

Мембранопротекторная терапия в коррекции фосфолипидной дестабилизации цитомембран органов детоксикационной системы при эндотоксикозе

☞ О.В. Логинова¹, И.Г. Козлов¹, А.А. Шишов², И.В. Бардина²,
А.Л. Назаров², О.М. Кузнецова², О.А. Борисова²

¹ Кафедра фармакологии Российского государственного
медицинского университета им. Н.И. Пирогова

² Кафедра факультетской хирургии Мордовского государственного
университета им. Н.П. Огарева, Саранск

Обсуждается синдром эндогенной интоксикации как неотъемлемое звено патогенеза и фактор, определяющий тяжесть течения различных заболеваний. Проведена оценка эффективности антиоксиданта этоксида в коррекции фосфолипидной дестабилизации цитомембран органов детоксикационной системы при эндотоксикозе в экспериментальной модели перитонита. Показано, что препарат восстанавливает функцию детоксицирующих органов, стабилизируя фосфолипидную матрицу биомембран.

Ключевые слова: эндогенная интоксикация, липидный спектр биомембран, перекисное окисление липидов, фосфолипаза A₂, этоксидол, экспериментальный перитонит.

В настоящее время проблема синдрома эндогенной интоксикации остается одной из наиболее актуальных, что связано с важной ролью данного синдрома как звена патогенеза и как фактора, определяющего тяжесть течения самых различных заболеваний. Безусловно, одним из важнейших компонентов прогрессирования эндотоксикоза является неспособность детоксицирующих систем и органов справляться с токсинами, что определяется срывом адаптационных механизмов и формированием морфофункциональных расстройств органов детоксикационной системы. Кроме того, известна важнейшая роль мембранодестабилизирующих явлений в патогенезе

эндотоксикоза, при крайней степени выраженности которых (деструкция биомембраны) появляется новый “источник” токсичных субстанций, происходит замыкание порочного круга. В этой связи особый интерес представляет направление по стабилизации липидной матрицы биомембран клеточных структур организма как способ коррекции эндогенной интоксикации.

Целью исследования стала экспериментальная оценка эффективности антиоксиданта этоксида в коррекции фосфолипидной дестабилизации цитомембран органов детоксикационной системы (печень, почки, легкие) при эндотоксикозе.

Материал и методы

В основу работы положены экспериментальные исследования на беспородных по-

Контактная информация: Логинова Ольга Васильевна, olga.pharma888@rambler.ru

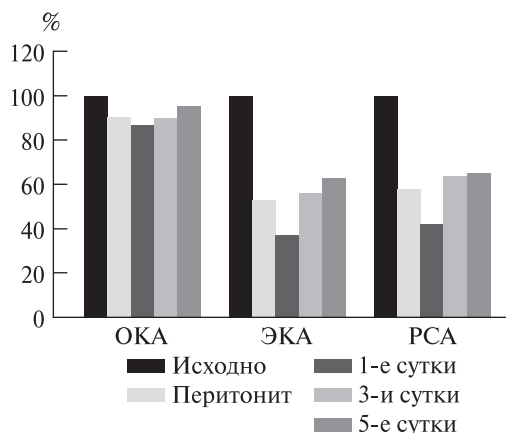


Рис. 1. Динамика (в %) некоторых показателей эндотоксикоза при перитоните в контрольной группе собак (все отличия от исходных показателей достоверны, $p < 0,05$). ОКА — общая концентрация альбумина, ЭКА — эффективная концентрация альбумина, РСА — резерв связывания альбумина.

ловозрелых собаках, которым с целью воспроизведения синдрома эндогенной интоксикации моделировали перитонит путем введения в брюшную полость 20% каловой взвеси из расчета 0,5 мл/кг массы. В контрольные сроки (1-е, 3-и, 5-е сутки) производили релапаротомию, забор крови, биопсию ткани печени, почек и легких. Все манипуляции производились под тиопентал-натриевым наркозом (0,04 г/кг массы). В послеоперационном периоде проводили инфузионную и антибактериальную терапию. В 1-й группе (контроль, $n = 20$) оценивали выраженность эндотоксикоза, липидный спектр биомембран клеток печени, почек, легких и интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность фосфолипазы A_2 (ΦA_2) и супероксиддисмутазы. Во 2-й группе (эксперимент, $n = 20$) аналогичные исследования выполняли на фоне лечения этоксидолом (10 мг/кг). Интенсивность процесса эндотоксикоза оценивали, определяя общую и эффективную фракции альбумина в сыворотке крови по методу Ю.А. Грызунова и Г.Е. Добрецова

(1994). Уровень молекул средней массы определяли спектрофотометрическим методом. Состояние процесса свободнорадикального окисления липидов — по содержанию первичных и вторичных продуктов ПОЛ, соответственно, диеновых (ДК) и триеновых конъюгат и малонового диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Каталитическую активность ΦA_2 фиксировали титрометрическим методом с помощью нейтрализации 0,02 М NaOH карбоксильных групп, высвобождающихся свободных жирных кислот. Липиды фракционировали методом тонкослойной хроматографии.

Результаты исследования

Экспериментально установлена адекватность выбранной модели. Так, эффективная концентрация альбумина в динамике заболевания снижалась на 27–36%, резерв связывания альбумина был меньше нормы на 29–59%, индекс токсичности плазмы повышался на 87–226%, содержание молекул средней массы увеличивалось на 43–148%, уровень ТБК-активных продуктов в плазме крови повышался на 43–126% (все различия достоверны, $p < 0,05$) (рис. 1).

При изучении липидного спектра гепатоцитарных мембран при эндотоксикозе выявлены его существенные модификации, что проявлялось в снижении содержания суммарных фосфолипидов на 30–34% и увеличении удельного веса фракций свободных жирных кислот на 70–134%, моно- и триацилглицеролов — на 38–44 и 46–76% соответственно, эфиров холестерина — на 32–47% (все различия достоверны, $p < 0,05$). При исследовании качественного состава фосфолипидной матрицы биомембран клеточных структур печени выявлено значительное увеличение содержания лизофосфолипидов — на 890–1627% ($p < 0,05$).

При изучении выраженности процессов ПОЛ и активизации ферментов в ткани печени при синдроме эндогенной интоксика-

ции обнаружено, что уровни ДК и МДА возрастали на 184–275 и 40–163% соответственно ($p < 0,05$), активность ФА_2 в тканевых структурах печени увеличивалась при достоверном снижении активности антиоксидантного потенциала ткани органа (рис. 2).

Исследования показали, что фракционный состав липидов ткани почек при эндотоксикозе был изменен как с количественной, так и с качественной стороны. Содержание суммарных фосфолипидов было снижено на 22–25%, эфиров холестерина — на 33–49%; отмечено прогрессивное увеличение удельного веса свободных жирных кислот — на 43–102% (все различия достоверны, $p < 0,05$). Содержание моноацилглицеролов, диацилглицеролов также возрастало. Фракция лизофосфолипидов была увеличена в 5–7,9 раза. Содержание фосфатидилхолина, фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина существенно снижалось.

При изучении состояния процессов ПОЛ в почечной ткани обнаружено, что концентрация спонтанного МДА и Fe-МДА превышала норму в 1,5–2 раза. Активность ФА_2 в ткани почек была повышена в 1,7–2,3 раза. Выявлено угнетение системы антиоксидантной защиты, что проявлялось в снижении активности супероксиддисмутазы на 36–56% ($p < 0,05$).

Установлено, что на фоне эндогенной интоксикации в тканевых структурах легких возникали выраженные качественные и количественные изменения липидного состава. При оценке состава нейтральных липидов выявлены наибольшие изменения со стороны свободных жирных кислот. Их уровень возрастал на 57–74% ($p < 0,05$). Содержание моно- и триацилглицеролов, эфиров холестерина уменьшалось, уровень диацилглицеролов и холестерина повышался. Наиболее значимые отклонения были со стороны лизофосфолипидов: их уровень повышался в 7,9–15,3 раза ($p < 0,05$). Со-

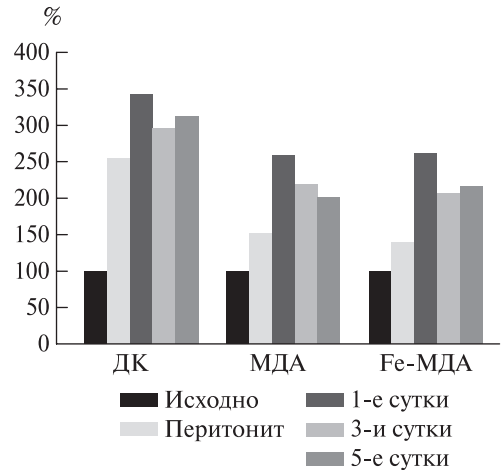


Рис. 2. Динамика (в %) показателей ПОЛ ткани печени при эндотоксикозе, вызванном перитонитом, в контрольной группе собак (все отличия от исходных показателей достоверны, $p < 0,05$). Fe-МДА — Fe-индуцированный малоновый диальдегид.

держание основных мембранных липидов, таких как фосфатидилхолин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозит в динамике заболевания снижалось, уровень фосфатидилэтаноламина повышался.

Отмечено, что нарушение липидного гомеостаза легочной ткани сопровождалось интенсификацией процессов ПОЛ, снижением антиоксидантного энзимного потенциала, повышением активности ФА_2 .

На основании полученных результатов исследования необходимо отметить, что развитие синдрома эндогенной интоксикации сопровождается существенными мембранодеструктивными явлениями в органах детоксикационной системы, в основе которых лежали модификации фосфолипидной матрицы биомембран клеточных структур. Подчеркнем, что существенной выраженности данные процессы достигали уже на 1-е сутки эксперимента, что коррелировало с динамикой интенсивности эндотоксикоза, определяя патогенетическую обоснованность мембранопротекторной терапии.

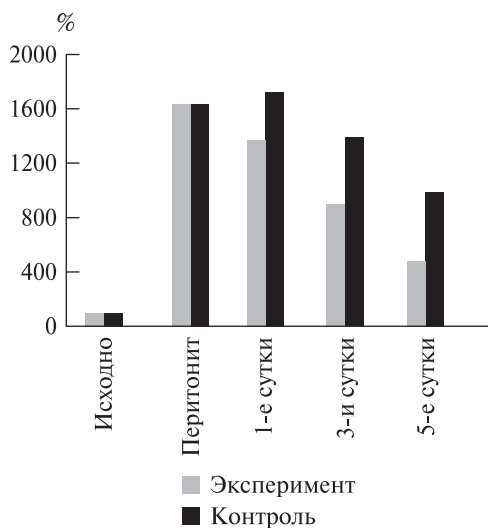


Рис. 3. Динамика (в %) уровня лизофосфолипидов ткани печени собак на фоне применения этоксида при эндотоксикозе, вызванном перитонитом (все различия между показателями контрольной и экспериментальной групп достоверны, $p < 0,05$).

В эксперименте установлено, что применение этоксида в коррекции эндотоксикоза способствовало значительной коррекции фосфолипидной дестабилизации цитомембран органов детоксикационной системы.

Исследование липидного спектра биомембран гепатоцитов при эндотоксикозе на фоне применения этоксида показало, что содержание моноацилглицеролов уменьшалось относительно контроля. Уровни диацилглицеролов и триацилглицеролов достоверно ($p < 0,05$) возрастали относительно контроля — на 38–74% и 15–30% соответственно. Содержание свободных жирных кислот и эфиров холестерина снижалось относительно контрольных данных на 18–30 и 18–32% соответственно ($p < 0,05$). Показатели суммарных фосфолипидов и холестерина в тканях печени достоверно превосходили контроль. Существенной коррекции подвергался и фосфолипидный состав биомембран гепатоцитов (рис. 3).

Показано, что на фоне применения этоксида процесс восстановления липидной матрицы биомембран сопровождался быстрым снижением интенсивности процессов ПОЛ в тканях печени, что было зарегистрировано в виде уменьшения содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ на 23–29 и 15–53% соответственно ($p < 0,05$). Показатель фосфолипазной активности достоверно снижался относительно результатов контрольной группы исследования на 20–35%. На фоне применения препарата отмечалось значительное увеличение антиоксидантного ферментного потенциала тканей печени, что было зарегистрировано в достоверном росте активности супероксиддисмутазы относительно контроля на 27–50%.

При применении этоксида липидный спектр почек также восстанавливался. Так, содержание суммарных фосфолипидов и эфиров холестерина достоверно повышалось. Удельный вес свободных жирных кислот в ткани почек был ниже контроля на 13–42%, лизофосфолипидов — на 21–37%, сфингомиелина — на 26–41%, фосфатидилинозита — на 25–50% (все различия достоверны, $p < 0,05$). Восстанавливались и показатели моно-, ди- и триацилглицеролов.

Показано, что на фоне применения этоксида интенсивность ПОЛ в тканевых структурах почек была менее выражена, что было зарегистрировано по существенному снижению содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ. Активность ФА_2 в ткани почек была ниже данных контроля на 36–42%, активность супероксиддисмутазы — выше на 7–88% (все различия достоверны, $p < 0,05$).

Исследования показали, что при использовании этоксида модификация липидного обмена происходила и в легочной ткани. Причем это относилось как к нейтральным липидам, так и к фосфолипидам (таблица).

Состав липидов (% от общего содержания липидов) в тканях легких при эндотоксикозе на фоне применения этоксида (М ± m)

Показатель	Группа	Исходные данные	Перитонит	Этапы наблюдения		
				1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Суммарные фосфолипиды	I	27,93 ± 0,84	23,02 ± 0,58*	22,64 ± 1,01*	23,50 ± 1,37*	28,20 ± 1,40
	II			26,17 ± 2,95	27,98 ± 1,25	28,12 ± 2,50
Моноацилглицеролы	I	6,34 ± 0,21	5,59 ± 0,19*	5,25 ± 0,40*	2,49 ± 0,25*	1,51 ± 0,16*
	II			5,10 ± 0,26*	4,01 ± 0,20*	4,09 ± 0,19*
Холестерин	I	29,42 ± 0,74	33,11 ± 0,46*	36,45 ± 1,73*	38,38 ± 2,12*	34,64 ± 1,39*
	II			28,15 ± 1,38	31,03 ± 1,55	28,12 ± 0,89
Диацилглицеролы	I	1,30 ± 0,06	2,12 ± 0,17*	1,21 ± 0,09	4,82 ± 0,28*	3,41 ± 0,23*
	II			1,15 ± 0,22	2,74 ± 0,15*	1,53 ± 0,18
Свободные жирные кислоты	I	5,64 ± 0,42	8,10 ± 0,40*	9,34 ± 0,64*	9,81 ± 0,69*	8,91 ± 0,72*
	II			7,01 ± 0,35*	6,25 ± 0,21	5,34 ± 0,11
Триацилглицеролы	I	15,61 ± 0,43	13,05 ± 0,51*	12,44 ± 0,64*	8,21 ± 0,41*	8,61 ± 0,63*
	II			11,91 ± 0,81*	12,22 ± 0,69*	14,10 ± 0,62*
Эфиры холестерина	I	15,33 ± 0,66	16,07 ± 0,80	14,09 ± 1,02	12,11 ± 0,98*	14,81 ± 1,04
	II			15,21 ± 0,92	15,72 ± 0,63	16,20 ± 0,84

* Различия с исходными данными достоверны (p < 0,05). Жирный шрифт — различия с данными контрольной группы достоверны (p < 0,05).
Обозначения: I — контрольная группа, II — экспериментальная группа.

На фоне применения этоксида отмечалось уменьшение процессов свободнорадикального окисления в легких, что проявилось снижением содержания ТБК-активных продуктов на 19–29%; активность ФА_2 была меньше контроля на 33–46%, а супероксиддисмутазы — выше на 19–48% (все различия достоверны, p < 0,05).

Подчеркнем, что восстановление липидного спектра тканевых структур печени, почек, легких имело достоверную корреляционную связь со снижением интенсивности процессов ПОЛ и фосфолипазной активности.

Следует отметить, что при использовании этоксида выявлено существенное снижение выраженности синдрома эндогенной интоксикации. Было зарегистрировано достоверное снижение относительно контроля содержания гидрофильных токсических продуктов в плазме крови — на 15–31%, гидрофобных — на 11–37%, индекс токсичности плазмы крови уменьшал-

ся на 25–48% (все различия достоверны, p < 0,05).

Выводы

Мембранопротектор этоксидол обладает способностью влиять на основное патогенетическое звено эндотоксикоза — нарушение липидного гомеостаза печени, почек, легких. Коррекция липидного метаболизма клеточных структур исследованных органов в эксперименте происходила за счет уменьшения интенсивности процессов ПОЛ и активности ФА_2 . Указанный механизм липидмодулирующего эффекта этоксида явился определяющим в снижении выраженности эндогенной интоксикации. Это происходило за счет “реставрации” фосфолипидной матрицы биомембран клеточных структур органов детоксикационной системы, что обуславливало восстановление их функциональной активности и снижение интенсивности мембранодеструктивных процессов (основного источника эндотоксинов). Отметим, что мембрано-

протекторная активность препарата в отношении исследованных объектов проявлялась довольно быстро.

Рекомендуемая литература

- Григорьев Е.В., Чурляев Ю.А., Сибиль К.В. Клинико-патогенетические варианты повреждения гематоперитонеального барьера при абдоминальном сепсисе // Анестезиол. и реаниматол. 2006. № 6. С. 13–15.
- Евдокимов В.В. Патогенетические критерии диагностики и комплексного лечения распространенного перитонита с включением лимфологических методов : дис. ... докт. мед. наук. М., 2002. 356 с.
- Заболотских И.Б., Голубцов В.В. Развитие полиорганной дисфункции при сепсисе // Анестезиол. и реаниматол. 2006. № 6. С. 20–23.
- Пасечник И.Н. Окислительный стресс и критические состояния у хирургических больных // Вестн. интенс. тер. 2004. № 3. С. 27–30.
- Петросян Э.А., Оноприев В.И., Повилиева Т.Л. и др. Оценка состояния эндогенной интоксикации при развитии экспериментального желчного перитонита // Вестн. хир. 2005. Т. 164. № 4. С. 28–30.
- Султанов Г.А., Азимов Э.Х., Ибимов К.Г. Антиоксиданты и их применение в медицинской практике // Вестн. хир. 2004. Т. 163. № 4. С. 94–96.
- Ямпольский А.Ф. Изолированная острая почечная недостаточность // Вестн. интенс. тер. 2006. № 1. С. 85–88.
- Яковлев А.Ю. Коррекция метаболизма больных перитонитом — к вопросу о средствах и тактике применения антигипоксантов // Вестн. интенс. тер. 2007. № 1. С. 91–95.
- Brealey D., Karyampudi S., Jacques T.S. et al. Mitochondrial dysfunction in a long-term rodent model of sepsis and organ failure // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2004. V. 286. № 3. P. R491–R497.
- Terra C., Guevara M., Torre A. et al. Renal failure in patients with cirrhosis and sepsis unrelated to spontaneous bacterial peritonitis: value of MELD score // Gastroenterology. 2005. V. 129. № 6. P. 1944–1953.

Membrane Protective Treatment in Correction of Endotoxemia-Induced Phospholipid Destabilization of Cytoplasmic Membranes in Organs of Detoxification System

O.V. Loginova, I.G. Kozlov, A.A. Shishov, I.V. Bardina, A.L. Nazarov, O.M. Kuznezova, and O.A. Borisova

Endogenous intoxication syndrome is an important part of pathogenesis of various disorders and a significant prognostic factor. The aim of study was to assess effectiveness of etoxidol for correction of detoxification organs membranous phospholipids during endotoxemia. The drug repaired function of detoxification organs by stabilization of membranous matrix phospholipids.

Key words: endogenous intoxication, biomembrane lipid spectrum, peroxide oxidation of lipids, phospholipase A₂, etoxidol, experimental peritonitis.