УДК 616.15:612.014.469

МОДУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ ПРИ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

Власова Т.И., Шевалаев Г.А., Потянова И.В., Власов П.А., Суворова Л.А., Полозова Э.И.

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия (430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

Изучена эффективность препарата антигипоксантного и антиоксидантного типа действия (ремаксола) в коррекции морфофункциональных расстройств форменных элементов крови (эритроцитов и тромбоцитов) при остром перитоните. Экспериментальными исследованиями показано, что использование при эндогенной интоксикации перитонеального происхождения антигипоксанта/антиоксиданта ремаксола приводит к быстрой и эффективной коррекции функционального статуса эритроцитов и тромбоцитов, что является основой улучшения микроциркуляции и трофики тканей различных органов. Корреляционный анализ показал, что восстановление функциональной активности исследованных форменных элементов крови сопряжено с уменьшением в них нарушений липидного метаболизма. Модификация липидного спектра биомембран эритроцитов и тромбоцитов на фоне применения ремаксола обусловлена снижением в них интенсивности процессов перекисного окисления липидов и активности фосфолипазных систем.

Ключевые слова: эндогенная интоксикация, перитонит, ремаксол, эритроциты, тромбоциты.

THE MODULATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF FORMULATED BLOOD ELEMENTS AT ENDOINTOXICATION

Vlasova T.I., Shevalayev G.A., Potyanova I.V., Vlasov P.A., Suvorova L.A., Polozova E.I.

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

The efficacy of the drug antihypoxant and antioxidant action type (remaksolum) in the correction of morphological and functional disorders of blood cells (red blood cells, and platelets) in acute peritonitis. Experimental research has shown that the use of endogenous intoxication in peritoneal origin antihypoxant / antioxidant remaksolum results in rapid and effective correction of the functional status of red blood cells and platelets, which is the basis for improving the microcirculation and trophic tissue of various organs. The correlation analysis showed that restoration of functional activity of studied blood formulated elements is interfaced to decrease of lipide metabolism disturbances in them. The biomembranes lipide range modification of erythrocytes and thrombocytes with application remaxolum is caused by depression of lipids peroxidation processes intensity and phospholipase systems activity in them.

Key words: endogenic intoxication, peritonitis, remaxolum, erythrocytes, thrombocytes.

Введение. Одной из актуальных проблем современной медицины является острый перитонит в связи с высокими показателями летальности, существенным процентом осложнений, сложностью выбора тактики лечения [3; 4]. Неопровержима важнейшая роль нарушений микроциркуляции и трофики тканей в патогенезе острого перитонита. Известно, что расстройства функционального статуса эритроцитов снижают способность к продвижению в капиллярах, увеличивают вероятность сладж-феномена, определяя нарушения микроциркуляции и обеспечения органов и тканей кислородом [1; 2], а возрастание агрегационной способности тромбоцитов, согласно данным литературы, может выступать одним из факторов запуска каскада гемостазиологических реакций, приводящих в конечном итоге к гиперкоагуляции, микротромбообразованию, нарушению питания тканей и прогрессированию патологического процесса [5]. Таким образом, особого внимания заслуживает коррекция

функционально-метаболических расстройств форменных элементов крови как важнейшего компонента патогенетической терапии острого перитонита.

Цель исследования. Экспериментально оценить эффективность препарата антигипоксантного и антиоксидантного типа действия (ремаксола) в коррекции морфофункциональных расстройств форменных элементов крови (эритроцитов и тромбоцитов) при остром перитоните.

Материалы и методы исследования. В основу работы положены хронические опыты на 24 взрослых беспородных половозрелых собаках, разделенных на контрольную и опытную группы. Животным воспроизводили модель острого калового перитонита по способу А.П. Власова [2] путем введения 20%-ной каловой взвеси (0,5 мл/кг) в брюшную полость. Через сутки после этой манипуляции животным выполняли срединную лапаротомию, оценивали возникшие патологические изменения в брюшной полости, выполняли санацию. В послеоперационном периоде животным проводили антибактериальную и инфузионную терапию. Собакам опытной группы в комплексную терапию включали внутривенные введения ремаксола (15 мл/кг). В контрольные сроки (1, 3, 5-е сутки) животным производили забор венозной крови. Исследовали некоторые показатели эндогенной интоксикации, функционального состояния эритроцитов и тромбоцитов; в указанных форменных элементах крови определяли качественный и количественный состав липидов, интенсивность перекисного окисления липидов, активность фосфолипазы A_2, каталазы и супероксиддисмутазы.

В работе применялись следующие методы исследования.

Степень эндогенной интоксикации оценивали по уровню токсических продуктов гидрофильной и гидрофобной природы. Агрегационную активность тромбоцитов регистрировали оптическим методом с помощью двулучевого агрегометра THROMLITE 1006. Определяли неспецифическую проницаемость эритроцитов (Тогайбаев А.А. и др., 1988) и индекс их деформабельности (Федорова З.Д., 1986). Изучали жесткость эритроцитарных мембран по способу О.М. Моисеевой и др. (1990).

Липиды экстрагировали хлороформметаноловой смесью (Хиггинс Дж.А., 1990), 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 Sowtware). Показатели интенсивности перекисного окисления липидов: диеновые и триеновые конъюгаты определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232–233 нм (Ганстон Ф.Д., 1986); уровень ТБК-активных продуктов – спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Sigma), активность каталазы –

спектрофотометрическим методом, основанным на способности перекисей образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс (Королюк М.А., 1988). Активность фосфолипазы A_2 исследовали в среде, содержащей 10 ммоль трис-HCL-буфер (pH 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.

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение функциональной активности эритроцитов и тромбоцитов при остром перитоните показало, что на фоне выраженного синдрома эндогенной интоксикации отмечаются существенные модификации морфофункционального статуса эритроцитов и тромбоцитов. Так, было зафиксировано уменьшение деформабельности эритроцитов на 19,18–58,34% ($p<0,05$), увеличение жесткости и неспецифической проницаемости их мембран на 14,11–30,22 и 16,23–48,28% ($p<0,05$) соответственно. Установлено повышение агрегационной активности тромбоцитов: степень агрегации тромбоцитов превосходила норму на 43,23–91,14% ($p<0,05$, скорость агрегации – на 238,09–385,12% ($p<0,05$), время агрегации тромбоцитов сокращалось по сравнению с нормой на 30,14–42,83% ($p<0,05$). Подчеркнем, что заметные отклонения показателей функционального статуса исследованных форменных элементов крови отмечались уже через сутки от момента моделирования патологического процесса.

Определение выраженности липопереокисления и состояния ферментов в эритроцитах и тромбоцитах при остром перитоните показало значительное увеличение интенсивности процессов перекисного окисления липидов и активности фосфолипазы A_2 при достоверном снижении активности антиоксидантных ферментов в форменных элементах крови. Проведенные исследования показали, что содержание первичных и вторичных продуктов пероксидации липидов в эритроцитах на фоне развития выраженного эндотоксикоза перитонеального генеза значительно возрастало на 23,68–39,12 и 129,02–192,35% ($p<0,05$) соответственно. Экспериментально установлено существенное увеличение активности фосфолипазы A_2 в эритроцитах при эндотоксикозе на 358,14–587,13% ($p<0,05$). Уровень активности супероксиддисмутазы в эритроцитах падал по сравнению с нормой на 29,17–58,34% ($p<0,05$).

На фоне выраженного синдрома интоксикации в тромбоцитах также зарегистрированы изменения основных липидмодифицирующих факторов: существенное увеличение интенсивности процессов пероксидации липидов, активизация фосфолипазных систем, снижение антиоксидантной защиты. Так, уровень диеновых конъюгатов и малонового диальдегида возрастали относительно нормы на 93,17–168,53 и 83,07–137,22% ($p<0,05$) соответственно. Активность фосфолипазы A_2 в тромбоцитах возрастала на 123,12–301,77% ($p<0,05$). Активность супероксиддисмутазы в исследованных форменных элементах крови уменьшалась относительно нормы на 32,12–57,79% ($p<0,05$). Максимальной выраженности указанные процессы достигали на первые сутки течения патологического процесса, что коррелировало с динамикой интенсивности эндотоксикоза.

Экспериментально установлено, что на фоне выраженного эндотоксикоза перитонеального генеза отмечаются существенные модификации липидного спектра биомембран эритроцитов и тромбоцитов. Так, в липидном составе мембран эритроцитов отмечалось достоверное увеличение содержания триацилглицеролов, свободных жирных кислот и эфиров холестерола на 21,17–45,59, 18,15–73,29 и 23,77–41,69% ($p<0,05$) и снижение уровня холестерола и суммарных фосфолипидов на 10,26–16,25 и 12,19–15,62% ($p<0,05$), в спектре последних существенно возрастало содержание лизофосфолипидов на 104,13–234,26% ($p<0,05$). Липидный состав биомембран тромбоцитов претерпевал следующие изменения: содержание суммарных фосфолипидов и эфиров холестерола снижалось на 19,24–27,33 и 22,41–46,23% ($p<0,05$), количество свободных жирных кислот, холестерола и лизофосфолипидов возрастало на 75,12–90,79; 59,82–78,13; 377,14–484,38% ($p<0,05$), содержание фосфатидилсерина и фосфатидилинозита уменьшалось на 27,48–40,35 и 21,09–42,15% ($p<0,05$) соответственно.

Применение ремаксола приводило к быстрой коррекции функциональных нарушений форменных элементов крови, определяя существенный вклад в повышение эффективности лечения острого перитонита. Так, на фоне применения препарата сорбционная способность эритроцитов снижалась относительно контрольных данных на 7,12–8,34% ($p<0,05$), индекс их деформабельности возрастал относительно контроля на 23,14–39,12% ($p<0,05$). Установлено, что жесткость биомембран эритроцитов на фоне апробируемой схемы терапии была достоверно меньше показателей контроля на 5,33–12,17% ($p<0,05$). Изучение параметров кинетики АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов при перитоните на фоне применения ремаксола показало, что степень и скорость агрегации тромбоцитов уменьшались относительно контроля на 12,66–21,17 и 30,83–50,39% ($p<0,05$) соответственно. Время агрегации тромбоцитов увеличивалось по сравнению с контролем на 22,67–41,56% ($p<0,05$) (рис. 1).

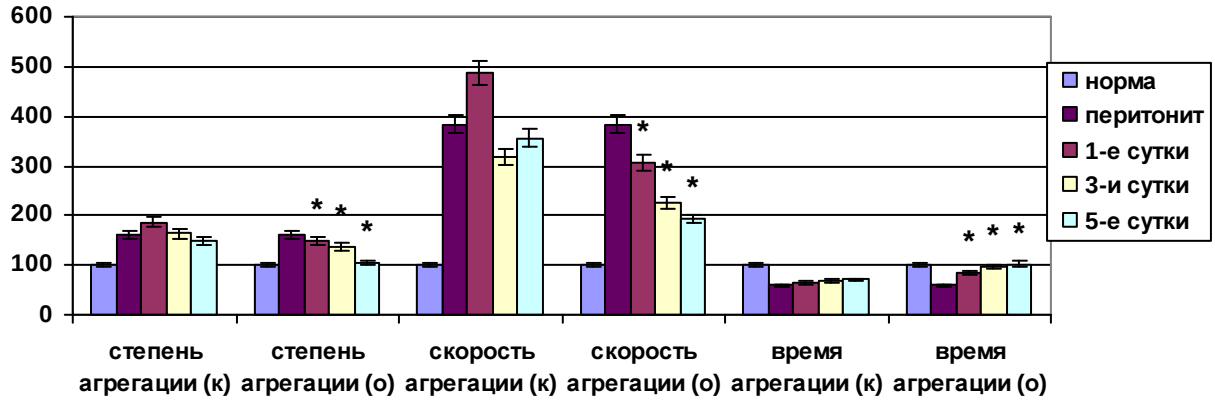

Рис. 1. Динамика функциональной активности тромбоцитов при остром перитоните на фоне применения ремаксола:
* – достоверность отличия показателей по отношению к контролю при $p<0,05$;
к – данные контрольной группы исследований;
о – данные опытной группы исследований.

Таким образом, использование ремаксола при остром перитоните способствует быстрому восстановлению функционального статуса исследованных форменных элементов крови, что проявляется в изменении показателей деформабельности и неспецифической проницаемости эритроцитов, агрегационной способности тромбоцитов. Указанный положительный эффект лечения начинает проявляться с первых суток применения препарата.

Важнейшим механизмом реализации данного положительного эффекта явилась возможность ремаксола корригировать липидный обмен исследованных форменных элементов крови, что определилось в виде восстановления липидного спектра биомембран эритроцитов и тромбоцитов за счет снижения активности основных липидмодулирующих агентов, играющих важную роль в мембранодестабилизации, а также за счет восстановления активности антиоксидантных ферментов форменных элементов крови. Так, на фоне применения ремаксола было зафиксировано достоверное снижение содержания диеновых конъюгатов относительно контроля на 15,34–51,22% ($p<0,05$). Уровень малонового диальдегида эритроцитов при использовании терапии ремаксолом был ниже контрольных цифр на 12,78–25,81% ($p<0,05$), активность супероксиддисмутазы в них возрастала на 15,22–37,14% ($p<0,05$), а активность фосфолипазы A_2 снижалась относительно контроля на 31,17–54,33% ($p<0,05$).

Исследование липидного состава биомембран эритроцитов на фоне применения ремаксола при остром перитоните показало увеличение содержания суммарных фосфолипидов: их уровень существенно возрастал относительно контроля на 9,28–12,12% ($p<0,05$). Показатель триацилглицеролов эритроцитов был достоверно меньше контроля на

20,89–27,17% (p<0,05). Удельный вес свободных жирных кислот и эфиров холестерола снижался относительно контроля на 12,33–25,18 и 16,37–21,39% (p<0,05) соответственно. Уровень свободного холестерола превосходил контроль на 10,92–15,34% (p<0,05). Экспериментально установлено, что содержание лизофосфатидилхолина и фосфатидилсерина в эритроцитах снижалось относительно контроля на 26,12–40,43 и 10,15–21,83% (p<0,05) соответственно. Следует отметить, что содержание фосфатидилсерина на конечном этапе эксперимента было сопоставимо с нормой. Показатель сфингомиелина на фоне апробируемой терапии уменьшался относительно контроля на 8,34–17,25% (p<0,05). Содержание фосфатидилинозита на фоне применения ремаксола увеличивалось по сравнению с контрольными цифрами на 17,34–27,81% (p<0,05). Удельный вес фосфатидилэтаноламина в эритроцитах возрастал относительно контроля на 12,26–23,57% (p<0,05), достигая исхода на третьем этапе динамического наблюдения (рис. 2).

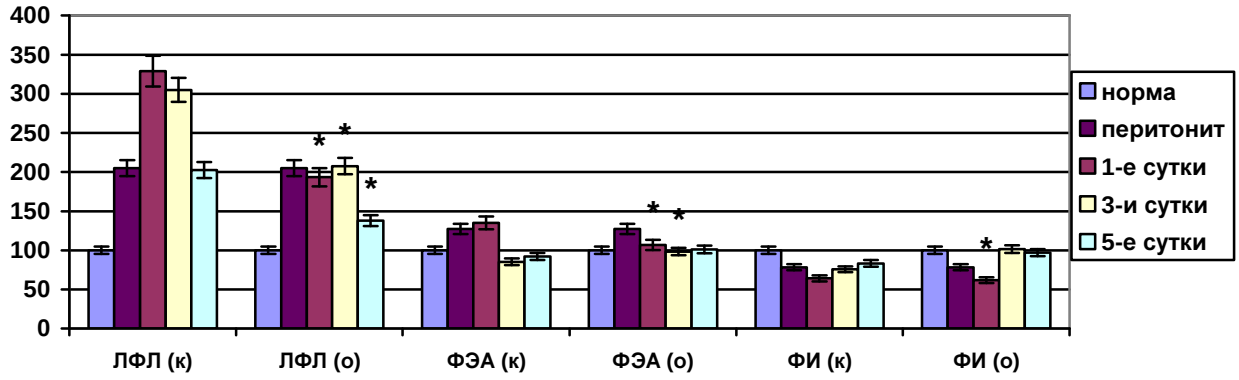

Рис. 2. Динамика уровня фосфолипидов эритроцитов при остром перитоните на фоне применения ремаксола:
* – достоверность отличия показателей по отношению к контролю при p<0,05;
к – данные контрольной группы исследований;
о – данные опытной группы исследований; ЛФЛ – лизофосфолипиды;
ФЭА – фосфатидилэтаноламин; ФИ – фосфатидилинозит.

Исследование липидного обмена в тромбоцитах на фоне применения ремаксола при остром перитоните показало во многом аналогичные результаты.

Таким образом, следует отметить, что применение ремаксола при остром перитоните способствует быстрому восстановлению липидного состава биомембран форменных элементов крови. Положительный эффект терапии проявлялся с первых суток ее применения.

Заключение. Использование в терапии острого перитонита антигипоксанта/антиоксиданта ремаксола приводит к быстрой и эффективной коррекции функционального статуса исследованных форменных элементов крови, что является основой улучшения микроциркуляции и трофики тканей различных органов. Корреляционный анализ

показал, что восстановление функциональной активности эритроцитов и тромбоцитов определяется купированием нарушений липидного метаболизма в исследованных клетках крови, проявившихся в виде мембраностабилизирующих явлений. Следует подчеркнуть, что модификация липидного спектра биомембран эритроцитов и тромбоцитов на фоне применения ремаксола была тесно сопряжена со снижением интенсивности процессов перекисного окисления липидов и активности фосфолипазных систем.

Список литературы

1. Бессмельцев С.С., Тарлыков В.А., Ходус И.Г. Исследование агрегации эритроцитов методом лазерной дифрактометрии // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 12. – С. 8–13.

2. Власов А.П., Трофимов В.А., Аширов Р.З. Роль нарушений липидного гомеостаза в патогенезе перитонита. – Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2000. – 208 с.

3. Костюченко К.В. Возможности хирургического лечения распространённого перитонита // Вестник хирургии. – 2004. – Т. 163. – № 3. – С. 40-43.

4. Савельев В.С., Гологорский В.А., Гельфанд Б.Г. Инфекционно-токсический шок при перитоните (патогенетические механизмы и основные пути лечения) // Вестник хирургии. – 1987. – Т. 139. – № 8. – С. 3-10.

5. Скипетров В.П., Власов А.П., Голышенков С.П. Коагуляционно-литическая система тканей и тромбогеморрагический синдром в хир. – Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2011. – 192 с.

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.