

ЗНАЧЕНИЕ МЕМБРАНОСТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ АНТИОКСИДАНТОВ В ИХ ДЕТОКСИКАЦИОННОМ ЭФФЕКТЕ

**Анашкин С. Г., Власова Т. И., Шевалаев Г. А., Власова В. П., Потянова И. В.,
Суворова Л. А., Зеленцов П. В.**

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н. П. Огарева», Саранск, Россия (430005, г. Саранск, ул. Полежаева, 18-42), e-mail: ert@mail.ru

В работе проведена оценка эффективности препарата метаболического типа действия этоксида в коррекции эндогенной интоксикации при остром панкреатите. Показано, что при остром экспериментальном панкреатите выраженность явлений эндогенной интоксикации находится в прямой зависимости от выраженности мембранодеструктивных процессов в тканевых структурах поджелудочной железы, липолитической активности, интенсивности процессов перекисного окисления липидов. Применение при остром панкреатите антиоксиданта этоксида приводит к уменьшению выраженности эндотоксикоза. Одним из объектов реализации положительного действия такого рода терапии является орган поражения – поджелудочная железа. Показано, что под влиянием исследованного препарата мембранодеструктивные явления в ней уменьшаются, проявлением чего являются восстановление липидного состава тканевых структур, снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов, уменьшение фосфолипазной активности.

Ключевые слова: эндотоксикоз, панкреатит, антиоксидант, липидный метаболизм.

THE ANTIOXIDANTS MEMBRANE STABILIZING ABILITY IN DEINTOXICATION EFFECT

**Anashkin S. G., Vlasova T. I., Shevalaev G. A., Vlasova V. P., Potyanova I. V., Suvorova L. A.,
Zelentsov P. V.**

Mordvinian State University, Saransk, Russia (430005, Saransk, street Polegaeva, 18-42), e-mail: ert@mail.ru

The paper evaluated the efficacy of the metabolic type etoksidolum correction of endogenous intoxication in acute pancreatitis. It is shown that at acute experimental pancreatitis endogenous intoxication phenomena expression is in direct dependence on expression of membrane destructive processes in tissue structures of a pancreas, lipolytic activity, intensity of processes of lipids peroxidation. Antioxidant etoksidolum application leads to decrease of intoxication expression at acute pancreatitis. The positive action realization objects of such therapy is the lesion organ – a pancreas. It is shown that under the influence of the studied preparation the membrane destructive phenomena in it decrease, implication are restoration of lipids composition of tissues structures, depression of intensity of processes of lipids peroxidation, phospholipase activity decrease.

Key words: endotoxycosis, pancreatitis, antioxidant, lipid metabolism.

Введение. Проблема эндогенной интоксикации (ЭИ) в медицине в настоящее время занимает одно из важнейших мест. ЭИ затрудняет лечение заболеваний, способствует развитию осложнений и возникновению сопутствующих заболеваний. Эндотоксикоз лежит в основе развития тяжелых системных нарушений при различных патологических процессах и заболеваниях [6]. Несмотря на то, что пусковые моменты возникновения эндотоксикоза различны, патогенетические звенья его носят универсальный характер и включают в себя мембранодеструктивные процессы, рецепторные нарушения [2], изменения внутриклеточной деятельности и даже генома. При эндотоксикозе происходит выход в кровь из патологического очага токсических продуктов, их распространение по организму с током крови и воздействие на другие органы и ткани. В результате нарушается клеточно-тканевой обмен веществ и синтетические функции клеток [5].

Крайне тяжелое состояние больных и летальные исходы при остром панкреатите уже в ранние сроки, определяемые порой часами с момента заболевания, обусловлены тяжелым панкреатогенным эндотоксикозом, в связи с протеазной и липазной аутоагрессией [3]. Многочисленными исследованиями установлена и значимая роль в его патогенезе интенсификации перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4, 7]. Регуляция интенсивности ПОЛ на различных уровнях осуществляется антиоксидантными системами [1], срыв которых приводит к лавинообразному накоплению токсических промежуточных и конечных продуктов перекисидации.

Поскольку в каскаде патологических процессов, приводящих к эндотоксикозу, существенную роль играют мембранодестабилизирующие явления, обусловленные гиперактивацией ПОЛ [3], то становится очевидной необходимость изучения фармакологической эффективности препаратов метаболического типа действия. В связи с чем, целью работы явилась оценка эффективности препарата метаболического типа действия этоксида в коррекции эндогенной интоксикации при остром панкреатите.

Материалы и методы исследования. Основой работы явились экспериментальные исследования на 22 взрослых беспородных собаках обоего пола массой от 5,9 до 14,1 кг, разделенных на следующие группы: первая группа (n=11) – контрольная; вторая группа (n=11) – опытная.

Острый панкреатит моделировали по способу В. М. Буянова с соавт. (1989). Взрослым беспородным собакам выполняли срединную лапаротомию, проводили пункцию желчного пузыря с забором желчи и последующим лигированием места пункции. Далее желчь вводили в паренхиму вертикальной части поджелудочной железы по 0,5 мл в 5 точках. Таким образом, воспроизводили отечную форму острого панкреатита. В опытной группе на модели острого панкреатита оценивали ряд фармакодинамических эффектов этоксида (ежедневные внутривенные введения 10 % раствора (10 мг/кг) в течение 5 суток).

В контрольные сроки исследования (1-е, 3-е и 5-е сутки) животным производили релапаротомию, оценивали состояние поджелудочной железы, определяли характер ее повреждений, а также производили биопсию ее тканей, забирали венозную кровь для дальнейшего исследования.

Для получения данных, принятых за норму, произведены исследования у 10 здоровых животных.

Все опыты проведены под внутривенным наркозом с использованием тиопентал-натрия из расчета 0,04 мг/кг массы тела животного. После проведения исследований животных выводили из эксперимента введением летальной дозы тиопентал-натрия.

В работе применялись следующие методы исследования. Выраженность эндогенной интоксикации оценивали по содержанию молекул средней массы (МСМ) при $\lambda = 254$ и 280 нм (Пикуза О. И., Шакирова Л. З., 1994); общую и эффективную концентрацию альбумина (ОКА и ЭКА) в сыворотке крови – флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд»; резерв связывания альбумина (РСА) определяли по формуле $РСА=ЭКА/ОКА$; индекс токсичности (ИТ) плазмы – по формуле $ИТ=ОКА/ЭКА - 1$ (Грызунов Ю. А., Добрецов Г. Е., 1994).

Липиды из ткани поджелудочной железы экстрагировали хлороформметаноловой смесью (Хиггинс Дж. А., 1990). Липиды фракционировали методом тонкослойной хроматографии (Хиггинс Дж. А., 1990; Vaskovsky V.E. et al., 1975). Молекулярный анализ проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Software).

Показатели интенсивности ПОЛ: диеновые конъюгаты (ДК) определяли спектрофотометрическим методом при длине волны $232-233$ нм (Ганстон Ф.Д., 1986); уровень малонового диальдегида (МДА) – спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Sigma), активность супероксиддисмутазы (СОД) – в реакции с нитросиним тетразолием (Гуревич В.С. и др., 1990). Активность фосфолипазы A_2 (ФЛА₂) исследовали в среде, содержащей 10 ммоль трис-НСL-буфер (рН $8,0$), 150 ммоль тритон X-100, 10 ммоль $CaCl_2$ и $1,2$ ммоль субстрата, в качестве которого использовали фосфатидилхолины яичного желтка (Трофимов В. А., 1999).

Статистическую обработку полученных данных производили общепринятыми методами статистики с определением достоверности различий между данными в опытной и контрольной группах на основе расчета критерия Стьюдента, корреляционную связь оценивали по критерию r . Выявленные закономерности и связи изучаемых параметров между группами и признаками были значимыми при вероятности безошибочного прогноза $p=95\%$ и более.

Научно-исследовательская работа проведена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на $2009-2013$ годы.

Результаты исследования и их обсуждение

Опыты показали, что выбранная модель панкреатита оказалась вполне адекватной для решения цели и задач исследования. Во всех случаях у животных возникал острый панкреатит отечной формы, что подтверждалось макро- и микроскопически.

Полученные в контрольной группе опытных животных данные свидетельствуют о том, что при остром экспериментальном панкреатите развивается выраженная ЭИ. Содержание молекул средней массы ($\lambda=254$ нм и 280 нм) в плазме крови было повышено на

59,45–99,70 % ($p < 0,05$) и на 81,43–98,29 % ($p < 0,05$) соответственно. ИТ плазмы был повышен на 103,03–175,76 % ($p < 0,05$) (рис. 1). ЭКА в плазме крови общего кровотока экспериментальных животных была снижена на 33,17–49,41 % ($p < 0,05$), резерв связывающей способности альбумина уменьшался на 20,00–30,67 % ($p < 0,05$).

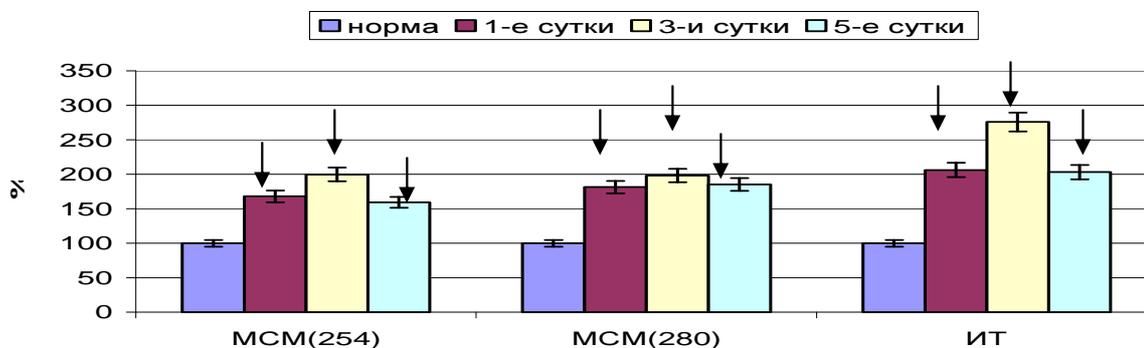


Рис. 1. Показатели эндогенной интоксикации плазмы крови общего кровотока при остром панкреатите отечной формы на фоне стандартной терапии (значения нормы приняты за 100%)

Примечание: здесь и далее – достоверность отличия от нормы при $p < 0,05$.

Таким образом, при остром панкреатите развивается синдром эндогенной интоксикации, при этом наиболее выраженные проявления эндотоксикоза зафиксированы на третьи сутки динамического наблюдения.

Известно, что одним из ключевых механизмов мембранодеструктивных процессов, ведущих к морфофункциональным расстройствам различных органов и тканей, выступает ПОЛ, достигающее значительной интенсивности при выбранной модели острого панкреатита. Нами установлено, что в тканевых структурах поджелудочной железы содержание ДК было повышено на 122,50–187,50 % ($p < 0,05$), концентрация МДА превышала норму более чем в 1,5–2,5 ($p < 0,05$) раза. Активность фосфолипазы A_2 в ткани поджелудочной железы была повышена на 22,97–90,43 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

Выявлено, что при остром панкреатите происходит изменение количественного и качественного состава липидов тканей поджелудочной железы. Так, зарегистрировано снижение количества суммарных фосфолипидов – на 22,44–45,52 % ($p < 0,05$), холестерина – на 2,32–53,31 % ($p < 0,05$), фосфатидилсерина – на 11,99–69,60 % ($p < 0,05$), фосфатидилэтаноламина – на 17,62–34,82 % ($p < 0,05$); увеличение содержания эфиров холестерина на 24,97–33,17 % ($p < 0,05$), моноацилглицеролов – на 50,53–200,53 % ($p < 0,05$), диацилглицеролов – на 100,00–1276,69 % ($p < 0,05$), лизофосфолипидов – на 463,87–1125,21 % ($p < 0,05$), сфингомиелина – на 84,48–151,40 % ($p < 0,05$), фосфатидилхолина – на 31,89–33,68 % ($p < 0,05$).

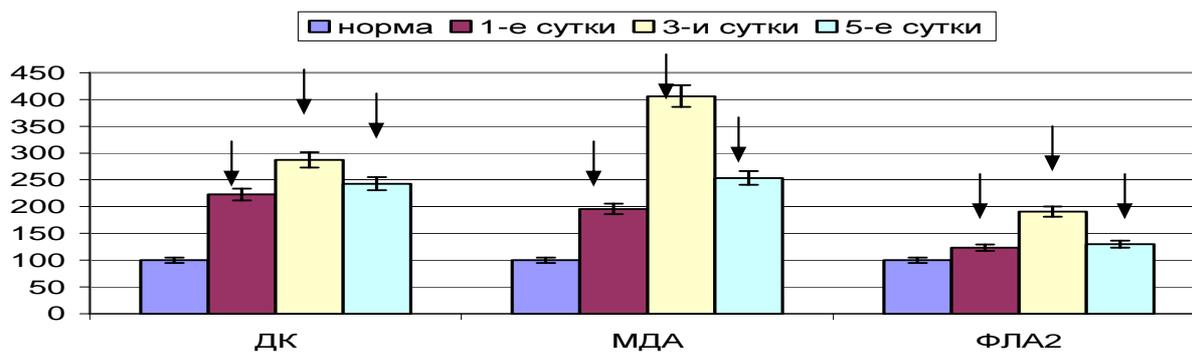


Рис. 2. Показатели перекисного окисления липидов в тканях поджелудочной железы при остром панкреатите (значения нормы приняты за 100 %)

Таким образом, полученные в контрольной группе животных результаты свидетельствуют о том, что при остром экспериментальном панкреатите в тканевых структурах поджелудочной железы происходит существенная модификация липидного метаболизма, свидетельствующая о развитии мембранодеструктивных явлений. Подчеркнем, что при статистической обработке данных определена достоверная корреляционная зависимость интенсификации процессов ПОЛ с развивающейся при остром отечном панкреатите эндогенной интоксикацией (табл. 1).

Принимая во внимание факт важнейшей роли расстройств липидного обмена в патогенезе острого панкреатита, целесообразным представляется исследование фармакодинамики препаратов метаболического типа действия, одним из объектов воздействия которых являются липиды или процессы, регулирующие их обмен. Из их многочисленного количества нами выбран этоксидол – препарат антиоксидантного типа действия.

При использовании препарата в плазме крови по сравнению с данными контрольной группы наблюдалось снижение содержания МСМ на 15,79–35,57 % ($\lambda=254$ нм) и 17,17–26,29 % ($\lambda=280$ нм) ($p<0,05$), а ИТ – на 26,37–47,76 % ($p<0,05$). Причем существенный эффект отмечен после первого введения препарата. ЭКА в плазме крови экспериментальных животных была выше данных группы контроля на 19,33–45,26 % ($p<0,05$), резерв связывающей способности альбумина – на 13,56–23,33 % ($p<0,05$) (рис. 3).

Таблица 1

Корреляционная зависимость между изменениями показателей эндогенной интоксикации и перекисного окисления липидов, фосфолипазной активности поджелудочной железы при остром панкреатите

	ДК	МДА	ФЛА ₂	СОД
ЭКА	-1,00*	-0,94*	-0,89*	0,85*
ОКА	-1,00*	-0,90*	-0,85*	0,87*
РСА	-0,99*	-0,86*	-0,86*	0,91*
ИТ	0,98*	0,88*	0,91*	-0,92*
МСМ ($\lambda=254$ нм)	0,98*	0,84*	0,88*	-0,93*
МСМ ($\lambda=280$ нм)	0,92*	0,85*	0,74	-0,81

Примечание: * – достоверная корреляционная зависимость.

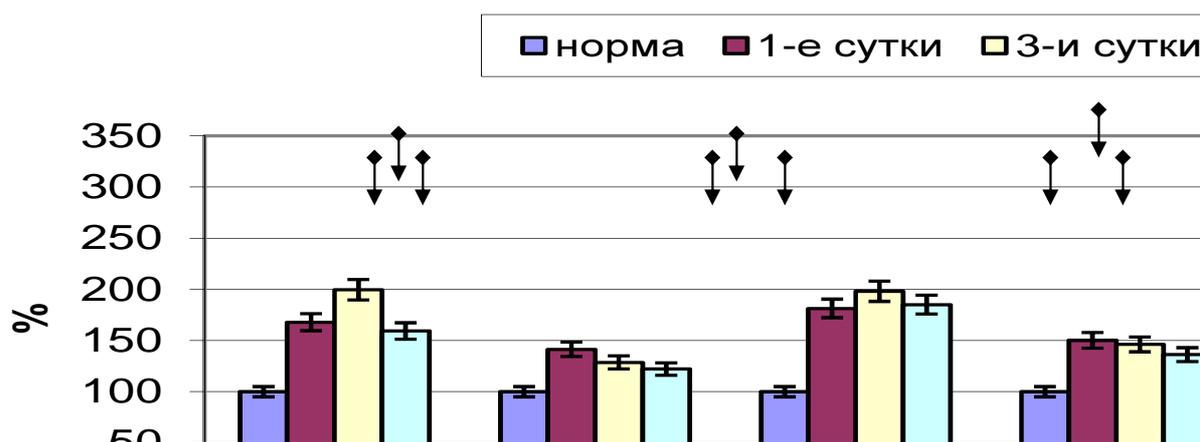


Рис. 3. Показатели эндогенной интоксикации плазмы крови при остром отечном панкреатите на фоне применения этоксида (К – контрольная группа; О – опытная группа; значения нормы приняты за 100 %)

Опыты показали, что включение в терапию острого панкреатита этоксида приводило к существенному уменьшению интенсивности процессов ПОЛ. Так, в тканях поджелудочной железы на фоне применения препарата содержание ДК было ниже данных группы контроля на 19,10–38,14 % ($p<0,05$), концентрация МДА – на 14,85–35,61 % ($p<0,05$), активность СОД – на 15,45–40,90 % ($p<0,05$). Интересен тот факт, что активность фосфолипазы А₂ существенно снижалась уже после первого приема препарата и в целом уменьшалась по отношению к контролю на 12,84–19,72 % ($p<0,05$) (рис. 4).

По отношению к данным контрольной группы при применении этоксида в тканевых структурах поджелудочной железы наблюдалось уменьшение содержания моноацилглицеролов на 20,98–62,70 % ($p<0,05$), диацилглицеролов – на 66,72–90,39 % ($p<0,05$), свободных жирных кислот – на 34,67–61,02 % ($p<0,05$), лизофосфолипидов – на 27,42–73,12 % ($p<0,05$), сфингомиелина – на 26,34–40,19 % ($p<0,05$), фосфатидилхолина – на 20,48–22,80 % ($p<0,05$), фосфатидилинозита – на 19,07 % ($p<0,05$), повышение уровня суммарных фосфолипидов на 31,35–69,89 % ($p<0,05$), холестерина – на 88,53 % ($p<0,05$), фосфатидилсерина – на 17,5–258,67 % ($p<0,05$), фосфатидилэтаноламина – на 17,25–46,27 % ($p<0,05$).

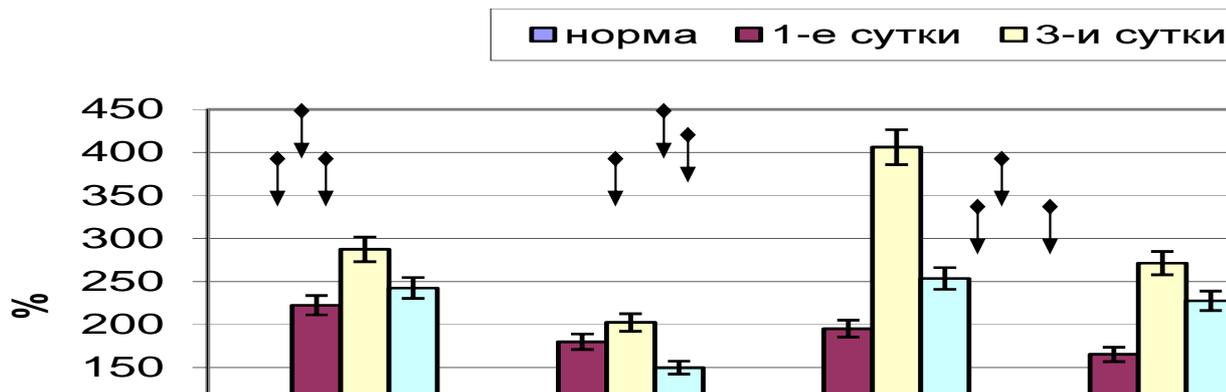


Рис. 4. Показатели перекисного окисления липидов в тканях поджелудочной железы на фоне применения этоксида (К – контрольная группа; О – опытная группа; значения нормы приняты за 100 %)

Таким образом, анализируя полученные экспериментальные данные, отметим, что, во-первых, при использовании исследованного препарата метаболического типа действия явления ЭИ при остром панкреатите купируются быстрее, чем в контроле; во-вторых, одним из важнейших фармакодинамических эффектов, обуславливающих детоксицирующее действие препарата, является его способность купировать мембранодеструктивные явления в тканевых структурах органа поражения – поджелудочной железе, что существенно уменьшает поступление в кровоток токсических продуктов; в-третьих, мембранопротекторное действие исследованного препарата метаболического типа действия сопряжено с его способностью корригировать не только интенсивность процессов ПОЛ в тканевых структурах поджелудочной железы, но и с его депрессивным воздействием по отношению фосфолипазной активности.

Основываясь на данных, полученных в экспериментальном исследовании, можно сделать заключение, что этоксидол способствует уменьшению выраженности эндогенной интоксикации за счет способности купировать мембранодеструктивные процессы в тканевых структурах поджелудочной железы. Эти факты, на наш взгляд, имеют не только теоретическое, но и практическое значение, особенно в аспекте того, что этоксидол – новое синтезированное производное 3-оксипиридина, показавшее высокую эффективность при исследованной патологии – остром панкреатите.

Выводы:

1. При экспериментальном панкреатите выраженность явлений эндогенной интоксикации находится в прямой зависимости от выраженности мембранодеструктивных процессов в тканевых структурах поджелудочной железы, липолитической активности, интенсивности процессов перекисного окисления липидов.

2. Применение при остром панкреатите этоксида приводит к уменьшению выраженности эндотоксикоза. Об этом свидетельствует снижение индекса токсичности

плазмы на 15,4–49,3 %, уровня молекул средней массы на 13,1–29,6 %, повышение эффективной концентрации альбумина на 17,9–44,8 %.

3. Одним из важных объектов реализации благотворного действия такого рода терапии является орган поражения – поджелудочная железа. Под влиянием этоксида мембранодеструктивные явления в ней уменьшаются, снижается интенсивность процессов перекисного окисления липидов, уменьшается фосфолипазная активность.

Список литературы

1. Беляков Н. А., Семесько Н. Г. Антиоксидантная активность биологических жидкостей человека: методология и клиническое значение // Эф. тер. – 2005. – Т. 11. – № 1. – С. 5–21.
2. Буянов В. М., Родоман Г. В., Лаберко Л. А. Хирургический перитонит. От единой классификации к единой тактике лечения // Российский медицинский журнал. – 1998. – № 4. – С. 3–10.
3. Власов А. П., Трофимов В. А., Тарасова Т. В. Системный липидный дистресс-синдром при панкреатите. – Саранск: Тип. «Крас. Окт.». – 2004. – 316 с.
4. Евтушенко А. Я., Разумов А. С., Разумов П. С. Липопероксидационный статус при терминальных и экстремальных состояниях // Анестезиол. и реаниматол. – 2003. – № 6. – С. 52–55.
5. Кузнецов Н. Н., Девайкин Е. В., Егоров В. М. Синдром эндогенной интоксикации при критических состояниях у детей раннего возраста. Новые диагностические и прогностические возможности // Анестезиология и реаниматология. – 1996. – № 6. – С. 21–24.
6. Матвеев С. Б., Спиридонова Т. Г., Клычникова Е. В., Николаева Н. Ю., Смирнов С. В., Голиков П. П. Критерии оценки эндогенной интоксикации при ожоговой травме // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 10. – С. 3–6.
7. Tokuyasu R. E., Kaya E., Gur E.S. Prostaglandin synthetase inhibition reduced earli liver oxidant stress // Surg. Today. – 1999. – Vol. 29. – № 1. – P. 42–46.

Рецензенты:

Смолькина Антонина Васильевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета им. Т. З. Биктимирова ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск.

Рубцов Олег Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской хирургии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва», г. Саранск.