

Молекулярные основы эффективности мембранопротекторной терапии при эндотоксикозе

✉ А.П. Власов¹, О.В. Логинова², И.Г. Козлов²,
В.Г. Крылов¹, Т.И. Григорьева¹, Э.И. Начкина¹

¹ Кафедра факультетской хирургии Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева, г. Саранск

² Кафедра фармакологии Российского государственного медицинского университета им. Н.И. Пирогова

Согласно современным концепциям перитонит рассматривается как эндотоксикоз с развитием синдрома полиорганной недостаточности. В исследовании оценивали эффективность антиоксиданта мексидола для коррекции эндотоксикоза при перитоните. Мексидол показал способность снижать интенсивность перекисного окисления липидов и активность фосфолипазы A_2 , уменьшая проявления эндогенной интоксикации.

Ключевые слова: перитонит, эндогенная интоксикация, перекисное окисление липидов, фосфолипаза A_2 , мексидол.

Актуальной проблемой современной медицины остаются инфекционно-воспалительные процессы, одним из которых является перитонит. В настоящее время патогенез перитонита различной этиологии рассматривается как эндотоксикоз с развитием синдрома полиорганной недостаточности. Распространенный перитонит следует считать абдоминальным сепсисом, который становится системной воспалительной реакцией на очаг инфекции в брюшной полости.

Достижения молекулярной биологии дали возможность понять многие патогенетические пути абдоминального сепсиса, связанные с реакциями системного воспалительного ответа на инвазию патогенных микроорганизмов. Главными патофизиологическими компонентами этого ответа служат гипоксия, токсемия, нарушения микроциркуляции и угнетение собствен-

ных механизмов детоксикации вследствие полиорганной недостаточности. Развитие органных и системных повреждений связано с неконтролируемым распространением провоспалительных медиаторов из первичного очага инфекционного воспаления и с последующей активацией под их влиянием свободнорадикальных процессов **перекисного окисления липидов (ПОЛ)**, что приводит к деструкции мембран клеток. Фармакологическая коррекция эндотоксикоза может быть направлена на управление процессом ПОЛ, что делает патогенетически оправданным применение препаратов с антиоксидантной активностью.

Целью исследования была оценка эффективности антиоксиданта мексидола при эндотоксикозе, а также выявление его эффектов на молекулярном уровне.

Материал и методы

Основой работы послужили экспериментальные исследования на половозрелых собаках, у которых при остром разли-

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

том перитоните изучали выраженность эндогенной интоксикации, интенсивность ПОЛ, активность фосфолипазы A_2 в плазме крови и кишечнике, а также функциональное состояние тканей кишечника. Животные были разделены на две группы: контрольную ($n = 15$) и опытную ($n = 12$), где применяли мексидол (10 мг/кг внутривенно в виде 5% раствора).

Перитонит моделировали путем внутрибрюшинного введения 20% каловой взвеси (0,5 мл/кг массы тела). Поскольку наиболее выраженные патологические процессы и компенсаторные реакции происходят в первые 5 сут, то контрольными этапами были выбраны 1-е, 3-и и 5-е сутки послеоперационного периода. В контрольные сроки осуществлялись релапаротомия, забор крови и биопсия ткани кишечника.

Выраженность эндотоксикоза оценивали на основании эффективной и общей концентраций альбумина, которые определяли в сыворотке крови флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 “Зонд” (Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., 1994), а также содержания молекул средней массы (спектрофотометрический метод; Пикуза О.И., Шакирова Л.З., 1994). Интенсивность процессов свободнорадикального окисления липидов измеряли по уровню продуктов ПОЛ. Содержание первичных продуктов ПОЛ (диеновых и триеновых конъюгатов) измеряли спектрофотометрическим методом (Ганстон Ф.Д., 1986), а вторичных (малонового диальдегида) — в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой — ТБК (Егоров Д.Ю., Козлов А.В., 1988). Каталитическую активность фосфолипазы A_2 регистрировали титрометрическим методом с помощью нейтрализации карбоксильных групп выделяющихся свободных жирных кислот раствором NaOH (Трофимов В.А., 1999).

Все вмешательства выполнялись под тиопенталовым наркозом. В послеоперационном периоде животным проводили

инфузионную (внутривенное введение 5% раствора глюкозы и 0,9% раствора хлорида натрия, 50 мл/кг) и антибактериальную (внутримышечные инъекции канамицина 15 мг/кг 2 раза в сутки) терапию.

Результаты и обсуждение

Экспериментально подтверждено, что острый разлитой серозно-гнойный перитонит сопровождается выраженным эндотоксикозом, о чем свидетельствовало увеличение в 2 раза концентрации молекул средней массы. Индекс токсичности увеличивался на 188%, а резерв связывания альбумина уменьшался на 39%, что также подтверждает наличие эндогенной интоксикации.

Изучение свободнорадикальных реакций ПОЛ и фосфолипазной активности плазмы крови показало достоверное усиление данных процессов при перитоните (таблица, различия во всех точках по сравнению с исходным уровнем достоверны, $p < 0,05$). Содержание малонового диальдегида в плазме увеличивалось на 230%, а активность фосфолипазы A_2 возрастала на 31%.

Определение интенсивности ПОЛ, активности фосфолипазы A_2 и состояния антиоксидантной системы в ткани кишечника показало следующее. Содержание диеновых конъюгатов в ткани кишечника повышалось в 2–3 раза, концентрация малонового диальдегида — в 1,5–2 раза, а активность фосфолипазы A_2 — в 1,7–3,5 раза ($p < 0,05$ для всех сравнений).

Интенсификация ПОЛ и рост активности фосфолипазы A_2 коррелировали с изменениями функциональных параметров кишечника при перитоните. Проницаемость мембран для воды была повышена на 52–208%, для белка — на 51–351%. Коэффициент диффузии кислорода снижался на 28–78%, а электрогенез тканевых структур кишечника уменьшался на 25–68% ($p < 0,05$ для всех сравнений).

Интенсивность ПОЛ и активность фосфолипазы A_2 в плазме крови при остром перитоните

Показатель	Группа	Исходно	Перитонит (операция)	Послеоперационный период, сутки		
				1-е	3-и	5-е
Диеновые конъюгаты, у.е./мг липидов	К	0,43 ± 0,01	0,81 ± 0,02	0,89 ± 0,03	0,80 ± 0,01	0,82 ± 0,04
	М			0,64 ± 0,03	0,60 ± 0,03*	0,57 ± 0,02*
Триеновые конъюгаты, у.е./мг липидов	К	0,15 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,61 ± 0,03	0,51 ± 0,02	0,50 ± 0,02
	М			0,49 ± 0,01	0,37 ± 0,02*	0,30 ± 0,01*
Малоновый диальдегид, нмоль/г белка	К	2,5 ± 0,1	5,4 ± 0,2	6,8 ± 0,3	5,7 ± 0,1	5,0 ± 0,3
	М			5,2 ± 0,2*	4,9 ± 0,2*	3,3 ± 0,8*
Фосфолипаза A_2 , мкмоль/с/г белка	К	0,05 ± 0,01	0,81 ± 0,03	0,91 ± 0,04	0,65 ± 0,03	0,22 ± 0,01
	М			0,64 ± 0,03*	0,35 ± 0,02*	0,15 ± 0,01*

* Различия по сравнению с контрольной группой достоверны, $p < 0,05$.
Обозначения: К – группа контроля, М – группа мексидола.

Таким образом, развитие метаболических изменений в ткани кишечника при остром перитоните является важным компонентом синдрома энтеральной недостаточности. В настоящее время этому синдрому отводится ведущая роль в накоплении в организме эндотоксина, который служит основным индуктором развития синдрома системного воспалительного ответа, абдоминального сепсиса и полиорганной недостаточности.

В контрольной группе лечебные мероприятия, проводившиеся при перитоните в раннем послеоперационном периоде, не обеспечивали полного купирования интоксикации. Количество ТБК-реагирующих продуктов уменьшалось, однако нормализации их уровня не было отмечено. Даже на последнем этапе наблюдения (5-е сутки) их содержание было достоверно выше исходного уровня на 50–70%. Активность фосфолипазы A_2 также имела тенденцию к снижению на протяжении послеоперационного периода, но не достигала исходных значений.

Включение мексидола в комплекс лечебных мероприятий при перитоните позволило в раннем послеоперационном периоде снизить интенсивность ПОЛ и фосфолипазную активность в плазме крови и ткани кишечника (см. таблицу). Уже после

однократного введения препарата содержащие ТБК-реагирующих продуктов и активность фосфолипазы A_2 оказались в 1,5 раза меньше, чем в контрольной группе (рис. 1).

На фоне применения мексидола изменения функционально-метаболических параметров кишечника были менее выраженными. Включение в терапию этого препарата с мембранопротекторным эффектом привело к снижению проницаемости мем-

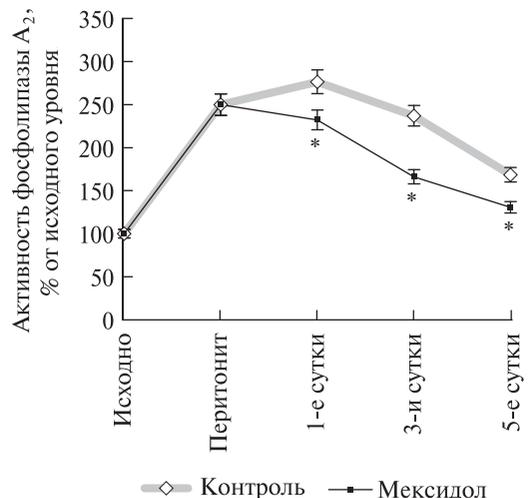


Рис. 1. Динамика активности фосфолипазы A_2 в ткани кишечника при остром перитоните. * – различия по сравнению с контрольной группой достоверны, $p < 0,05$.

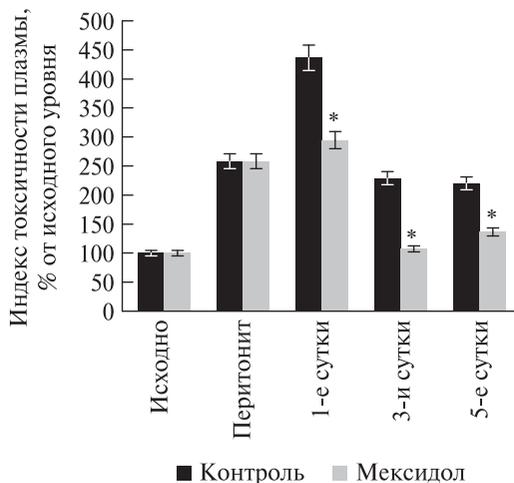


Рис. 2. Динамика индекса токсичности плазмы крови при остром перитоните. * – различия по сравнению с контрольной группой достоверны, $p < 0,05$.

бран для воды на 26–28%, для белка – на 21–23% по сравнению с показателями в контрольной группе. Коэффициент диффузии кислорода был выше, чем в контроле, на 54–57%, а окислительно-восстановительный потенциал – на 23–30% ($p < 0,05$ для всех сравнений). Полученные данные свидетельствуют о коррекции энтеральной недостаточности под действием мексидола, что, несомненно, вносит определенный вклад в снижение выраженности эндогенной интоксикации.

В результате применения мексидола уменьшались явления эндогенной интоксикации. Резерв связывания альбумина повышался уже после однократного введения препарата, чего не отмечалось в контрольной группе. Индекс токсичности был достоверно ниже на всех этапах наблюдения по сравнению с контролем (рис. 2). Концентрация молекул средней массы обеих фракций значительно уменьшалась и к 5-м суткам динамического наблюдения достигала исходного уровня, что свидетельствовало о купировании эндотоксикоза.

Корреляционный анализ показал, что снижение выраженности интоксикационного синдрома на фоне применения мексидола было сопряжено с восстановлением функционального состояния ткани кишечника и снижением интенсивности деструкции мембран.

Таким образом, применение в терапии острого разлитого перитонита препарата с антиоксидантным действием оказалось высокоэффективным. Мексидол способен снижать интенсивность перекисного окисления липидов, усиливать антиоксидантную защиту организма и уменьшать активность фосфолипазы A_2 , что служит благоприятным фоном для быстрого купирования эндогенной интоксикации при перитоните. Другой механизм детоксикационного действия препарата связан с его способностью предупреждать развитие энтеральной недостаточности, что происходит путем коррекции функционального состояния кишечника (также за счет противодействия ПОЛ). Полученные данные еще раз подтверждают значимость антиоксидантного компонента в терапии эндотоксикоза перитонеального генеза.

Рекомендуемая литература

- Альес В.Ф., Салтанов А.И.* Патофизиологическое обоснование применения пентаглобина при синдроме системного воспалительного ответа и сепсисе // Вестн. интенс. тер. 2000. № 1. С. 29–33.
- Бабаева Г.А., Петросян Э.А., Оноприев В.И.* Морфологические и гистохимические изменения тонкого кишечника при использовании натрия гипохлорита в лечении экспериментального желчного перитонита // Вестн. интенс. тер. 2003. № 5. С. 41–42.
- Благовидов Д.Ф., Пасечник И.Н., Крылов В.В.* Механизмы формирования эндогенной интоксикации у больных сепсисом // Вестн. интенс. тер. 2006. Прилож. к № 5. С. 12.
- Гельфанд Б.Р., Проценко Д.Н., Гельфанд Е.Б. и др.* Абдоминальный сепсис: стратегия интен-

сивной терапии // Анестезиол. и реаниматол. 2006. № 6. С. 4–9.

Гридчик И.Е., Закиров Д.Б., Пар В.И. Выбор приоритетов в лечении абдоминального сепсиса // Вестн. интенс. тер. 2003. № 5. С. 69–70.

Келина Н.Ю., Шикунова Л.Г., Васильков В.Г., Безручко Н.В. Взаимосвязь параметров антиоксидантного и оксидантного статуса крови в развитии эндотоксикоза при разлитом гнойном перитоните в токсической стадии // Вестн. интенс. тер. 2003. № 5. С. 90–92.

Мельцер И.М., Потапов А.Ф., Эверстова Л.В., Кершенгольц Б.М. Показатели эндотоксикоза и неспецифической адаптивной реакции при распространенном перитоните в усло-

виях Крайнего Севера // Анестезиол. и реаниматол. 2004. № 2. С. 50–51.

Чернов В.Н., Белик Б.М. Токсико-септический шок как проявление фульминантной недостаточности печени при распространенном гнойном перитоните // Вестн. интенс. тер. 2006. № 5. С. 357–360.

Kattan O.M., Kasravi F.B., Elford E.L. et al. Apolipoprotein e-mediated immune regulation in sepsis // J. Immunol. 2008. V. 181. № 2. P. 1399–1408.

Kim J.Y., Lee S.M. Vitamins C and E protect hepatic cytochrome P450 dysfunction induced by polymicrobial sepsis // Eur. J. Pharmacol. 2006. V. 534. № 1–3. P. 202–209.

Molecular Basis of Membrane-protective Therapy Effectiveness in Endogenous Intoxication

A.P. Vlasov, O.V. Loginova, I.G. Kozlov, V.G. Krilov, T.I. Grigorieva, and E.I. Nachkina

According to current conception, peritonitis is considered endogenous intoxication and multiple organ failure syndrome. The aim of this study was to assess effectiveness of antioxidant mexidol for correction of endogenous intoxication in peritonitis. Mexidol reduced peroxide oxidation of lipids, decreased phospholipase A₂ activity and diminished symptoms of endogenous intoxication.

Key words: peritonitis, endogenous intoxication, peroxide oxidation of lipids, phospholipase A₂, mexidol.

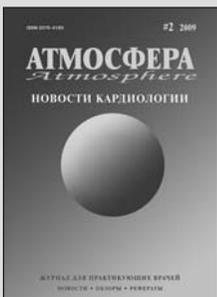


Продолжается подписка на научно-практический журнал “Атмосфера. Нервные болезни”

Подписку можно оформить в любом отделении связи России и СНГ.

Журнал выходит 4 раза в год. Стоимость подписки на полгода по каталогу агентства “Роспечать” – 80 руб., на один номер – 40 руб.

Подписной индекс 81610.



Продолжается подписка на научно-практический журнал “Атмосфера. Новости кардиологии”

Подписку можно оформить в любом отделении связи России и СНГ.

Журнал выходит 4 раза в год. Стоимость подписки на полгода по каталогу агентства “Роспечать” – 80 руб., на один номер – 40 руб.

Подписной индекс 37211.