

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА ЦИТОФЛАВИН ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАСПРОСТРАНЕННОМ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ

В. А. Косинец¹

Одним из ключевых факторов развития эндогенной интоксикации при распространенном гнойном перитоните является дисбаланс процессов свободнорадикального окисления. Метаболическое средство “цитофлавин” обладает выраженными антиоксидантными свойствами, обеспечивает эффективное и быстрое восстановление баланса процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, увеличивает скорость элиминации свободных радикалов. Данные исследования свидетельствуют о целесообразности включения в комплексное лечение распространенного гнойного перитонита цитофлавина с целью нормализации процессов биологического окисления и устранения эндогенной интоксикации.

Ключевые слова: распространенный гнойный перитонит, цитофлавин, янтарная кислота, кишечник, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, митохондрии

ВВЕДЕНИЕ

За последние десятилетия достигнут значительный прогресс в изучении патогенеза синдрома энтеральной недостаточности при распространенном гнойном перитоните. Тем не менее проблема лечения данного заболевания еще далека от разрешения и сохраняет свою актуальность. Пусковым механизмом развития энтеральной недостаточности является нарушение моторики кишечника [5, 6, 10, 12]. Из просвета паретически измененного кишечника в системный кровоток поступает большое количество токсических продуктов метаболизма, которые блокируют передачу нервных импульсов и приводят к необратимому повреждению нейронов интрамурального сплетения [5]. В условиях кишечной ишемии избыточное образование активных радикалов кислорода резко усиливает процессы перекисного окисления липидов и ослабляет систему антиоксидантной защиты [7]. Результатом действия всех перечисленных факторов является глубокое нарушение метаболизма миоцитов и функции мышечного аппарата кишечника.

Янтарная кислота является универсальным промежуточным метаболитом, который образуется при взаимопревращении углеводов, белков и жиров. Эффективность влияния янтарной кислоты заключается в модифицирующем воздействии и оптимизации параметров процессов тканевого метаболизма, клеточного дыхания, ионного транспорта, синтеза белков [2, 14].

Особый интерес представляет метаболическое средство “цитофлавин” (НТФФ “Полисан”, Россия) — раствор для инфузий, который включает следующие активные компоненты: янтарную кислоту, никотинамид, рибоксин, рибофлавина мононуклеотид. Основным фармакологический эффект препарата заключается в стимуляции дыхания и энергообразования в клетках, улучшении процессов утилизации кислорода тканями и восстановлении ферментов антиоксидантной защиты [8]. В связи с этим актуальным является изучение возможности применения цитофлавина при распространенном гнойном перитоните с целью нормализации свободнорадикального окисления, устранения дисбаланса перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 40 кроликах-самцах породы шиншилла, весом 2,6 – 3 кг.

Животные были разделены на следующие группы: интактные ($n = 5$); с распространенным гнойным перитонитом без хирургического лечения ($n = 5$); контрольная группа — хирургическое лечение перитонита без применения в послеоперационном периоде цитофлавина ($n = 15$); основная группа — хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде цитофлавина ($n = 15$).

Перитонит моделировали путем интраабдоминального введения аэробно-анаэробной взвеси *E. coli* (штамм 0111 K58 НИ С 130-53) и *B. Fragilis* (штамм 323) из расчета 6 млрд. микробных тел на 1 кг массы кролика. Через 6 ч после введения микроорганизмов в

¹ Центральная научно-исследовательская лаборатория (зав. — С. С. Осочук) Витебского государственного медицинского университета, Республика Беларусь, Витебск, 210602, пр-т Фрунзе, 27.

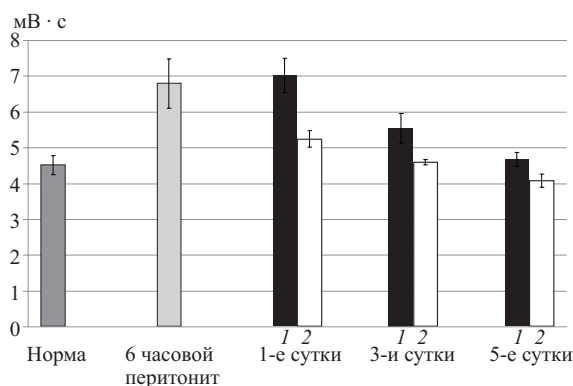


Рис. 1. Динамика уровня антиоксидантной активности (S) в митохондриях мышечной оболочки тонкой кишки при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

Здесь и на рис. 2: 1 — контрольная группа, 2 — основная группа.

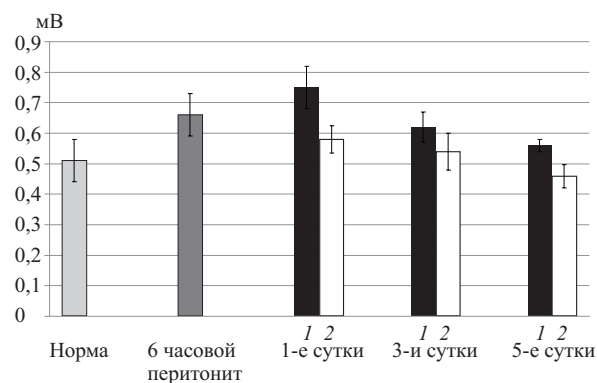


Рис. 2. Динамика уровня перекисного окисления липидов (I_{\max}) в сыворотке крови больных распространенным гнойным перитонитом в послеоперационном периоде.

Обозначения те же, что на рис. 1.

основной и контрольной группах животных с целью лечения перитонита и устранения энтеральной недостаточности выполняли лапаротомию, санацию брюшной полости, декомпрессию тонкой кишки.

Животным основной группы в послеоперационном периоде (в течение 5-ти дней) ежедневно внутривенно капельно вводили цитофлавин из расчета 28,6 мг янтарной кислоты на 1 кг массы животного, животным контрольной группы — 0,9 % раствор натрия хлорида. Животных с распространенным гнойным перитонитом выводили из эксперимента (летальная доза этиаминал-натрия) через 6 ч после заражения, основной и контрольной групп — на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции (по 5 животных в исследуемые сроки).

Выделение митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки выполняли по разработанному нами методу, функциональную активность митохондрий определяли полярографическим методом с помощью электрода Кларка [3, 9]. Оценку состояния свободнорадикального окисления в митохондриях мышечной оболочки тонкой кишки и сыворотке крови изучали методом индуцированной хемилуминесценции (ХЛ) на основе реакции Фентона (Fe^{2+}/H_2O_2). Исследования выполняли на биохемилюминометре БХЛ-06 с ФЭУ-79. Регистрировали максимальную интенсивность свечения (I_{\max} , мВ), пропорциональную уровню перекисного окисления липидов (ПОЛ), светосумму (S , мВ · с) свечения, обратно пропорциональную антиоксидантной активности (АОА) и $tg \alpha_2$ — тангенс угла убывания сигнала после достижения максимальной интенсивности, характеризующий скорость снижения свободнорадикальных процессов в системе [11]. Об активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мышечной ткани тонкой кишки судили по содержанию конечных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА). Для количественной характеристики процессов ПОЛ использовали показатели УФ-поглощения липидных экстрактов при длине волн 232 и 535 нм на спектрофотометре СФ-46, соот-

ветствующие поглощению соединений с конъюгированным типом связи [1, 4]. Статистическую обработку данных проводили с использованием электронных пакетов анализа Statistica 6.0 и Excel. Использованы методы описательной статистики, t -критерий Стьюдента [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние системы свободнорадикального окисления в митохондриях мышечной оболочки тонкой кишки животных с 6-часовым распространенным гнойным перитонитом было значительно нарушено (рис. 1).

Наблюдалась интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижение антиоксидантной активности (АОА) и скорости элиминации свободных радикалов в сыворотке крови больных. Показатели I_{\max} и S увеличились по сравнению с нормой с $0,51 \pm 0,07$ мВ и $4,52 \pm 0,27$ мВ · с до $0,66 \pm 0,07$ мВ ($p = 0,009$) и $6,80 \pm 0,69$ мВ · с ($p = 0,0001$) соответственно, $tg \alpha_2$ снизился с $-0,131 \pm 0,017$ до $-0,162 \pm 0,01$ ($p = 0,011$).

На 1-е сутки после операции у животных контрольной группы наблюдалось недостоверное увеличение I_{\max} и S до $0,75 \pm 0,07$ мВ и $7,02 \pm 0,48$ мВ · с соответственно, снижение $tg \alpha_2$ до $-0,178 \pm 0,011$ по сравнению с животными с 6-часовым перитонитом. На 5-е сутки после операции исследуемые показатели у животных контрольной группы приближались к норме и составили I_{\max} и S $0,56 \pm 0,02$ мВ и $4,68 \pm 0,20$ мВ · с соответственно, $tg \alpha_2 - 0,150 \pm 0,01$ (рис. 2).

Во все сроки послеоперационного периода у животных основной группы на фоне применения цитофлавина интенсивнее и достоверно снижался уровень свободнорадикального окисления, чем у животных контрольной группы, где препарат не применялся. Уже на 3-и сутки все показатели основной группы не отлича-

лись от нормы — I_{\max} и S $0,46 \pm 0,038$ мВ и $4,08 \pm 0,187$ мВ · с, соответственно, $\text{tg } \alpha_2 - 0,121 \pm 0,009$.

Была также изучена динамика влияния цитофлавина на концентрацию конечных продуктов перекисного окисления липидов малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК) в гомогенате мышечной оболочки тонкой кишки.

При развитии у животных 6-часового перитонита уровень МДА и ДК составил $34,32 \pm 2,84$ и $4,05 \pm 0,10$ нМ/г ткани соответственно и статистически значимо ($p < 0,0001$) превышал показатели нормы ($8,81 \pm 0,4$ и $1,54 \pm 0,16$ нМ/г ткани соответственно). На 1-е сутки после операции у животных контрольной группы наблюдалось достоверное увеличение ($p = 0,002$ и $p = 0,0008$ соответственно) МДА и ДК до $41,73 \pm 2,49$ и $4,97 \pm 0,38$ нМ/г ткани по сравнению с группой 6-часового перитонита.

На 3-и сутки послеоперационного периода наблюдалось снижение активности процессов ПОЛ в основной группе, о чем свидетельствовало статистически значимо снижение по сравнению с предыдущими сутками уровня МДА и ДК до $26,8 \pm 1,48$ и $3,13 \pm 0,27$ нМ/г ткани соответственно. На 5-е сутки после операции уровень МДА и ДК у животных контрольной группы более чем в 3 и 2 раза соответственно снизился по сравнению с 1-ми сутками, хотя был достоверно ($p < 0,0001$) выше показателя нормы.

У животных основной группы на фоне применения цитофлавина во все сроки послеоперационного периода уровень МДА и ДК был достоверно ниже, чем у животных контрольной группы, где препарат не применялся. На 1-е сутки послеоперационного периода уровень МДА и ДК составил $28,7 \pm 1,48$ и $3,19 \pm 0,13$ нМ/г ткани соответственно ($p < 0,0001$), а на 5-е сутки не отличался от нормы и составил $8,69 \pm 0,22$ и $1,65 \pm 0,29$ нМ/г ткани соответственно.

Аналогичная динамика изменений процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности наблюдалась и в сыворотке крови. В сыворотке крови животных основной группы на 5-е сутки послеоперационного периода отмечалась полная нормализация процессов свободнорадикального окисления, в то время как в контрольной группе показатели I_{\max} и S до-

стоверно превышали норму ($p = 0,044$ и $p = 0,024$ соответственно).

ВЫВОДЫ

1. Развитие распространенного гнойного перитонита приводит к выраженной эндогенной интоксикации и усилению реакций свободнорадикального окисления.

2. Применение цитофлавина при экспериментальном перитоните обеспечивает восстановление баланса процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун, *Лаб. дело*, № 11, 41 – 43 (1988).
2. В. В. Афанасьев, *Клиническая фармакология реамберина*, Санкт-Петербург (2005).
3. А. Д. Виноградов, Ю. Н. Лейкин, Т. Ю. Линская, *Биохимия митохондрий: руководство к практическим занятиям по биохимии животных*, Изд. Московского университета, Москва (1977).
4. В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная, *Лаб. дело*, № 3, 33 – 36 (1983).
5. Ю. М. Гаин, С. И. Леонович, С. А. Алексеев, *Синдром энтеральной недостаточности при перитоните: теоретические и практические аспекты, диагностика и лечение*, Молодечно (2001).
6. В. К. Гостищев, В. П. Сажин, А. Л. Авдовенко, *Перитонит*, ГЭОТАР-Мед, Москва (2002).
7. Г. В. Илюкевич, И. И. Канус, Г. Я. Хулуп, *Вестн. интенсивной терапии*, № 3, 83 – 87 (2002).
8. Инструкция по медицинскому применению препарата Цитофлавин, Р№003135 / 1 от 21.01.2005.
9. В. А. Косинец, *Вестн. Витебского государственного медицинского университета*, № 4, 31 – 38 (2007).
10. А. Н. Косинец, Ю. В. Стручков, *Инфекция в хирургии: руководство*, Витебск (2004).
11. Е. И. Кузьмина, А. С. Нелюбин, М. К. Щенникова, *Межвузовский сборник. Биохимия и биофизика микроорганизмов*, Горький (1983), сс. 179 – 183.
12. Т. П. Македонская и др., *Хирургия*, № 10, 31 – 33 (2004).
13. П. Мюллер, П. Нойман, Р. Шторм, *Таблицы по математической статистике*, Финансы и статистика, Москва (1982).
14. Ю. М. Гаин и др., *Вестн. Санкт-Петербургской медицинской академии им. И. И. Мечникова*, № 4, 128 – 130 (2003).

Поступила 21.09.09

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CYTOFLAVIN STUDIED IN EXPERIMENTAL DIFFUSE PURULENT PERITONITIS

V. A. Kosinets

Central Research Laboratory, Vitebsk State Medical University, prosp. Frunze 27, Vitebsk, 210602, Belarus Republic

One of key factors in the development of endogenous intoxication during widespread purulent peritonitis is a disbalance in the free-radical oxidation. A hyperactivation of lipid peroxidation and a decrease in the antioxidant activity cause impairment of the cell mitochondria function. The new metabolic drug cytoflavin possesses pronounced antioxidant properties, provides an effective and fast restoration of the LPO and antioxidant activity balance, and increases the speed of free radical elimination. This investigation confirmed the expediency of including cytoflavin in the complex treatment of widespread purulent peritonitis with the aim of normalizing biological oxidation processes and eliminating endogenous intoxication factors.

Key words: Widespread purulent peritonitis, cytoflavin, succinic acid, intestine, lipid peroxidation, antioxidant activity, mitochondria