

## РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

### ИЗУЧЕНИЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО И ЛИПИДРЕГУЛИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ЭТОКСИДОЛА ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

А. П. Власов, Э. И. Начкина, Т. И. Григорьева, Н. Ю. Лещанкина, В. П. Власова<sup>1</sup>

В хронических опытах на собаках при моделировании перитонита установлено, что этоксидол в комплексной терапии способствует улучшению электрофизиологической, метаболической активности сердца и коррекции липидного дистресс-синдрома. Показано, что липидрегулирующий эффект этоксидола реализуется не только за счет уменьшения интенсивности процессов перекисного окисления липидов, но и фосфолипидной активности.

**Ключевые слова:** эндотоксикоз, перитонит, липиды, антиоксидант

#### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в лечении заболеваний, сопровождающихся эндотоксикозом, острый перитонит остается серьезной проблемой, характеризуется высокими показателями летальности и развитием полиорганной недостаточности [3]. Особую значимость при перитоните представляют изменения в сердечно-сосудистой системе, поскольку именно гемодинамические сдвиги инициируют патологический процесс и определяют дальнейший ход течения заболевания.

В условиях эндотоксикоза неизбежно развиваются мембранодеструктивные процессы, патогенетически сопряженные с интенсификацией свободнорадикального окисления липидов, активизацией фосфолипидных систем [5], что приводит к изменениям в спектре мембранных липидов, развитию липидного дистресс-синдрома в различных органах и тканях, в том числе и миокарде [1, 2, 4]. В исследованиях последних лет большое внимание уделяется изучению антиоксидантов в возможности коррекции нарушений липидного метаболизма при многих заболеваниях [5, 6]. В связи с этим, целью работы явилось изучение влияния нового производного 3-оксипиридина этоксидола на некоторые показатели функционального и метаболического состояния сердца при моделировании острого перитонита. Этоксидол — 2-этил-6-метил-3-гидрокси-пиридинийгидроксибутан-диоат ( $C_{12}H_{17}N_1O_6$ ).

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу работы положены экспериментальные исследования на беспородных половозрелых собаках ( $n = 26$ ) обоего пола массой от 7,9 до 12,5 кг, эндогенная интоксикация у которых воспроизводилась путем

моделирования калового перитонита по способу А. П. Власова (1991). Под общим обезболиванием животным в брюшную полость шприцем вводили 20 % каловую взвесь из расчета 0,5 мл/кг массы тела животного. Через сутки после этой манипуляции животным под тиопентал-натриевым наркозом (0,04 г/кг массы) выполняли срединную лапаротомию, оценивали возникшие патологические изменения в брюшной полости и санировали ее. В контрольные сроки (1-е, 3-и, 5-е сутки) производили релапаротомию, торакотомию, забор крови, биопсию тканей миокарда. В контрольной группе ( $n = 26$ ) животным в послеоперационном периоде проводили инфузионную терапию (внутривенные введения 5 % раствора глюкозы и 0,89 % раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного). В опытной группе ( $n = 26$ ) в комплексном лечении применяли этоксидол (10 мг/кг). Для получения значений показателей в норме их определяли у 10 здоровых животных.

Выполняли электрокардиографическое исследование. Липиды из тканей миокарда экстрагировали хлороформметаноловой смесью, фракционировали методом тонкослойной хроматографии на силикагелевых пластинах. Полярные фосфолипиды разделяли на пластинах фирмы "Merk" на стеклянной основе, нейтральные липиды — на силикагелевых пластинах для обращено-фазной тонкослойной хроматографии. Молекулярный анализ липидов проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Sotware). Эффективную (ЭКА) и общую (ОКА) концентрацию альбумина в сыворотке крови определяли флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 Зонд (Добрецов Г. Е., 1992). Уровень диеновых (ДК) и триеновых конъюгатов (ТК) определяли спектрофотометрическим методом по наличию максимумов поглощения при длинах волн соответственно 232 и 275 нм (Ганстон Ф. Д., 1986). Содер-

<sup>1</sup> Кафедра факультетской хирургии (зав. — проф. А. П. Власов) ГОУВПО "Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева", 430000, Саранск, ул. Большевикская, 68.

жание молекул средней массы (МСМ) определяли спектрофотометрическим методом (Пикуза О. И., Шакирова Л. З., 1994). Активность фосфолипазы А<sub>2</sub> оценивали в среде, содержащей 10 ммоль трис-НСL-буфер (рН 8,0), 150 ммоль тритон Х-100, 10 ммоль СаСl<sub>2</sub> и субстрат (1,2 ммоль). В качестве субстрата использовали фосфатидилхолина яичного желтка. Регистрацию каталитической деятельности фермента проводили титрометрическим методом по мере образования свободных жирных кислот. Активность каталазы оценивали фотометрическим методом (Королук М. А., 1988). Содержание вторичных продуктов свободнорадикального окисления липидов при спонтанном и Fe<sup>2+</sup>-индуцированном перекисном окислении липидов определяли по накоплению малонового диальдегида (МДА) в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) (Егоров Д. Ю., Козлов А. В., 1987). Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При моделировании перитонита у животных контрольной группы развивался выраженный синдром эндогенной интоксикации, что подтверждалось увеличением содержания в крови гидрофильных и гидрофобных токсических продуктов. Обнаружено, что ОКА в плазме крови экспериментальных животных на всех этапах исследования изменялась незначительно и была сопоставима с нормальными показателями. При этом наблюдалось достоверное снижение ЭКА на 46 – 57,2 % ( $p < 0,05$ ) уже с первых дней развития заболевания и резерва связывания альбуминов — на 43,6 – 57,7 % ( $p < 0,05$ ), сопровождающееся ростом индекса токсичности плазмы в 3,8 – 7 раз и содержания МСМ на 82 – 140 %.

Развитие эндогенной интоксикации при моделировании у подопытных животных острого перитонита характеризовалось активизацией процессов свободно-радикального окисления в тканях миокарда: уровень ДК и ТК повышался на 91,1 – 189 % ( $p < 0,05$ ), МДА — на 28,3 – 103 % ( $p < 0,05$ ), Fe<sup>2+</sup>-индуцированного МДА — на 74,3 – 129,8 % ( $p < 0,05$ ). Активность фосфолипазы А<sub>2</sub> возрастала на 38,5 % ( $p < 0,05$ ) с последующим снижением к 3 – 5-м суткам наблюдения до нормальных значений. Активность каталазы была достоверно выше исходных значений на 42,1 – 118 % ( $p < 0,05$ ) с максимальным уровнем через сутки после операции.

Интенсификация мембранодеструктивных процессов в сердечной мышце сопровождалась существенным изменением качественного и количественного состава липидов в тканях миокарда (табл. 1, 2). В норме для сердечной мышцы характерно высокое содержание холестерина, триацилглицеролов, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина. Динамическое наблюдение показало, что у животных контрольной группы наблюдалось снижение содержания эфиров холестерина, суммарных фосфолипидов, уменьшение доли сфингомиелина, фосфатидилхолина и фосфатидилсерина, повышение уровня фракций моноацилглицеролов, свободных жирных кислот и лизофосфолипидов в мембранах кардиомиоцитов.

Изучение результатов электрокардиографического исследования показало, что при хирургическом эндотоксикозе отмечают электрофизиологические отклонения в деятельности сердечной мышцы, что проявлялось снижением продолжительности интервалов RR, QRS, PQ, QT при достоверном уменьшении вольтажа зубцов R, S, T и Q на фоне повышения частоты сердечных сокращений.

Таблица 1. Влияние этоксида на фракционный состав липидов миокарда при экспериментальном перитоните ( $M \pm m$ )

Показатель	Норма	Группа	Этапы наблюдения (от момента моделирования), сутки		
			1-е	3-и	5-е
Суммарные фосфолипиды	28,93 ± 1,39	I	23,56 ± 1,81*	21,99 ± 1,61*	23,88 ± 1,87*
		II	26,93 ± 1,83	26,78 ± 1,56**	28,04 ± 1,94
Моноацилглицеролы	2,72 ± 0,15	I	4,97 ± 0,31*	5,51 ± 0,32*	5,16 ± 0,30*
		II	3,57 ± 0,26***	3,45 ± 0,22***	3,08 ± 0,25**
Холестерол	26,72 ± 1,53	I	28,58 ± 2,75	26,13 ± 2,40	26,58 ± 2,55
		II	28,04 ± 2,12	26,03 ± 2,25	26,20 ± 2,08
Эфиры холестерина	14,65 ± 0,73	I	8,33 ± 0,61*	7,52 ± 0,55*	7,97 ± 0,53*
		II	11,98 ± 0,92***	11,21 ± 0,86***	12,49 ± 0,97**
Диацилглицеролы	5,29 ± 0,30	I	6,70 ± 0,40*	6,21 ± 0,38	6,96 ± 0,42*
		II	5,91 ± 0,33	5,22 ± 0,37	5,43 ± 0,28**
Свободные жирные кислоты	3,92 ± 0,17	I	5,44 ± 0,25*	8,82 ± 0,45*	10,71 ± 0,57*
		II	4,51 ± 0,21***	5,89 ± 0,31***	6,17 ± 0,41***
Триацилглицеролы	19,89 ± 1,12	I	24,83 ± 1,64*	25,84 ± 1,24*	20,30 ± 1,77
		II	21,23 ± 1,51	21,88 ± 1,63	19,83 ± 1,47

**Примечание.** Здесь и в табл. 2: I — контрольная, II — опытная группы. Различия статистически значимы: \* — по отношению к исходным данным; \*\* — по отношению к контролю при  $p < 0,05$ .

Таким образом, при перитоните у животных возникают выраженные нарушения гомеостаза, одним из центральных звеньев которого выступает расстройство липидного обмена, а также изменения электрофизиологической активности миокарда. При этом инфузионная терапия не способствовала достаточной коррекции выявленных нарушений. Следовательно, выбранная модель вполне адекватна для изучения эффектов и механизмов действия лекарственных средств, оказывающих антиоксидантный эффект.

Применение антиоксиданта этоксидаола способствовало значительной коррекции метаболических расстройств миокарда при эндотоксикозе. На фоне применения этоксидаола содержание ДК, ТК и ТБК-реагирующих продуктов по сравнению с контрольной группой снижалось уже через сутки после операции на 16,7 – 29,5 % ( $p < 0,05$ ). При этом активность фосфолипазы  $A_2$  уменьшалась на 24,6 % ( $p < 0,05$ ), ее уровень соответствовал исходным значениям до конца эксперимента. Активность каталазы достоверно не отличалась от данных контрольной группы.

При изучении результатов влияния этоксидаола на липидный состав ткани миокарда выявлено, что препарат способствовал ускорению восстановления качественного и количественного липидного спектра по сравнению с контрольной группой. Важной особенностью терапии является то, что липидрегулирующий кардиопротекторный эффект препарата отмечался уже с первых суток применения и продолжал проявляться на конечных этапах лечения (табл. 1 и 2).

Анализ электрокардиограмм показал, что включение в схему терапии этоксидаола привело к достоверному уменьшению частоты сердечных сокращений по сравнению с контрольной группой через сутки после введения, достигшей уровня исходных значений к 5-м суткам наблюдения. Продолжительность интервалов RR, QRS, PQ и QT достоверно возросла. Восстановление функциональной активности сердечной мышцы подтверждалось также увеличением амплитуды зубца

T на 15,4 – 55,8 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с данными контрольной группы.

Исследования показали, что этоксидаол, обладающий антиоксидантной активностью, корректирует изменения функциональных и метаболических показателей сердца при остром перитоните. Немаловажное значение с точки зрения выявления механизма действия исследуемого препарата при перитоните имеют результаты его действия на липидный обмен и процессы, участвующие в его регуляции. При применении антиоксиданта в тканях миокарда происходит восстановление липидного состава в качественном и количественном отношении. Выявлена корреляционная зависимость (коэффициенты корреляции  $r = 0,67 - 0,82$ ) между эффективностью терапии в отношении модификации липидного спектра мембран кардиомиоцитов и интенсивностью свободнорадикального окисления липидов, с одной стороны, и влиянием ее на показатели электрофизиологической активности миокарда — с другой. Один из важных выявленных эффектов антиоксиданта — способность уменьшать уровень лизофосфолипидов и свободных жирных кислот, которые обладают детергентоподобной активностью и возможностью лабильзовать состояние клеточных мембран [1, 2]. Данный факт представляет особую значимость в установлении молекулярных основ патогенетических механизмов формирования повреждения сердечной мышцы при эндотоксикозе и в определении направленности основного вектора лечебного воздействия. Таким образом, при применении этоксидаола в условиях токсического поражения сердца выявлен существенный кардиопротекторный и мембраностабилизирующий эффект, проявившийся в восстановлении электрофизиологической активности миокарда и липидного состава биомембран кардиомиоцитов.

## ВЫВОДЫ

1. Применение в комплексной терапии острого перитонита нового производного 3-оксипиридина эток-

Таблица 2. Влияние этоксидаола на фосфолипидный состав ткани миокарда при экспериментальном перитоните ( $M \pm m$ )

Показатель	Норма	Группа	Этапы наблюдения (от момента моделирования), сутки		
			1-е	3-и	5-е
Сфингомиелин	6,41 ± 0,41	I	4,81 ± 0,27*	5,09 ± 0,31*	5,39 ± 0,32*
		II	5,83 ± 0,26**	6,31 ± 0,40**	6,42 ± 0,37**
Лизофосфолипиды	0,37 ± 0,02	I	2,51 ± 0,18*	2,21 ± 0,16*	1,91 ± 0,10*
		II	1,54 ± 0,14***	1,38 ± 0,09***	1,21 ± 0,08***
Фосфатидилхолин	38,56 ± 1,95	I	31,23 ± 1,61*	30,08 ± 1,51*	32,36 ± 1,62*
		II	34,62 ± 1,74	36,89 ± 1,52**	38,37 ± 1,58**
Фосфатидилсерин	13,73 ± 0,64	I	8,57 ± 0,46*	7,59 ± 0,41*	5,68 ± 0,29*
		II	10,42 ± 0,51***	10,78 ± 0,53***	11,12 ± 0,61***
Фосфатидилинозит	6,37 ± 0,37	I	7,91 ± 0,38*	8,52 ± 0,43*	8,23 ± 0,41*
		II	6,48 ± 0,40**	7,18 ± 0,49	6,56 ± 0,37**
Фосфатидилэтаноламин	35,86 ± 1,85	I	44,17 ± 2,67*	48,01 ± 2,14*	45,66 ± 2,23*
		II	39,97 ± 2,10	40,03 ± 2,37**	37,19 ± 2,26**

сидола, обладающего антиоксидантным действием, способствует восстановлению электрофизиологической и метаболической активности сердца при остром перитоните.

2. Исследуемый препарат корригирует липидный дистресс-синдром — одно из центральных патогенетических звеньев острого перитонита.

3. Липидрегулирующий эффект этоксида реализуются посредством изменения интенсивности процессов ПОЛ и фосфолипазной активности.

4. В динамике выявлены корреляционные связи между влиянием этоксида на липидный спектр мембран кардиомиоцитов и электрофизиологическую активность миокарда. Показано, что своевременность коррекции липидного метаболизма этоксидом — основа его лечебной эффективности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. П. Власов, В. Г. Крылов, Т. В. Тарасова и др., *Липидмодифицирующий компонент в патогенетической терапии*, Наука, Москва (2008).
2. А. П. Власов, В. А. Трофимов, В. Г. Крылов, *Системный липидный дистресс-синдром в хирургии*, Наука, Москва (2009).
3. В. К. Гостищев, В. П. Сажин, А. Л. Авдоненко, *Перитонит*, ГЭОТАР-МЕД, Москва (2002).
4. В. А. Петухов, А. И. Крюков, Н. А. Петухова, П. Р. Камчатнов, *Трудный пациент*, 2(4), 3 – 10 (2004).
5. Т. Г. Сазонтова, Ю. В. Архипенко, *Пат. физиол. и эксперим. тер.*, 3, 2 – 18 (2007).
6. П. С. Филипенко, И. С. Салий, Г. В. Потапов, *Пат. физиол. и эксперим. тер.*, 3, 29 – 31 (2008).

Поступила 17.02.09

## CARDIOPROTECTIVE AND LIPID-REGULATING EFFECTS OF ETOXIDOL WITH RESPECT TO SURGICAL ENDOTOXINEMIA

A. P. Vlasov, E. I. Nachkina, T. I. Grigor'eva, N. Yu. Leshchankina, and V. P. Vlasova

Mordvinian State University, ul. Bol'shevistskaya 68, Saransk, Mordvinia, 430000, Russia

Chronic experiments on stray dogs with modeling peritonitis showed that a complex therapy involving etoxidol favors improvement of the electrophysiological and metabolic heart activity and provides correction of the lipid distress syndrome. It is established that the lipid regulating effect of etoxidol is related not only to a decrease in the intensity of lipid peroxidation (LPO), but also to the A2-phospholipase activity of this drug.

**Key words:** Endotoxemia, peritonitis, lipid peroxidation, antioxidant.