

Ю.А. Ермола

Изменение показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при развитии экспериментального перитонита

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь

Ключевые слова: перитонит, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, воспаление.

Проведен анализ изменений показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в сыворотке крови при развитии экспериментального перитонита различной степени тяжести. Установлено, что активация свободнорадикального окисления при развитии экспериментального перитонита зависит от тяжести его течения и может быть одним из ведущих механизмов, связанных с формированием системных изменений при развитии патологии.

Зміна показників перекисного окислення ліпідів і антиоксидантної системи при розвитку експериментального перитоніту

Ю.А. Ермола

Здійснено аналіз змін показників перекисного окислення ліпідів і антиоксидантної системи в сироватці крові при розвитку експериментального перитоніту різного ступеня важкості. Встановлено, що активація вільнорадикального окислення при розвитку експериментального перитоніту залежить від важкості його перебігу і може бути одним із провідних механізмів, пов'язаних з формуванням системних змін при розвитку патології.

Ключові слова: перитоніт, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система, запалення.**Патологія.** – 2012. – №2 (25). – С. 92–94

Change of lipid peroxidation and antioxidant system at the development of experimental peritonitis

Yu.A. Ermola

The article is devoted to the analysis of lipid peroxidation and antioxidant system of blood serum during the experimental peritonitis of varying severity. It was revealed that the activation of free radical oxidation during the experimental peritonitis depends on the severity of its course and may appear to be one of the major mechanisms associated with the formation of the system changes during the pathology development.

Key words: peritonitis, lipid peroxidation, antioxidant system, inflammation.**Pathologia.** 2012; №2 (25): 92–94

Одним из ключевых механизмов развития воспалительного процесса, в том числе в брюшной полости, является активация процессов свободнорадикального окисления (СРО) [1,3]. В норме активные формы кислорода (пероксид водорода, гипохлорит, кислородные радикалы – супероксид и гидроксил) играют важную роль в метаболических, биоэнергетических процессах, окислении и детоксикации экзо- и эндогенных соединений, обладают микробиоцидными свойствами, влияют на иммунитет [6]. Однако их чрезмерная активация в условиях патологии способна приводить к повреждению клеточных мембран, нарушению липидного обмена или инактивировать мембраносвязанные белки-ферменты, оказывать токсическое действие на ткани, способствовать окислению сульфгидрильных групп белков и приводить к развитию структурных изменений [4]. Изменения липидного окружения белков, модифицированного продуктами перекисацции липидов, приводят к изменению структуры и нарушению активности мембранозависимых ферментов – Na⁺, K⁺- АТФ-азы, цитохром с-оксидазы, ацетилхолинэстеразы, сукцинатдегидрогена [5,10]. Усиление свободнорадикальных процессов в условиях патологии приводит к нарушению

существующего в физиологических условиях баланса между анти- и прооксидантными системами, т.е. к возникновению окислительного стресса. Последний является патогенетической основой изменения проницаемости клеточных мембран, функционирования мембраносвязанных ферментов и, в конечном итоге, приводит к тяжелым нарушениям клеточного метаболизма и существенным изменениям гомеостаза [6,9].

Цель работы

Установить характер изменений перекисного окисления липидов при моделировании экспериментального перитонита различной степени тяжести.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проведен на 32 половозрелых крысах линии Вистар массой тела 180–200 г. Животные разделены на 4 группы: интактная группа животных (n=12), служившая в качестве контроля, и три опытные группы, в которых осуществляли моделирование экспериментального перитонита различной степени тяжести интраперитонеальным введением фильтрованной крысиной каловой взвеси [10]. Первой опытной группе (n=10) крысам вводили 10% каловую взвесь в дозировке 0,5 мл

на 100 г массы тела животного, второй опытной группе (n=10) – 15% каловую взвесь в дозировке 0,5 мл на 100 г массы тела животного, третьей опытной группе (n=8) – 15% каловую взвесь в дозировке 1 мл на 100 г массы животного. Эксперимент осуществляли с соблюдением принципов Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1985г.). Умерщвление животных осуществляли под эфирным наркозом путем декапитации с последующим забором материала. Кровь для исследований получали из яремной вены [6].

Интенсивность СРО в сыворотке крови определяли по концентрации ТБК-активных продуктов. Уровень ТБК-АП определяли по цветной реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) в присутствии ионов Fe^{3+} [11]. Определение антиокислительного потенциала включало исследование пероксидазоподобной (ПА) и каталазоподобной (КА) активностей, оценку основного сывороточного антиоксиданта церулоплазмينا (ЦП) и внутриклеточного антиокислительного фермента супероксиддисмутазы (СОД). Определение пероксидазоподобной активности основывалось на измерении убыли оптической плотности раствора индиготетрасульфата калия (ИТСК) в процессе его окисления при pH 4,9 в присутствии перекиси водорода и пероксидазы [8]. Каталазоподобную активность определяли на основе регистрации остаточного количества перекиси водорода после ее инкубации с биологическим материалом при pH 7,4 и 25°C, которое определяли путем образования окрашенного комплекса с солями молибдена [7]. Уровень церулоплазмينا определяли модифицированным методом Ревина, основанном на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмينا с остановкой реакции раствором фтористого натрия и измерением оптической плотности при 540 нм [2]. Супероксиддисмутазу определяли в модельной системе образования супероксидных анионов при взаимодействии НАДН₂ и феназинметасульфата (ФМС). Способность СОД конкурировать за супероксидные анионы выявлялась по степени ингибирования восстановления НСТ до гидразинтетразолия [12].

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием методов вариационной статистики с вычислением средних величин (M) и оценкой

вероятности расхождений (m), достоверными считали показатели при $P < 0,05$. Статистические расчеты выполняли с помощью электронных таблиц Excel для Microsoft Office.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследований показано, что развитие экспериментального перитонита приводит к активации перекисного окисления липидов в сыворотке крови, причем степень активации ПОЛ зависит от тяжести развивающегося перитонита (табл. 1). В группах животных, которым вводили фильтрованную каловую взвесь низкой концентрации, наблюдали рост ТБК-АП продуктов в сыворотке крови через 24 ч на 13,8 и 22,2%, по сравнению с контрольной группой животных, а в группе с тяжелым течением перитонита и высокой летальностью уровень вторичных продуктов ПОЛ более выражено увеличился на 25,8% по сравнению с показателями интактных животных.

Изменения состояния антиоксидантов, проявляющих свою активность через инактивацию перекиси водорода, характеризовалось снижением их активности в сыворотке крови. Степень снижения зависела от дозы флогогенного фактора и, соответственно, тяжести перитонита. Так, каталазная и пероксидазная активность в первой и второй группах постепенно снижалась, а в группе с высокой летальностью отмечено в равной степени выраженное максимальное снижение каталазной и пероксидазной активности на 38% по сравнению с контролем.

Уровень основного внутриклеточного антиоксиданта СОД в сыворотке крови при экспериментальном перитоните достоверно снижался в первой и второй группах на 10%. В группе с тяжелым течением перитонита уровень СОД снизился почти в 2 раза и стал на 43% ниже по сравнению с группой интактных животных.

На фоне снижения внутриклеточных антиоксидантов основной сывороточный антиоксидант церулоплазмин менялся разнонаправлено. При легких формах перитонита церулоплазмин реагировал как острофазный белок. В первой группе наблюдали увеличение уровня церулоплазмينا на 23,7%, во второй – на 9,4% по сравнению с контрольной группой, а в группе с тяжелым течением перитонита отмечено снижение уровня церулоплазмينا на 21,2% по сравнению с интактными животными.

Следует отметить, что, несмотря на значительное

Таблица 1

Динамика показателей перекисного окисления липидов при моделировании экспериментального перитонита

Группы	ТБК-АП нМ МДА/мл	КА мМ/гНв·сек	ПА мкМ/гНв·сек	СОД Ед/мл	ЦП мг/л
Контр. группа (n=12)	31,0±0,4	0,59±0,1	5,0±0,3	4,6±0,2	424,5± 10,3
1 группа (n=10)	35,3±0,3*,**	0,46±0,1**	4,0±1,0**	4,2±0,5	525,2 ±16,2*
2 группа (n=10)	37,9±0,3	0,52±0,09	4,1±0,6	4,1±0,2	464,8±11,4
3 группа (n=8)	39,0±0,7*,**	0,37±0,1*	3,5±0,6*,**	2,0±0,2*,**	334,2±11,2*,**

Примечания: звездочками показана достоверность различий ($p < 0,05$): * – достоверность различий по отношению к контролю; ** – достоверность различий между третьей и первой исследуемой группой.

количество работ, посвященных изучению процессов СРО при перитонитах, имеются лишь единичные сообщения о зависимости степени активации СРО от тяжести перитонита. В работе К.Р. Рустемовой [11] выявлена зависимость показателей ПОЛ и антиоксидантной системы от степени эндотоксикоза при перитоните в клинике. Автор отметила, что у больных с эндотоксикозом слабой степени тяжести определена тенденция к увеличению первичных и вторичных продуктов окисления липидов. При средней степени тяжести авторы выявили увеличение показателей уровня первичных, вторичных и конечных продуктов окисления липидов в 3 раза по сравнению с контролем, а также умеренное угнетение ферментативной активности антиоксидантной защиты. При тяжелой степени эндотоксикоза у больных основной группы наблюдали значительное повышение концентрации первичных, вторичных и, в меньшей степени, конечных продуктов перекисного окисления липидов. Наряду с этим показано значительное угнетение ферментативной активности антиоксидантной защиты. В другом исследовании [8] выявлено достоверное увеличение исходных значений ТБК-активных продуктов и снижение общей антиокислительной активности по мере прогрессирования перитонита.

Проведенные исследования показывают, что активация ПОЛ при перитоните зависит от степени его тяжести. Более тяжелое течение экспериментального перитонита проявлялось более выраженной активацией процессов свободно-радикального окисления липидов, о чем свидетельствует увеличение ТБК-активных продуктов. Значительному усилению процессов пероксидации способствовало снижение функции антиоксидантных систем.

Учитывая полученные результаты можно предположить, что активация СРО при перитоните может участвовать в процессах генерализации патологического процесса и развитии системных изменений, в том числе развитии органопатологии. При этом выход процессов СРО за рамки нормального состояния при развитии перитонита как способствует формированию дисбаланса в энергетическом обмене митохондрий, так и влияет на направленность метаболизма клетки в целом. Кроме того, гиперактивация СРО может запускать, поддерживать и усугублять метаболические нарушения при перитоните, образуя порочный круг, состоящий из элементов клеточных и гуморальных реакций, потенцирующих друг друга.

Полученные результаты показали, что активация СРО при развитии перитонита зависит от тяжести его течения и может быть одним из ведущих механизмов, связанных с формированием системных изменений при развитии патологии.

Выводы

Развитие экспериментального перитонита сопровождалось интенсификацией свободно-радикальных процессов и снижением активности антиоксидантов.

По мере усиления тяжести развивающегося экспериментального перитонита растет степень выраженности

дисбаланса окислительного-антиоксидантного гомеостаза, что при тяжелой степени экспериментального перитонита проявляется увеличением уровня ТБК активных продуктов и снижением локальных антиокислительных ферментов.

Список литературы

1. Ачох З.З. Влияние натрия гипохлорита на систему перекисного окисления липидов при лечении распространенного гнойного перитонита / Ачох З.З., Петросян Э.А. // Медицинские науки. – 2004. – №6. – С. 26–27.
2. Васильев В.Б. Спектральное исследование механизма оксидантной активности церулоплазмينا / В.Б. Васильев, С.А. Нейфах, Д.В. Русаков и др. // Биохимия. – 1988. – Т. 53, №4. – С. 620–625.
3. Гринчук Ф.В. Патогенетичні, клінічні і тактичні особливості гострого перитоніту у хворих із супровідною патологією / Ф.Г. Гринчук, І.Ю. Полянський, В.В. Максим'юк // Шпитальна хірургія. – 2008. – №3. – С. 71–74.
4. Гельфанд Е.Б. Абдоминальный сепсис: интегральная оценка тяжести состояния больных и полиорганной дисфункции / Гельфанд Е.Б., Гологорский В.А., Гельфанд Б.Р. // Анестезиология и реаниматология. – 2000. – №3. – С. 29–33.
5. Дзюбановський І.Я. Роль синдрому ентеральної недостатності у розвитку абдоминального сепсису в хворих на гострий поширений перитоніт / І.Я. Дзюбановський, Б.О. Мігенько // Шпитальна хірургія. – 2005. – №4. – С. 71–73.
6. Илюкевич Г.В. Особенности нарушений метаболизма липидов и возможность их коррекции у больных с распространенным перитонитом / Илюкевич Г.В., Канус И.И., Хулуп Г.Я. // Вестник интенсивной терапии. – 2002. – №3. – С. 83–87.
7. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / Королюк М.А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16–19.
8. Кашафеев А.А. Воздействие гипохлората натрия на параметры системы «пол-антиоксиданты» брюшины при экспериментальном перитоните у крыс / С.Г. Гаймоленко, Н.А. Бут, Л.Ю. Дмитриева // Наука о человеке. – 2009. – №2. – С. 166.
9. Левицкий А.П. Определение пероксидазной активности в биологическом материале / Левицкий А.П., Гукевич Е.К., Барабаш Р.Д. // Украинский биохимический журнал. – 1979. – Т. 51, №3. – С. 289–292.
10. Окрут И.Е. Параметры окислительного стресса в оценке степени тяжести больных с перитонитами / И.Е. Окрут, К.Н. Контрощиков, А.П. Баврина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – №10. – С. 51.
11. Осочук С.С. Изменения липидтранспортной системы при экспериментальном перитоните у крыс / С.С. Осочук // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – №8. – С. 169–172.
12. Рустемова К.Р. Клинико-лабораторная оценка эффективности комплексного лечения больных с острым гнойным разлитым перитонитом / К.Р. Рустемова // Хирургия. – 2006. – №2. – С. 36
13. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Стальная И.Д., Горишвили Т.Д. // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
14. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабораторное дело. – 1985. – №11. – С. 678–681.

Сведения об авторе:

Ермола Ю.А., аспирант каф. патологической физиологии КГМУ им. С.И. Георгиевского.

Надійшла в редакцію 05.06.2012 р.