol.* - 2009. – Vol. 196. – P. 193–222.
353. Varghese S.J., Unni M.K., Mukundan N. et al. Platelet Functions in Cardiopulmonary Bypass Surgery // *Med J Armed Forces India.* - 2005. - Vol. 61. - №4. - P. 316–321.
354. Vasileiou P., Tsioufis C., Lazaros G. et al. Interleukin-8 as a predictor of acute idiopathic pericarditis recurrences. A pilot study // *Int J Cardiol.* - 2014. – Vol. 172. – №3. – P. 463–464.
355. Vicenová B., Vopálenský V., Burýsek L. et al. Emerging role of interleukin-1 in cardiovascular diseases // *Physiol Res.* - 2009. – Vol. 58. – №4. – P. 481-498.
356. Voetsch B., Jin R.C., Bierl C. et al. Role of promoter polymorphisms in the plasma glutathione peroxidase (GPx-3) gene as a risk factor for cerebral venous thrombosis // *Stroke.* - 2008. – Vol. 39. – №2. – P. 303-307.
357. Vukasovic J.L., Moraga F., Díaz-Araya G. et al. Oxidative stress in pericardial fluid and plasma and its association with ventricular function // *Int J Cardiol.*, 2005. – Vol. 101. – №2 – P. 197–201.
358. Wang X. L., Adachi T., Sim A. S. et al. Plasma extracellular superoxide dismutase levels in an Australian population with coronary artery disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998. - Vol. 18. - P. 1915–1921.
359. Watson A.D., Berliner J.A., Hama S.Y. et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein // *J Clin Invest.* - 1995. - Vol. 96. - №6. - P. 2882-2891.
360. Watson W.H., Chen Y., Jones D.P. Redox state of glutathione and thioredoxin in differentiation and apoptosis // *Biofactors.* - 2003. - Vol. 17. - P. 307-314.

361. Watterson T. Chemokines as Biomarkers // Quansys Biosciences. - 2013. - P.1-9.
362. Windsant I.C.V., de Wit N.C. J., Sertorio J.T.C. et al. Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage // *Front Physiol.* - 2014. - Vol. 5. - P. 1-9.
363. Wu T., Rifai N., Willett W.C. et al. Plasma Fluorescent Oxidation Products: Independent Predictors of Coronary Heart Disease in Men // *American Journal of Epidemiology.* -2007. - Vol. 166. - №5. - P. 544-551.
364. Wysocka A., Cybulski M., Berbeć H. et al. Prognostic value of paraoxonase 1 in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery // *Med Sci Monit.* - 2014. - Vol. 11. - №20. - P. 594-600.
365. Xia Y., Dawson V.L., Dawson T.M. et al. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 1996. - Vol. 93. - №13. - P. 6770–6774.
366. Yang H., Roberts L.J., Shi M.J. et al. Retardation of atherosclerosis by overexpression of catalase or both Cu/Zn-superoxide dismutase and catalase in mice lacking apolipoprotein E // *Circ Res.* - 2004. - Vol. 95. - №11. - P. 1075-1081.
367. Yang Z., Ming X.-F. Arginase: the emerging therapeutic target for vascular oxidative stress and inflammation // *Front Immunol.* - 2013. –Vol. 4. – P. 1–11.
368. Yang Z., Ming X.-F. Functions of Arginase Isoforms in Macrophage Inflammatory Responses: Impact on Cardiovascular Diseases and Metabolic Disorders // *Front Immunol.* - 2014. - Vol. 5. - P. 1-10.
369. Yue T.L., Wang X., Sung C.P. et al. Interleukin-8. A Mitogen and Chemoattractant for Vascular Smooth Muscle Cells // *Circ Res.* - 1994. - Vol. 75. - №1. - P. 1-7.

370. Zakkar M., Ascione R., James A.F. Inflammation, oxidative stress and postoperative atrial fibrillation in cardiac surgery // *Pharmacol. Ther.* - 2015. - Vol. 154. - P. 13–20.
371. Zarkovic N., Cipak A., Jaganjac M. et al. Pathophysiological relevance of aldehydic protein modifications // *J Proteomics.* - 2013. - Vol. 92. - P. 239-247.
372. Zhang R., Brennan M.L., Fu X et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease // *JAMA.* - 2001. - Vol. 286. - №17. - P. 2136-2142.
373. Zhang T.Z., Zhou J., Jin Q. et al. Protective effects of remifentanyl preconditioning on cerebral injury during pump-assisted coronary artery bypass graft // *Genet Mol Res.* - 2014. - Vol. 13. - №3. - 7658-7665.
374. Zheng L., Nukuna B., Brennan M.-L. et al. Apolipoprotein A-I is a selective target of myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease // *J. Clin. Invest.* - 2004. - Vol. 114. - P. 529–541.
375. Zhu C., Yu Y., Montani J.-P. et al. Arginase-I enhances vascular endothelial inflammation and senescence through eNOS-uncoupling // *BMC Res Notes.* - 2017. - Vol. 10. - №82. - P. 1-8.
376. Ziakas A., S. Gavriliadis, E. Souliou et al. Ceruloplasmin is a better predictor of the long-term prognosis compared with fibrinogen, CRP, and IL-6 in patients with severe unstable angina // *Angiology.* - 2009. - Vol.60. - №1. - P. 50–59.