

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

ИЗМЕНЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХОЛЕЦИСТИТА

С. В. Якубовский, С. И. Леонович, Г. Г. Кондратенко, И. И. Попова¹

У животных с острым экспериментальным холециститом изучены изменения показателей эндогенной интоксикации, перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы и окислительной модификации белков, а также проведена оценка возможности и эффективности коррекции этих изменений при использовании сукцинат-содержащих препаратов - реамберина и мексидола. В проведенном исследовании реамберин эффективно снижал интенсивность перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков.

Ключевые слова: острый холецистит, реамберин, мексидол, окислительная модификация белков, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система

ВВЕДЕНИЕ

Острый холецистит (ОХ) остается одним из наиболее часто встречающихся заболеваний в ургентной абдоминальной хирургии. Значительный рост количества больных ОХ, отмечаемый в последние десятилетия, сопровождается увеличением доли пациентов пожилого и старческого возраста. Широкая распространенность ОХ, а также сохраняющиеся, несмотря на совершенствование хирургической тактики, уровни летальности и послеоперационных осложнений, обуславливают не только медицинскую, но и социальную значимость этой проблемы [14].

Основными причинами послеоперационной летальности в последние десятилетия являются инфаркт миокарда, сердечно-сосудистая и дыхательная недостаточность [10]. По мнению ряда авторов, это обусловлено нарушением компенсаторных механизмов гомеостаза, развитием эндогенной интоксикации (ЭИ), снижением детоксикационной функции печени [2]. Существенным фактором, влияющим на развитие ЭИ, независимо от этиологии последней, является гипоксия и связанная с ней активация свободнорадикальных процессов, реализующаяся в виде перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительной модификации белков (ОМБ), нуклеиновых кислот. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют, что окисление белков является надежным и ранним маркером окислительных повреждений [9]. Показано, что в условиях окислительного стресса (ОС) под влиянием активных форм кислорода происходят изменения в структуре белковых молекул, нарушающие ее физико-химические и биологические свойства. Измененные белковые

молекулы легче подвергаются протеолизу с образованием пептидов средней молекулярной массы, которые являются одним из компонентов ЭИ [15]. ОМБ генерирует новые антигены и провоцирует иммунный ответ [15]. Продукты такой модификации могут служить причиной вторичного повреждения других биомолекул [12]. Поэтому необходимость диагностики и возможность коррекции ОС, как одной из причин ЭИ у больных хирургического профиля, имеют существенное значение в условиях современной клиники.

В связи с указанным, нами проведено изучение изменений показателей эндогенной интоксикации, ПОЛ, АОС и ОМБ у животных с острым экспериментальным холециститом (ОЭХ), а также проведена оценка возможности и эффективности коррекции этих изменений при использовании сукцинат-содержащих препаратов - реамберина и мексидола.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было выполнено на 48 морских свинках обоего пола массой 450 – 550 г. Острый холецистит моделировали по способу [13] путем перевязки пузырного протока вместе с сопровождающей его пузырной артерией. Из эксперимента животных выводили через 24 и 48 часов путем одномоментной декапитации на фоне тиопенталового наркоза. Все эксперименты проводили в соответствии с требованиями “Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей” (Страсбург, 1986). Экспериментальные животные были разделены на следующие группы: контроль (интактные животные); 1.1 и 1.2 – животные с ОЭХ через 24 и 48 ч от начала эксперимента; 2.1 и 2.2 – животные с ОЭХ, леченые мексидолом, выведенные из эксперимента через 24 и 48 ч соответственно; 2.3-животные с ОЭХ, леченые реамберинем, выведенные из эксперимента через 48 ч. Введение препаратов на-

¹ 1-я кафедра хирургических болезней (зав. - проф. Г. Г. Кондратенко); Центральная научно-исследовательская лаборатория (зав. – Е. И. Гудкова) Белорусский государственный медицинский университет, 220116, Минск, пр-т Дзержинского, 83.

Влияние мексидола и реамберина на показатели эндогенной интоксикации и окислительного гомеостаза у животных с острым экспериментальным холециститом ($M \pm m$, $n = 12$)

Показатель	Группы сравнения					
	Контроль	1.1	1.2	2.1	2.2	2.3
ОП, усл. ед.	5,2 ± 0,2	6,0 ± 0,4	6,9 ± 0,4*	6,0 ± 0,2	6,3 ± 0,2	6,2 ± 0,4
МДА, мкмоль/мг Нб	1,3 ± 0,1	1,7 ± 0,1*	1,8 ± 0,1*	1,7 ± 0,1*	2,2 ± 0,3*	1,5 ± 0,1
СОД, ед/мг Нб	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,3	3,4 ± 0,1	3,2 ± 0,2	3,5 ± 0,4	3,7 ± 0,3
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /мгНб · мин	19,9 ± 2,8	26,8 ± 1,2	20,7 ± 3,7	21,9 ± 2,2	33,6 ± 2,9*	24,0 ± 3,6
Битирозин, усл. ед.	141,6 ± 7,6	183,2 ± 8,5*	211,7 ± 5,9*	191,5 ± 8,6*	198,4 ± 6,1*	190,2 ± 6,8*
Триптофан, усл. ед.	281,5 ± 8,7	242,7 ± 10,3*	136,6 ± 9,2*	280,1 ± 5,7	211,6 ± 7,2*#	256,7 ± 15,5#

Примечание. * $p < 0,05$ – достоверно по сравнению с контролем, # $p < 0,05$ – достоверно по сравнению с группой 1. n – число животных.

чинали после моделирования ОЭХ. Мексидол вводили внутримышечно в дозе 25 мг/кг массы, реамберин – внутривентриально в дозе 10 мл/кг.

Гематологические и биохимические показатели определяли общепринятыми методами. Интенсивность ПОЛ оценивали по уровню накопления малонового диальдегида (МДА) в гемолизатах крови по методу [8]. Состояние антиоксидантной системы (АОС) оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Активность СОД в гемолизатах крови определяли методом [11] в модификации [7], активность каталазы – методом [6].

С целью оценки уровня ЭИ проводили измерение содержания олигопептидов (ОП) спектрофотометрически в сыворотке крови по методу [3]. ОМБ сыворотки крови оценивали по накоплению битирозина и снижению флуоресценции остатков триптофана. Интенсивность флуоресценции выражали в условных единицах [5].

Обработку полученных результатов проводили с применением пакетов прикладных программ MS Excel и STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). Для количественных, имеющих нормальное распределение признаков оценку статистической значимости различий между группами проводили при помощи t-критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Использованная в работе модель экспериментального холецистита приводила к появлению признаков острого деструктивного воспаления желчного пузыря через 24 ч от начала эксперимента. Учитывая данные литературы, свидетельствующие, что перевязка пузырного протока не всегда приводит к развитию ОХ [13], следует признать, что основным патогенетическим звеном возникновения данной патологии в условиях проведенного нами эксперимента является ишемия стенки желчного пузыря. Имеющиеся в литературе данные, свидетельствующие, что у лиц пожилого и старческого возраста развитию деструктивных форм ОХ, наряду с обтурацией, способствуют и явления

ишемии стенки желчного пузыря [4], подтверждают правомерность создания такой модели.

Как видно из данных, приведенных в таблице, у животных с ОЭХ уже через 24 ч отмечалось увеличение содержания ОП в сыворотке крови, свидетельствующее о нарастании ЭИ, которое через 48 ч от начала эксперимента достигало статистически достоверных величин. У животных с ОЭХ статистически достоверно повышался уровень МДА при отсутствии соответствующего изменения активности ферментов антиоксидантной защиты – СОД и каталазы, что свидетельствовало о развитии ОС. Кроме того, наличие явлений ОС в условиях ОЭХ подтверждала интенсификация процессов ОМБ, о которой судили по достоверному повышению содержания битирозина и снижению уровня триптофана уже через 24 ч от начала эксперимента. Эти данные согласуются с результатами исследований других авторов, свидетельствующих, что в условиях острого воспалительного процесса в брюшной полости происходит повышение содержания битирозина и снижение уровня триптофана в сыворотке крови [1] (таблица).

Из приведенных данных видно, что введение мексидола и реамберина у животных с ОЭХ приводило к снижению выраженности явлений ЭИ, о чем свидетельствовало отсутствие достоверных различий в содержании ОП в сыворотке крови животных экспериментальных (2.1, 2.2, 2.3) и контрольной групп. Введение мексидола не препятствовало накоплению МДА в крови экспериментальных животных, однако сопровождалось адаптивным повышением активности каталазы через 48 ч от начала лечения. Использование реамберина приводило к снижению интенсивности процессов ПОЛ, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий в уровнях МДА в крови животных группы 2.3 и контрольной. Статистически достоверных изменений в активности ферментов АОС у животных, леченых реамберинем, по сравнению с интактными животными не отмечалось (таблица).

Введение сукцинат-содержащих препаратов животным с ОЭХ не препятствовало повышению содержания битирозина. Применение мексидола предупреждало

ло снижение уровня триптофана лишь в первые сутки от начала эксперимента. Через 48 ч у животных, леченых мексидолом (группа 2.2), уровень триптофана был достоверно ниже контрольных значений, однако достоверно выше, чем у животных с ОЭХ без лечения (группа 1.2). В группе животных, леченых реамберинном, содержание триптофана через 48 ч от начала эксперимента не отличалось от контрольного и было достоверно выше, чем у животных с ОЭХ без лечения в аналогичные сроки (группа 1.2). Этот факт, на наш взгляд, говорит об уменьшении интенсивности процессов ОМБ у животных с ОЭХ в условиях проводимой антиоксидантной терапии.

Таким образом, моделирование острого деструктивного холецистита в условиях эксперимента сопровождается возникновением эндогенной интоксикации, интенсификацией процессов ПОЛ и ОМБ. Введение сукцинат-содержащих препаратов мексидола и реамберина снижает выраженность ЭИ. Использование реамберина, кроме того, сопровождается снижением интенсивности процессов ПОЛ и ОМБ у экспериментальных животных.

ВЫВОДЫ

1. Развитие острого экспериментального холецистита сопровождается возникновением эндогенной интоксикации, интенсификацией процессов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков, нарастающих при прогрессировании воспалительно-деструктивных изменений в стенке желчного пузыря.

2. Использование сукцинат-содержащих препаратов мексидола и реамберина препятствует нарастанию яв-

лений эндогенной интоксикации. Реамберин, в отличие от мексидола, снижает интенсивность перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков у животных с острым экспериментальным холециститом.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Г. Богдан, *Бел. мед. журн.*, № 1, 36 – 39 (2004).
2. А. Е. Борисов, А. В. Федоров, В. П. Земляной, *Ошибки, осложнения и летальность у больных с острыми хирургическими заболеваниями органов брюшной полости*, Наука, Санкт-Петербург (2000).
3. В. Б. Гаврилов, Н. Ф. Лобко, А. Р. Гаврилова, С. В. Конев, *Клин. и лаб. диагностика*, № 6, 19 – 22 (2004).
4. В. К. Гостищев, М. А. Евсеев, *Хирургия*, № 9, 30 – 34 (2001).
5. Е. Е. Дубинина, С. В. Гавровская, Е. В. Кузьмич и др., *Биохимия*, **67**(3), 413 – 421 (2002).
6. Н. С. Мамонтова, Э. Н. Белобородова, Л. Н. Тюкалова, *Клин. и лаб. диагностика*, № 1, 27 – 28 (1994).
7. В. Н. Чумаков, Л. Ф. Осинская, *Вопр. мед. химии*, **27**(5), 712 – 715 (1977).
8. Т. Asakava, S. Matsushita, *Lipids*, **5**(3), 137 – 140 (1980).
9. M. J. Jackson, *Proc. Nutr. Soc.*, **58**, 1001 – 1006 (1999).
10. Y. Kimura, T. Takada, Y. Kawarada, et al., *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.*, **14**, 15 – 26 (2007).
11. M. N. Nishikimi, R. Appaji, K. Vagi, *Biochim. Biophys. Research. Commun.*, **46**(2), 849 – 854 (1971).
12. M. Piroddi, I. Depunzio, V. Calabrese, et al., *Amino Acids*, **32**(4), 573 – 592 (2007).
13. G. Shaked, A. Ovnat, A. Eyal, et al., *Isr. J. Med. Sci.*, **24**(8), 401 – 404 (1988).
14. D. Stefanidis, K. R. Sirinek, J. Bingener, *Journal of Surgical Research*, 131, 204–208 (2006).
15. Z. E. Suntres, A. Omri, P. N. Shek, *Microb. Pathog.*, **32**(1), 27 – 34 (2002).

Поступила 10.10.12

CHANGES OF OXIDATIVE HOMEOSTASIS IN ACUTE EXPERIMENTAL CHOLECYSTITIS

S. V. Yakubovskii, S. I. Leonovich, G. G. Kondratenko, and I. I. Popova

Belarusian State Medical University, ul. Dzerzhinskogo 83, Minsk, 220116, Republic of Belarus

Variations of the indices of endogenous intoxication, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins, and antioxidant system operation have been studied in animals with acute experimental cholecystitis. The possibility and effectiveness of using succinate-containing drugs reamberin and mexidol for the correction of these impairments has been assessed. In the present study, reamberin effectively reduced the intensity of lipid peroxidation and protein modification in experimental animals.

Key words: Acute cholecystitis; reamberin, mexidol; oxidative modification of proteins; lipid peroxidation; antioxidant system