

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

## **Вопросы медицинской химии**

*ISSN 0042-8809*

1989 том 35 выпуск 3

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности.

## **Voprosy meditsinskoï khimii**

The journal archive

*ISSN 0042-8809*

1989 volume 35 issue 3

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ 35

ВЫПУСК 3

МАЙ — ИЮНЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. А. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)

БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)

БЫЧКОВ С. М. (Москва)

КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)

КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)

ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)

ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)

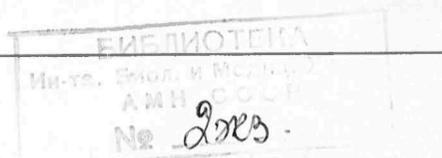
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)

ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)

ШАПОВ В. С. (Москва)

ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)

ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



39. Lindsey J. A., Zhang H., Kaseki H. et al. // *Lipids*. — 1985. — Vol. 20. — P. 151—157.
40. Machlin L. T. // *Handbook of Vitamins: Nutritional, Biochemical and Clinical Aspects*. — New York, 1984. — P. 99—145.
41. McCay P. B. // *Ann. Rev. Nutr.* — 1985. — Vol. 5. — P. 323—340.
42. Mori Y., Yokoyama T. // *Wakayama-ken Eisei Kagai Kenkyu Senta Nenpo*. — 1985. — Vol. 31. — P. 50—54.
43. Niki E., Takahashi M., Komura E. // *Chem. Lett.* — 1986. — N 9. — P. 1573—1576.
44. Niki E., Tsuchida J., Yoshikawa Y. et al. // *Bull. Chem. Soc. Jap.* — 1986. — Vol. 59. — P. 497—503.
45. Ozawa T., Hanaki A., Matsuo M. // *Biochem. int.* — 1983. — Vol. 6. — P. 685—692.
46. Peake I. R., Bieri J. G. // *J. Nutr.* — 1971. — Vol. 101. — P. 1615—1622.
47. Rao A. M., Singh V. C., Rao C. N. R. // *Biochim. biophys. Acta.* — 1982. — Vol. 711. — P. 134—137.
48. Rose C. S., Gyorgy P. // *Amer. J. Physiol.* — 1952. — Vol. 168. — P. 414—420.
49. Scarpa M., Rigo A., Maiorino M. // *Biochim. biophys. Acta.* — 1984. — Vol. 801. — P. 215—219.
50. Schaefer H. // *Ann. Nutr. Metab.* — 1984. — Vol. 28. — P. 297—304.
51. Schaefer H., Elmadfa J. // *Z. Tierphysiol. Futtermittelk.* — 1984. — Bd 51. — S. 26—36.
52. Smith D. W. // *J. Pediat. Gastroent.* — 1985. — Vol. 4. — P. 38—44.
53. Sokol R. J. // *Amer. J. clin. Nutr.* — 1985. — Vol. 4. — P. 66—72.
54. Tappel A. L. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1972. — Vol. 203. — P. 12—28.
55. Tappel A. L., Dillard C. J. // *Fed. Proc.* — 1981. — Vol. 40. — P. 174—178.
56. Tsuchiya J., Yamada T., Niki E., Kamiya Y. // *Bull. Chem. Soc. Jap.* — 1985. — Vol. 58. — P. 326—330.
57. Vitamin E and its Role in Cellular Metabolism // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1972. — Vol. 203.
58. Vitamin E. Biochemical, Hematological and Clinical Aspects // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1982. — Vol. 393.
59. Wu G.-S., Stein R. A., Mead J. F. // *Lipids*. — 1982. — Vol. 17. — P. 403—413.

Поступила 03.02.88

#### MOLECULAR ASPECTS OF THE VITAMIN E ANTIOXIDATIVE ACTIVITY: SPECIFIC REACTIONS OF $\alpha$ - AND $\gamma$ -TOCOPHEROLS

B. B. Aydarkhanov, E. A. Lokshina, E. G. Lenskaya

Kazakh Branch of the Institute of Nutrition, Academy of Medical Sciences of the USSR, Alma-Ata

Current data on mechanisms of vitamin E action are reviewed with the specific reference to the antioxidant theory. Experimental data relevant to this theory on  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherols reactions in biological and nonbiological systems are considered. Distinctly lower biological activity of  $\gamma$ -tocopherol, as compared with that of  $\alpha$ -tocopherol, was shown not to depend only on dissimilar antiradical properties of these two homologues. Tocopherol-binding proteins, exhibiting high affinity only to  $\alpha$ -tocopherol, appear to be responsible for realization of the biologically important reactions.

УДК 615.384:547.2211.015.4.07(048.8)

В. В. Образцов, А. Ю. Гришанова, В. М. Мишин

### ИНДУКЦИЯ МИКРОСОМНОЙ МОНООКСИГЕНАЗЫ ПОЛНОСТЬЮ ФТОРИРОВАННЫМИ ОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ (ОБЗОР)

Институт биологической физики АН СССР, Пушкино, Институт клинической и экспериментальной медицины СО АМН СССР, Новосибирск

В настоящее время широко известны примеры использования полностью фторированных органических соединений (ПФОС) в качестве газопереносящих сред в биологии и медицине. Так, эмульсия ПФОС апробирована в качестве основного компонента кровезаменяющего раствора для животных и человека [11, 26, 44, 47]. Известны также подходы к использованию ПФОС для жидкостного дыхания [21], экстракорпоральной оксигенации крови [32], выращивания бактериальных и животных клеток [16, 35] и др. Низкая энергия межмолекулярного взаимодействия во фторуглеродных жидкостях обеспечивает им способность к растворению больших объемов газов,

в том числе  $O_2$  и  $CO_2$  [39, 52]. До недавнего времени считалось, что высокая химическая инертность ПФОС [26, 58] может обеспечить полную биологическую и, в частности, биохимическую инертность фторуглеродов. Однако исследования последних лет, проведенные в нашей стране и за рубежом, опровергают эту точку зрения. Обнаружена способность ПФОС индуцировать ферменты цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной системы печени, принимающей участие в окислительном метаболизме огромного многообразия гидрофобных ксенобиотиков (лекарств, ядов, полициклических канцерогенных углеводов, пестицидов и т. д.) и эндогенных суб-

Некоторые физико-химические свойства ПФОС

ПФОС	Формула мол. масса	Давление па- ров при 37°C, мм рт. ст.	Критическая температура растворения в гексане, °C
ПФИ	C <sub>9</sub> F <sub>16</sub> 412	24	12
ПФД	C <sub>10</sub> F <sub>18</sub> 462	12,5	22,5
ПФГМ	C <sub>10</sub> F <sub>19</sub> NO 511	10	37
ПФТПА	C <sub>9</sub> F <sub>21</sub> N 521	20	43
ПФТГА	C <sub>12</sub> F <sub>20</sub> 524	3,8	24
ПФО	C <sub>8</sub> F <sub>18</sub> 438	50,5	14
ПФМЦГП	C <sub>12</sub> F <sub>23</sub> N 595	2	38
ПФТБА	C <sub>12</sub> F <sub>27</sub> N 671	1,14	61

Примечание. ПФИ — перфторпергидроидан, ПФД — перфтордекалин, ПФГМ — перфторциклогексилморфолин, ПФТПА — перфтортрипропиламин, ПФТГА — перфторпергидроацен афтен, ПФО — перфтороктан, ПФМЦГП — перфтор-*н*-метилциклогексилпиперидин, ПФТБА — перфтортрибутиламин. —

стратов (стероидных гормонов, жирных кислот, простагландинов) [56, 66].

В обзоре предпринята попытка проанализировать экспериментальные данные об индукции митохондриальной монооксигеназной системы ПФОС, сведения об отдельных физико-химических свойствах представлены в таблице.

Фторуглероды, используемые для приготовления газопереносящих сред, представляют собой достаточно однородный класс соединений [39, 52]. Несмотря на различную молекулярную массу и структуру, это высокопрозрачные, маслянистые жидкости с плотностью около 2 г/см<sup>3</sup> и температурой кипения выше 100°C, вязкостью 5—6 сП, показатель преломления близок к 1,3. Для всех фторуглеродов характерна примерно одинаковая способность растворять большие объемы газов, 40—50 мл O<sub>2</sub> на 100 мл ПФОС. Физико-химические свойства ПФОС принципиально отличаются от свойств их углеводородных аналогов. Помимо высокой химической инертности, обусловливающей неизменность ПФОС в организме [26], фторуглероды обладают крайне низкой растворимостью в воде [7] и аномально низкой растворимостью в углеводородных растворителях, в частности в липидах [14, 30].

Существовало несколько независимых направлений экспериментальных исследований ПФОС. В разное время получены сведения о взаимодействии ПФОС с митохондриальной монооксигеназной системой и влиянии фторуглеродов на функционирование этой системы. Прежде всего при проведении кровезамещения эмульсией ПФОС было выявлено, что через 1 ч после внутривенного введения ПФОС их субмикронные частицы оказываются в гепатоцитах в непосредственной близости к мембранам эндоплазматического ретикулума, где локализованы ферменты цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной цепи [49]. Максимальное повышение содержания ПФОС в печени наблюдается через 2 дня после введения эмульсии ПФОС [41]. Частицы ПФОС обнаруживаются также в клетках селезенки, почек, костного мозга и легких [3].

Во-вторых, было показано, что некоторые ПФОС при взаимодействии с изолированными митохондриями печени образуют фермент-субстратный комплекс с цитохромом Р-450 [26, 58]. Так, перфторгексан (ПФГ) образует фермент-субстратный комплекс I типа с K<sub>s</sub> 6·10<sup>-5</sup> M, причем в образовании этого комплекса участвует 25 % митохондриального цитохрома Р-450 [58]. Образование фермент-субстратного комплекса с цитохромом Р-450 удалось зарегистрировать для ПФД, ПФИ, ПФГМ, ПФТПА, ПФТГА, ПФО [14]. Однако такие соединения, как ПФМЦГП и ПФТБА, не образуют комплекса с цитохромом Р-450. Образование фермент-субстратных комплексов некоторых ПФОС, например ПФГ, с цитохромом Р-450 в митохондриях сопровождается увеличением скорости окисления НАДФ·Н, потребления O<sub>2</sub>, восстановления цитохрома Р-450 [6, 26, 58]. При добавлении ПФГ к митохондриям печени происходит разобщение процесса гидроксилирования, когда часть восстановительных эквивалентов расходуется на восстановление O<sub>2</sub>, в результате чего образуются перекись водорода, супероксидный радикал и вода. Достаточно подробно изучена стехиометрия окислительных реакций в митохондриях в присутствии ПФГ [6]. При добавлении ПФГ к митохондриям 81 % НАДФН расходуется на образование H<sub>2</sub>O, в то время как при свободном окислении —

50 %, а в присутствии истинных субстратов (анилина, амидопирина, бензфетамина) — 46 %, 15 и 22 % НАДФ·Н соответственно. По данным Гейера [26], способностью разобщать монооксигеназные реакции обладают любые ПФОС. Однако к этим данным следует относиться осторожно, поскольку они получены с промышленными партиями ПФОС, а по автору, процесс очистки снижал разобщающее действие фторуглеродов.

Наконец, при введении ПФОС в организм животного было обнаружено явление индукции микросомной монооксигеназной системы печени.

Прежде чем приступить к характеристике индуцирующих свойств ПФОС, кратко представим современное состояние вопроса об индукции ферментов цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной системы. Хорошо известно, что живой организм отвечает на введение различных гидрофобных ксенобиотиков увеличением (индукцией) ферментативной активности микросомной монооксигеназной системы [12, 56]. В огромном разнообразии индукторов выделяют 2 большие группы, принципиально различные по своим свойствам [22]. К 1-й группе относят вещества, усиливающие детоксицирующие эффекты монооксигеназной системы путем повышения скорости окисления многих гидрофобных ксенобиотиков и эндогенных субстратов монооксигеназ [22]. Типичным представителем этой группы является фенобарбитал. Вещества, относящиеся ко 2-й группе индукторов, более специфично влияют на ферменты монооксигеназной системы, которые участвуют в метаболизме полициклических ароматических углеводов и ответственны за их «метаболическую активацию» в электрофильные продукты, обладающие токсическими, мутагенными, канцерогенными и тератогенными свойствами. Наиболее изученный представитель этой группы — метилхолантрен.

В последнее десятилетие стало очевидно, что цитохром Р-450 — ключевой фермент микросомной монооксигеназной системы, представлен множественными молекулярными формами как с различной субстратной специфичностью, так и с различными каталитическими, иммунохимическими и спектральными свойствами, аминок-

кислотной последовательностью и молекулярной массой. Набор форм цитохрома Р-450, их количественное содержание в микросомах и функциональная активность монооксигеназной системы в целом зависят от воздействия на организм различных ксенобиотиков, вида, пола, возраста животных [27, 61, 65]. В настоящее время из микросом печени выделено в чистом виде и охарактеризовано по меньшей мере 10 различных молекулярных форм цитохрома Р-450 [51, 61, 64, 65]. Различные ксенобиотики-индукторы вызывают избирательный синтез специфических форм Р-450 [29].

До настоящего времени нет общепринятой классификации форм цитохрома Р-450, и различные группы исследователей применяют разные обозначения. При индукции фенобарбиталом (ФБ) наиболее детально описанными формами являются цитохромы Р-450<sub>б</sub> и Р-450<sub>е</sub> [25, 64] (по ряду критериев аналогичны ферментам, полученным в других лабораториях: соответственно Р-450<sub>РВ-В</sub> и Р-450<sub>РВ-О</sub> [29], Р-450<sub>РВ-4</sub> и Р-450<sub>РВ-5</sub> [65]). В семействе форм, индуцируемых метилхолантреном (МХ), основными формами являются Р-450<sub>с</sub> и Р-450<sub>а</sub> [64] (аналогичны цитохромам Р-450<sub>ВНР-В</sub> и Р-450<sub>ВНР/ISР-с</sub> [29]; Р-450<sub>МС</sub> и Р-450<sub>НСВ</sub> [27] соответственно).

Введение ПФОС в организм животных приводит к следующим изменениям в микросомах печени: увеличивается общее количество цитохрома Р-450 и активность НАДФ·Н-зависимой редуктазы [4, 13, 15, 33], при электрофорезе в ДС-Na — ПААГ возрастает интенсивность полипептидных полос в области мол. масс 50 кДа, соответствующих цитохрому Р-450 [1], ускоряется окисление НАДФН, падает скорость НАДФ·Н-зависимого перекисногo окисления липидов [13], увеличивается ряд монооксигеназных активностей (амидопирин-N-деметилазная, бензфетамин-N-деметилазная, алдрин-эпоксидазная) [4, 15]. Увеличение активности метаболизма данных субстратов характерно для индукции ФБ-типа [29, 67]. Напротив, метаболизм бензпирена и этоксирезорурфина — субстратов, характерных для индукции МХ типа, при проведении ПФОС не изменяется [4]. О возможной индукции форм цитохрома Р-450

из семейства как ФБ, так и МХ косвенным образом могут свидетельствовать результаты, полученные при изучении клиренса антипирина после введения животным фторуглеродной эмульсии «Флюозол-ДА» [54]. Зарегистрировано двукратное увеличение констант скоростей образования 2 метаболитов — 4-оксиантипирина и 3-метилантипирина, за продукцию которых, по мнению авторов, ответственны 2 различные формы цитохрома Р-450. Однако однозначных результатов, показывающих увеличение образования продуктов 4-оксиантипирина и 3-метилантипирина в результате метаболизма антипирина при индукции ФБ и МХ соответственно в литературе нет [60, 62].

В общем, сравнение микросомной монооксигеназной системы при введении ПФОС, ФБ и МХ по количеству и активности основных компонентов, каталитической активности и субстратной специфичности указывает на то, что эффекты ПФОС более сходны с эффектами ФБ, чем МХ.

Подтверждение ФБ-типа индукции ПФОС было получено при использовании в качестве инструмента моноспецифических антител против форм цитохрома Р-450, индуцируемых ФБ и МХ — анти-Р-450<sub>b</sub> и анти-Р-450<sub>c</sub> [4]. Выявлено иммунохимическое сходство цитохрома Р-450 в микросомах после введения ПФД с цитохромом Р-450, индуцируемым ФБ: в тесте двойной иммунодиффузии по Оухтерлони реакция преципитации антигена и антитела имела место лишь с анти-Р-450<sub>b</sub>, но не с анти-Р-450<sub>c</sub>.

Фторуглероды оказались эффективными индукторами цитохрома Р-450 при любом способе введения: внутривенное и внутрибрюшинное введение фторуглеродных эмульсий, внутрибрюшинное введение чистой фторуглеродной жидкости [14, 15]. Чувствительность системы организма, обеспечивающей индукцию цитохрома Р-450 в ответ на введение фторуглеродного ксенобиотика, в частности ПФД, примерно такая же, как и к ФБ: внутривенное введение эмульсии, содержащей 100—300 мг ПФД на 1 кг массы вызывает достоверное увеличение содержания цитохрома Р-450 [14]. С другой стороны, увеличение дозы вводимого внутривенно ПФД более чем до 1—2 г на 1 кг массы не приво-

дит к дальнейшему росту содержания цитохрома Р-450 в микросомах, а лишь поддерживает повышенный уровень цитохрома более длительное время [1].

Поскольку ПФОС не метаболизируется в организме, возникает вопрос о продолжительности их пребывания в организме и соответственно длительности процесса индукции цитохрома Р-450. При исследовании процессов удаления ПФОС из организма установлено, что ПФОС выводятся в основном с выдыхаемым воздухом, причем скорость выведения различных ПФОС может различаться более, чем на 3 порядка [45, 68]. Время полувыведения определяется формулой  $\lg t_{1/2} = 0,05 \cdot T_{кр} - 0,33 \cdot \lg P_n - 13,64$ , где  $t_{1/2}$  — время полувыведения (в сут),  $T_{кр}$  — критическая температура растворения данного ПФОС в гексане ( $K^\circ$ ),  $P_n$  — давление насыщенных паров при  $37^\circ C$  (в мм рт. ст.) [68]. Время полувыведения для ПФД и ПФТПА, определенное по приведенной формуле, равно соответственно 6 и 54 сут. При внутривенном введении ПФД крысам в дозе 0,6 г/кг уровень цитохрома Р-450 снижается до контрольного на 7—10 сут, при дозе 5 г/кг — на 15—20 сут. Следует отметить, что индукция цитохрома Р-450 под влиянием ПФОС протекает весьма сложным и до конца не ясным путем. Дело в том, что собственно эмульсия как корпускулярная система со средним размером частиц 0,1 мкм, активируя фагоциты и иммунную систему организма неспецифическим образом, подобно латексу или коллоидному углероду, может подавлять активность монооксигеназной системы, связанной со снижением уровня цитохрома Р-450 в микросомах печени [50]. При внутривенном введении животным эмульсии ПФТПА, медленно выводящегося индуктора, продолжительность индукции Р-450 не превышает таковую при введении эквивалентной дозы ПФД, хотя количество ПФТПА, задержанного в печени после окончания индукции, продолжает оставаться высоким. Несколько иная картина индукции цитохрома Р-450 наблюдается при внутрибрюшинном введении фторуглеродных жидкостей. Скорость выведения ПФОС в этом случае на порядок ниже, чем при внутривенном введении соответствующей дозы фтор-

углеродной эмульсии [45], а двукратный уровень цитохрома Р-450 в микросомах печени мышей сохраняется в течение 12—18 нед [15]. Следует заметить, что в данном случае значительно медленнее развивается и процесс индукции, достигая стационарного уровня ко 2—4-й неделе.

«Поскольку все различные метаболические процессы более или менее взаимосвязаны, было бы наивно полагать, что ксенобиотики индуцируют ферменты, метаболизирующие лекарства, без заметного влияния на другие аспекты клеточного метаболизма» [24]. Это положение справедливо и для индукции цитохрома Р-450 фторуглеродами. Доказано, что введение ПФОС сопровождается увеличением относительной массы печени [15], обусловленным как гипертрофией, так и гиперплазией гепатоцитов [41]. Проведены обширные исследования состояния функций печени после введения фторуглеродных эмульсий. Большею частью это патоморфологические, гистохимические работы, выполненные на животных [2, 3], и стандартные биохимические тесты, проведенные при клинических испытаниях фторуглеродных кровезаменителей [11, 44, 47]. Выявлено кратковременное повышение активности ряда ферментов в плазме крови, отражающее функциональное состояние печени в эксперименте на животных: глутаматдегидрогеназы, глутаматоксалоацетат трансминазы, щелочной и кислой фосфатазы, псевдохолинэстеразы [40, 43]. Изменяется активность АТФ-аз, глюкозо-6-фосфатазы, 5'-нуклеотидазы,  $\gamma$ -глутамилтрансферазы [41], НАДН- и НАДФН-диафораз, сукцинат- и лактатдегидрогеназ, неспецифической эстеразы [2]. Результаты, полученные при клинических испытаниях фторуглеродных эмульсий, свидетельствуют о том, что, несмотря на осложненность картины патологическим процессом, влияние ПФОС на функции печени кратковременно и незначительно [11, 44, 47]. В целом характер изменений функций печени при введении фторуглеродных эмульсий сложен и разнообразен. Связь этих изменений с процессом индукции ферментов монооксигеназной системы неочевидна, так как, как правило, процесс индукции протекает на фоне гипоксии, выраженной токсичности отдельных компонен-

тов эмульсии, клинической патологии и пр. Следует подчеркнуть, что изменения функции печени носят временный характер, а реакции некроза или воспаления не наблюдаются.

Характер влияния ПФОС на активность ферментов II стадии детоксикации ксенобиотиков остается невыясненным. На фоне индукции цитохрома Р-450 фторуглеродами активность уридиндифосфат-глюкуронилтрансферазы в микросомах печени превышает контрольный уровень в 1,2 раза, что соответствует представлениям о ФБ-типе индукции ПФОС [19].

Индукция ферментов монооксигеназной системы печени при введении фторуглеродных эмульсий сопровождается изменением фармакокинетики различных лекарственных средств. На фоне введения фторуглеродов исследован метаболизм таких фармакологических препаратов, как пентобарбитал [42], фенитоин [54, 55], диазепам [37], морфин [36]. Подробнее всего изучена фармакокинетика гексенала и антипирина [36, 54, 55]. Первое соединение позволяет оценить функцию монооксигеназной системы по продолжительности гексеналового сна, второе — по концентрации антипирина или его продуктов в биологических жидкостях. Показано, что введение фторуглеродной эмульсии вызывает двухфазное изменение в скорости метаболизма гексенала и антипирина: на первой стадии, продолжающейся около 1 сут наблюдается подавление биотрансформации данных соединений, на второй, продолжающейся 48—72 ч и более, длительность гексеналового сна значительно уменьшается, клиренс антипирина увеличивается почти вдвое. Наблюдаемая картина соответствует представлениям о механизме индукции цитохрома Р-450, согласно которому потенциальные индукторы на первоначальных этапах обычно вызывают ингибирование активности монооксигеназной системы [56].

Метаболизм экзогенных соединений в печени контролируется различными факторами, наиболее важными из которых являются скорость печеночного кровотока, эффективность экстракции вещества печенью, объем распределения и др. [66]. Анализ данных о фармакокинетике лекарств на фоне введения фторуглеродных эмульсий свидетельствует о неоднозначности влияния

фторуглеродных эмульсий на метаболизм лекарственных препаратов в печени. Известно, что «Флюозол-ДА» значительно уменьшает печеночный кровоток [18], изменяет связывание лекарств с сывороточным альбумином [48]. Влияние фторуглеродов функции печени имеет сложный характер и, по-видимому, зависит от дозы и времени, что является важным аспектом в исследовании влияния ПФОС на распределение лекарств. Так, известно, что время полужизни пенициллина в кровотоке крыс значительно длиннее через 0,5 ч после введения «Флюозола-ДА», чем через 48 ч [31].

Суммируя сведения о влиянии ПФОС на функционирование микросомной монооксигеназной системы печени, можно заключить, что фторуглероды являются индукторами ферментной системы метаболизма ксенобиотиков, относящимся к группе индукторов ФБ-типа. Об этом свидетельствуют данные, касающиеся субстратной специфичности и иммунохимических свойств цитохрома Р-450, индуцируемого при введении в организм ПФОС.

Индущирующими свойствами при попадании в организм обладают лишь те ПФОС, которые образуют спектрально регистрируемый фермент-субстратный комплекс с цитохромом Р-450 в микросомах [14, 33]. Это подтверждает, что для индукции ферментов монооксигеназы необходимым этапом является образование фермент-субстратного комплекса с индуктором [28]. Анализ физико-химических свойств ПФОС показывает, что индукцию цитохрома Р-450 способны вызывать соединения, обладающие достаточно высокой растворимостью в воде и липидах. Важным параметром оказывается также давление насыщенных паров ПФОС при 37°C, поскольку введение фторуглеродов с давлением паров выше 30 мм рт. ст., например ПФО, приводит к гибели животных в результате газовой эмболии [14]. Необходимыми величинами растворимости и давления паров обладают ПФОС с числом атомов в интервале  $C_9—C_{12}$  и  $F_{16}—F_{21}$ , что соответствует мол. массе фторуглеродного индуктора 400—550 Да. Присутствие гетероатомов азота и кислорода, как и детали строения молекулы ПФОС, по-видимому, не влияют на способность этих соединений индуцировать цитохром Р-450 [14].

Такие свойства ПФОС, как способность вызывать индукцию ФБ-типа и инертность при взаимодействии с ферментами монооксигеназной системы, подтверждают, что фенобарбитал и другие индукторы этого типа вызывают индукцию исходной молекулой, не претерпевающей предварительного метаболического превращения [12]. Как известно, механизм индукции большинства форм цитохрома Р-450 еще не выяснен. Синтез форм цитохрома Р-450 в ответ на введение ПФОС, сходных по иммунологическим свойствам и субстратной специфичности с ФБ-индуцируемыми формами, может представлять интерес и с этой точки зрения, так как ПФОС и ФБ — вещества различной химической природы. Показан синтез форм цитохрома Р-450 ФБ семейства в микросомах печени животных в ответ на введение соединений, существенно различающихся по химической структуре и свойствам — гексахлорбензола, гексахлорциклогексана, ксилола, полихлорированных бифенилов [5]. Решение проблемы взаимоотношения химической структуры индукторов и молекулярных видов индуцируемых цитохромов, идентификация цитохромов Р-450, индуцируемых различными химическими соединениями, может быть существенным этапом в объяснении механизма индукции микросомной монооксигеназной системы ксенобиотиками.

#### *Возможные последствия применения кровезаменителей на основе фторуглеродов*

Несмотря на многочисленные примеры клинического применения фторуглеродных эмульсий, возможность индукции ферментов микросомной монооксигеназной системы фторуглеродами у человека не доказана. Анализ результатов биохимических исследований не позволяет сделать заключение об активации детоксицирующей функции печени при внутривенном введении эмульсий ПФОС, поскольку в этих случаях процесс индукции цитохрома Р-450, если он имел место, выявлялся на фоне патологии или выздоровления. Общее состояние организма, как и диета, возраст, пол пациента несомненно влияют на активность монооксигеназной системы [17, 50].

Однако в настоящее время накоп-

лен обширный экспериментальный материал, позволяющий с достаточной уверенностью прогнозировать последствия индукции монооксигеназной системы фторуглеродами у человека. Допуская, что «фенобарбиталовый» тип индукции цитохрома Р-450, как и основные закономерности процесса индукции, выявленные у животных, имеют место у человека, можно ожидать следующих изменений состояния монооксигеназной системы печени пациентов, получивших фторуглеродную эмульсию.

1. Фторуглеродные эмульсии, как и большинство индуцирующих средств временно, до наступления индукции, угнетают детоксицирующую функцию печени и поэтому в острых токсических состояниях могут ухудшить состояние больного.

2. В период индукции монооксигеназной системы можно ожидать изменения фармакокинетики и фармакодинамики некоторых лекарств. Следовательно, традиционный дозовый режим для лекарств, подвергающихся окислительному метаболизму микросомной монооксигеназной системой печени, не может быть применен к пациентам, для лечения которых были использованы фторуглеродные эмульсии.

3. Введение фторуглеродов будет потенцировать действие различных ядов, в частности четыреххлористого углерода, токсический эффект которого связан с продуктами метаболизма данного соединения, образующихся на цитохроме Р-450.

4. Субстратами цитохрома Р-450, помимо ксенобиотиков, являются разнообразные эндогенные соединения — жирные кислоты, стероиды, простагландины и др. [38]. Однако пока трудно сделать какие-либо предположения о влиянии индукции ферментов монооксигеназ на метаболизм этих соединений и последующее состояние организма. Существует мнение, что индукция цитохрома Р-450 не может значительно изменить уровень стероидных гормонов, поскольку они быстро замещаются по компенсаторным механизмам [56]. Известно также, что метаболизм простагландинов микросомами печени ФБ-индуцированных животных мало отличается от контроля [38]. С другой стороны, описаны клинические случаи дефицита витамина

Д, неудачной контрацепции стероидами, уменьшения времени полужизни кумариновых антикоагулянтов на фоне длительного применения лекарств, обладающих способностью индуцировать цитохром Р-450 [20, 34, 46].

5. Возможная функциональная сопряженность цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной и иммунной систем [9] предполагает искажение иммунного ответа организма при введении ксенобиотиков-индукторов. Вызывая индукцию цитохрома Р-450, ПФОС, по-видимому, способны оказывать иммунодепрессивное действие [10].

При анализе возможного влияния фторуглеродных индукторов на монооксигеназную систему и соответственно на состояние пациентов следует иметь в виду, что, во-первых, существует высокая вариабельность (до 34 раз в группе из 200 человек) содержания цитохрома Р-450 в печени [57], во-вторых, активность монооксигеназной системы печени человека, оцениваемая в антипириновом тесте у здоровых испытуемых, может отклоняться от средних значений в 2—3 раза [23], в-третьих, активность монооксигеназной системы, как и ее индукцибельность ксенобиотиками, строго индивидуальна и генетически детерминирована [63].

Учитывая эти факты, можно надеяться, что предполагаемое длительное повышение уровня «фенобарбиталовых» форм цитохрома Р-450 в печени не будет катастрофическим образом отражаться на состоянии пациентов после введения им фторуглеродной эмульсии. Опыт экспериментального и клинического применения фторуглеродных эмульсий свидетельствует в пользу этого предположения.

#### *Перспективы использования фторуглеродных индукторов цитохрома Р-450 в экспериментальной и клинической медицине*

Индукция ферментов монооксигеназной системы печени химически инертными ПФОС позволяет по-новому рассматривать идеи Кошля [22] о различных путях фармакологического применения индукции микросомальных ферментов. Примерами такого применения могут быть изменения фармакокинетики гексенала и антипирина. Любой углеводородный ксено-

биотик, являющийся индуктором ферментов монооксигеназ, или продукты его гидроксילирования, как правило, обладают физиологической активностью, т. е., помимо эффекта индукции, вызывают либо наркотический сон, либо имеют специфическое терапевтическое действие, либо являются ядами, в частности канцерогенами. Исключением является препарат зиксорин или флумениол (трифторметил- $\alpha$ -этилбензгидрол), выпускаемый фирмой «Гедеон Рихтер», ВНР, который как индуктор ФБ-типа предназначен исключительно для активации детоксицирующей функции печени [8]. Тем не менее зиксорин даже в малых дозах дает ряд побочных эффектов: слабость, сонливость, напряжение в области печени, сухость во рту и др. Представляется существенным также то обстоятельство, что зиксорин в эксперименте является для животных «слабым» индуктором, если он применен в дозах, эквивалентных используемым в клинической практике [59]. Предположить, что максимальная индукция монооксигеназной системы печени у человека может достигаться меньшим количеством индуктора, чем у экспериментальных животных, трудно, и нам неизвестны литературные данные, доказывающие подобное предположение. В отличие от других соединений ПФОС, введенные в организм в огромных дозах (внутрибрюшинно — 25 г на 1 кг массы тела, внутривенно — полное замещение циркулирующей крови на 20 % фторуглеродную эмульсию), не приводят к возникновению побочных эффектов. Вместе с тем доза ПФД, необходимая для выраженной индукции монооксигеназной системы у животных, сопоставима в пересчете на 1 кг массы с дозой, применяемой в клинической практике при кровезамещении. Поэтому можно предположить, что введение ПФОС в разрешенных количествах будет сопровождаться более выраженной индукцией ФБ-типа монооксигеназной системы печени человека по сравнению с эффектом такого препарата, как зиксорин.

Пока неясно, при каких патологических состояниях организма фторуглеродные индукторы будут оказывать благоприятное действие. По аналогии с зиксоринном ПФОС могут быть эффективными для предупреждения

желтухи новорожденных, болезни Жильбера, болезни Кушинга, синдрома Криглера — Найяра, доброкачественного внутрипеченочного холестаза, цирроза печени, неинсулинового диабета, постгепатитной билирубинемии, тиреотоксикоза. Намечены подходы к применению фторуглеродных индукторов для повышения эффективности химиотерапии рака, профилактики хронических и лечения острых отравлений, коррекции гормонального статуса организма. В любом случае применения ПФОС должны учитываться особенности последних как индукторов цитохрома Р-450, в частности ФБ-тип индукции, зависимость продолжительности индукции от дозы, способа введения, типа фторуглерода и пр.

Влияние ПФОС на монооксигеназную систему печени представляет собой наглядный пример биологической активности химически инертных соединений. Принципиальные различия физико-химических свойств ПФОС и углеводородных ксенобиотиков дают исследователям возможность разработки новых подходов к изучению механизмов индукции ферментов монооксигеназной системы, не осложненных побочными эффектами, характерными, как правило, для обычных ксенобиотиков. С другой стороны, перспективы клинического использования фторуглеродов ставят ряд задач, связанных прежде всего с идентификацией молекулярных форм цитохрома Р-450, синтезирующихся в печени человека в ответ на введение фторуглеродных эмульсий. Исследование специфичности этих форм цитохрома Р-450 к различным экзогенным субстратам и эндогенным метаболитам необходимо для прогнозирования долгосрочных эффектов ПФОС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Белоярцев Ф. Ф., Иваицкий Г. Р., Маевский Е. И. и др. // Докл. АН СССР. — 1986. — Т. 286. — С. 729—732.
2. Васильев А. Э. // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино, 1983. — С. 157—167.
3. Васильев А. Э., Голубев А. М. // Фторуглеродные газонепроницаемые среды. — Пушкино, 1984. — С. 130—134.
4. Гришанова А. Ю., Образцов В. В., Шехтман Д. Г. и др. // Биохимия. — 1987. — Т. 52. — С. 1138—1143.
5. Гуткина И. И., Мишин В. М., Ляхович В. В. // Там же. — 1986. — Т. 51. — С. 1227—1233.

6. Жуков А. А., Арчаков А. И. // Там же. — 1985. — Т. 50. — С. 1939—1952.
7. Кабальнов А. С., Апросин Ю. Д., Павлова-Веревкина О. Б. и др. // Коллоид. журн. — 1986. — Т. 48. — С. 27—33.
8. Кирай А. // Клиническое значение препарата зиксорин / Под ред. Л. Форгач. — Будапешт, 1983. — С. 7—21.
9. Ковалев И. Е., Полевая О. Ю. Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным химическим соединениям. — М., 1985. — С. 180—241.
10. Ковалев И. Е., Рубцова Е. Р., Подымова И. Г. и др. // Фармакол. и токсикол. — 1986. — № 2. — С. 28—31.
11. Крылов Н. Л., Мороз В. В., Белоярцев Ф. Ф. Восп.мед. журн. — 1985. — № 8. — С. 36—40.
12. Ляхович В. В., Цырлов И. Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. — Новосибирск, 1981.
13. Образцов В. В., Шехтман Д. Г., Сологуб Г. Р. и др. // Биохимия. — 1985. — Т. 50. — С. 1220—1227.
14. Образцов В. В., Шехтман Д. Г., Склифас А. Н., Макаров К. И. // Там же. — 1988. — Т. 53. — С. 613—619.
15. Хлопушина Г. Г., Ковалев И. Е., Лысенкова Е. М. // Там же. — 1986. — Т. 51. — С. 664—667.
16. Adlercreutz P., Mälliasson B. // Europ. J. appl. Microbiol. Biotechnol. — 1982. — Vol. 16. — P. 165—171.
17. Bidlack W. R., Brown R. C., Mohan C. // Fed. Proc. — 1986. — Vol. 45. — P. 142—148.
18. Bizot W. B., Rink R. D. // Experientia (Basel). — 1985. — Vol. 41. — P. 1127—1129.
19. Bock K. W., Lilienblum W., Ullrich D. et al. // Biochem. Soc. Trans. — 1984. — Vol. 12. — P. 55—58.
20. Bolt H. M., Kappus M., Bolt M. // Europ. J. clin. Pharmacol. — 1975. — Vol. 8. — P. 301—307.
21. Clark L. C. Jr., Gollan F. // Science. — 1966. — Vol. 152. — P. 1755—1756.
22. Conney A. H. // Pharmacol. Rev. — 1967. — Vol. 19. — P. 317—366.
23. Danhof M. // Pharm. Weekbl. — 1981. — Vol. 3. — P. 270—271.
24. De Pierre J. W., Seidegard J., Morgenstern R. et al. // Biochem. Soc. Trans. — 1984. — Vol. 12. — P. 58—60.
25. Fujii-Kuriyama Y., Sogawa K., Suwa Y. et al. // Microsomes and Drug Oxidation / Ed. A. R. Boobis et al. — Brighton, 1985. — P. 107—117.
26. Geyer R. P. // Oxygen Carrying Colloidal Blood Substitutes / Ed. R. Frey et al. — München, 1981. — P. 19—29.
27. Goldstein J. S., Linko P., Luster M. J. et al. // J. biol. Chem. — 1982. — Vol. 257. — P. 2702—2707.
28. Greim H. // Concepts in Drug Metabolism / Ed. P. Jenner, B. Testa. — New York, 1981. — Pt B. — P. 219—263.
29. Guengerich F. P., Dannan G. A., Wright S. Y. et al. // Biochemistry (Wash.). — 1982. — Vol. 21. — P. 6019—6030.
30. Hildebrand J. H., Prausnitz J. M., Scott R. L. // Regular and Related Solutions. — New York, 1970. — P. 166—219.
31. Hodges G. R., Worley S. E., Kemner J. M. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. — 1984. — Vol. 26. — P. 903—908.
32. Howlett S., Dundas B. A., Sabiston D. C. // Arch. Surg. — 1965. — Vol. 91. — P. 643—645.
33. Huang R., Cooper D. Y., Sloviter H. A. // Fed. Proc. — 1987. — Vol. 46. — P. 2048.
34. Hunter J. // Anticonvulsant Drugs and Enzyme Induction / Ed. A. Richens et al. — Amsterdam, 1976. — P. 77—84.
35. Keese C. R., Giaever I. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1983. — Vol. 80. — P. 5622—5626.
36. Kemner J. M., Snodgrass W. R., Worley S. E. // J. lab. clin. Med. — 1984. — Vol. 104. — P. 433—444.
37. Kemner J. M., Snodgrass W. R., Worley S. E. et al. // Res. Commun. chem. Path. Pharmacol. — 1984. — Vol. 46. — P. 381—400.
38. Kupfer D. // Hepatic Cytochrome P-450 Monooxygenase System / Ed. J. B. Schenkman et al. — Oxford, 1982. — P. 157—183.
39. Le Blanc M., Riess J. G. // Preparation, Properties and Industrial Application of Organofluorine Compounds. — Chichester, 1982. — P. 83—138.
40. Lowe K. C., McNaughton D. C. // Experientia (Basel). — 1985. — Vol. 42. — P. 1228—1231.
41. Lutz J., Metzner P., Kunz E. et al. // Oxygen Carrying Colloidal Blood Substitutes / Ed. R. Frey et al. — München, 1981. — P. 73—81.
42. Lutz J., Wagner M. // Artif. Organs. — 1984. — Vol. 8. — P. 41—43.
43. Metzner P., Lutz J. // Oxygen Carrying Colloidal Blood Substitutes / Ed. R. Frey et al. — München, 1981. — P. 82—85.
44. Mitsuno T., Ohyanagi H., Naito R. // Amer. Surg. — 1982. — Vol. 195. — P. 60—69.
45. Moore R. E., Clark L. C. Jr. // Oxygen Carrying Colloidal Blood Substitutes / Ed. R. Frey et al. — München, 1981. — P. 50—60.
46. Nelson S. D. // Burgers Medicinal Chemistry / Ed. M. E. Wolff. — New York, 1980. — Pt I. — P. 227—269.
47. Ohyanagi H., Nakaya S., Okumura S. et al. // Artific. Organs. — 1984. — Vol. 8. — P. 10—18.
48. Parsons D. I. // Arch. int. Pharmacodyn. — 1987. — Vol. 286. — P. 23—30.
49. Pfannkuch F., Schonoy N., Ohlachlegel Ch. et al. // Oxygen Carrying Colloidal Blood Substitutes / Ed. R. Frey et al. — München, 1981. — P. 61—65.
50. Renton K. W., Singh G. // Immunotoxicology: A Current Perspective of Principles and Practice / Ed. P. W. Mullen. — Berlin, 1984. — P. 97—103.
51. Ryan D. E., Ramanathan L., Iida et al. // J. biol. Chem. — 1985. — Vol. 260. — P. 6385—6393.
52. Sargent J. W., Seffl R. J. // Fed. Proc. — 1970. — Vol. 29. — P. 1699—1703.
53. Shrewsbury R. P., White S. G., Pollack G. M. et al. // J. Pharm. Pharmacol. — 1986. — Vol. 38. — P. 883—887.
54. Shrewsbury R. P. // Res. Commun. chem. Path. Pharmacol. — 1987. — Vol. 55. — P. 375—396.
55. Shrewsbury R. P., Lewis L. M., Oliver S. R. // J. Pharm. Pharmacol. — 1987. — Vol. 39. — P. 349—356.
56. Snyder R., Remmer H. // Hepatic Cyto-

- chrome P-450 Monooxygenase System. / Ed. J. B. Schenkman et al. — Oxford, 1982. — P. 227—268.
57. Solaniemi E. A. // Acta pharmacol. (Kbh.). — 1974. — Vol. 41, Suppl. 4. — P. 34—36.
58. Staudt H., Lichtenberger F., Ullrich V. // Europ. J. Biochem. — 1974. — Vol. 46. — P. 99—104.
59. Szeberenyi S., Palosi E., Szporny L. // Arzneimittel-Forsch. — 1978. — Bd 28. — S. 663—668.
60. Teunissen M. W. E., Brorens J. O. N., De Langen H. J. et al. // Pharm. Res. — 1986. — Vol. 3. — P. 156—161.
61. Thomas P. E., Reik L. M., Ryan D. E. et al. // J. biol. Chem. — 1983. — Vol. 258. — P. 4590—4598.
62. Van der Graff M., Vermeulen N. P. E., Joeres R. P. et al. // J. Pharmacol. exp. Ther. — 1983. — Vol. 227. — P. 459—465.
63. Vessell E. S., Penno M. B. // Biochem. Soc. Trans. — 1984. — Vol. 12. — P. 74—78.
64. Vlasuk J. P., Grayel J., Ryan D. et al. // Biochemistry (Wash.). — 1982. — Vol. 21. — P. 787—798.
65. Waxman D. J., Walsh C. // Ibid. — 1983. — Vol. 22. — P. 4846—4855.
66. Wilkinson G. R., Schenker S. // Drug Metabolism Reviews / Ed. F. J. Di Carlo. — New York, 1979. — Vol. 4. — P. 139—175.
67. Wolf T., Deml E., Wenders H. // Drug Metab. Dispos. — 1979. — Vol. 7. — P. 301—305.
68. Yamanouchi K., Tanaka M., Tsuda Y. et al. // Chem. pharm. Bull. — 1985. — Vol. 33. — P. 1221—1231.

Поступила 30.12.87

УДК 616.13-004.6-092:616.153.915-39-07

В. З. Ланкин, А. М. Вихерт, А. К. Тихазе, С. М. Согоян, Т. Н. Бондарь

## РОЛЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА (ОБЗОР)

Институт клинической кардиологии ВКНЦ АМН СССР, Москва

В настоящее время можно выделить две основные теории этиологии атеросклероза [73]. Согласно первой, атеросклероз развивается вследствие отложения липидов в стенке сосудов в результате увеличения абсолютного содержания липидов крови или нарушения метаболизма липопротеинов (ЛП). Вторая теория основана на том, что для возникновения болезни необходимо повреждение стенки сосуда (механическое, химическое или иммунологическое), причем отложение липидов хотя и играет важную роль в прогрессировании повреждения, но является вторичным. Накопление холестерина (ХС) в зонах атеросклеротического поражения стенки сосуда было отмечено еще в конце прошлого столетия, однако особое значение этот факт приобрел после опытов Н. Н. Аничкова и С. С. Халатова, в которых добавление ХС в рацион кроликов приводило к образованию поврежденных аорты, напоминающих атеросклеротические повреждения сосудов человека [1]. Н. Н. Аничковым была сформулирована инфильтрационная теория патогенеза атеросклероза, основанная на том, что «основным моментом в этом заболевании является первичная липоидная (холестериновая) инфильтрация внутренней оболочки артерий — липоидоз — с по-

следующим развитием соединительной ткани (склерозом)» [1].

А. Н. Климов, перефразируя слова Н. Н. Аничкова «без холестерина нет атеросклероза», отмечает, что на современном уровне знаний правильное утверждение «без атерогенных липопротеинов не будет атеросклероза» [13]. Два основных ХС-переносящих класса ЛП плазмы крови — ЛП низкой плотности (ЛПНП) и ЛП высокой плотности (ЛПВП) — выполняют различные функции. «Атерогенные» ЛПНП взаимодействуют со специфическими рецепторами, в результате чего происходит рецепторопосредованный захват ЛПНП и транспорт ХС в клетки периферических тканей [14, 39]. «Антиатерогенные» ЛПВП, обладая ХС-акцепторными свойствами, при контакте с клеточными мембранами способны «забирать» из них избыточный ХС и осуществлять обратный транспорт его в печень, где происходит катаболизм ХС с образованием желчных кислот [14, 39]. В соответствии с этим в многочисленных эпидемиологических исследованиях обнаружено, что уровень ХС в ЛПВП находится в обратной корреляции с наличием ишемической болезни сердца (ИБС) и анализ содержания ХС в ЛПВП может быть использован для выявления риска развития ИБС [14,