
ВЛИЯНИЕ ЭТОКСИДОЛА НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

А.П. Власов

Кафедра факультетской хирургии
Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева
ул. Большевикская, 68, Саранск, Россия, 430000
e-mail: vap.61@yandex.ru

Г.А. Дроздова, В.Ф. Мустяца

Кафедра патологической физиологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, Россия, 117198
E-mail: g-drozdova@yandex.ru

Т.В. Тарасова

Кафедра педагогической психологии и педагогики
Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева
ул. Большевикская, 68, Саранск, Россия, 430000
E-mail: 9023060@mail.ru

Э.И. Начкина, Н.Ю. Лещанкина

Кафедра госпитальной терапии
Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева
ул. Большевикская, 68, Саранск, Россия, 430000

В хронических опытах на собаках при моделировании перитонита установлено, что применение этоксида в комплексной терапии способствует восстановлению функциональной активности эритроцитов и коррекции липидного дистресс-синдрома. Показано, что липидрегулирующий эффект этоксида реализуется за счет уменьшения интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также фосфолипазной активности и проявляется с первых суток введения препарата.

Ключевые слова: перитонит, эритроциты, липиды, этоксидол, эндотоксикоз.

Актуальность проблемы острого перитонита обусловлена высокой заболеваемостью, продолжительностью лечения и значительным уровнем послеоперационной летальности, которая в основном объясняется эндотоксикозом, выражающимся в метаболических нарушениях организма [5] и являющимся основополагающим фактором развития полиорганной и полисистемной недостаточности [4]. Система крови, контактирующая со всеми тканями и клетками организма, безусловно, характеризуется изменением функционального и морфологического состояния форменных ее элементов, особенно при развитии эндотоксикоза [1].

В последнее время особый интерес представляет изучение морфофункционального состояния эритроцитов при различных патологических состояниях, так как структурно-функциональные особенности мембраны зрелых клеток красной

крови до некоторой степени отражают процессы, происходящие в мембранах клеток других тканей организма [7, 8]. Кроме того, продукты протеолитической деградации мембранных компонентов форменных элементов крови являются одними из значимых токсических субстанций, определяющих развитие синдрома эндогенной интоксикации [1]. Эндотоксикоз сопровождается также стойкими нарушениями обмена липидов, активацией процессов ПОЛ и снижением компонентов антирадикальной защиты [3, 6], что определяет целесообразность использования антиоксидантов для их коррекции.

Целью работы явилось изучение влияния нового производного 3-оксипиридина этоксида (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидрокси-бутан-диоат — $C_{12}H_{17}N_1O_6$) на некоторые показатели функциональной активности и липидного обмена эритроцитов при эндотоксикозе перитониального происхождения.

Методика. В основу работы положены экспериментальные исследования на беспородных половозрелых собаках обоего пола массой от 7,9 до 12,5 кг, эндогенная интоксикация которых воспроизводилась путем моделирования калового перитонита (Власов А.П., 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, забор крови. В контрольной группе ($n = 16$) животным в послеоперационном периоде проводилась терапия (внутримышечные инъекции 2 раза в сутки раствора гентамицина из расчета 0,8 мг/кг, внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного). В опытной группе ($n = 16$) в комплексном лечении применяли этоксидол (ежедневные внутривенные капельные введения в дозе 10 мг/кг).

Исследовали индекс деформабельности эритроцитов и их сорбционную способность. Липиды из эритроцитов экстрагировали хлороформметаноловой смесью, фракционировали методом тонкослойной хроматографии на силикагелевых пластинах. Полярные фосфолипиды разделяли на пластинах фирмы Merck на стеклянной основе, нейтральные липиды — на силикагелевых пластинах для обращенно-фазной тонкослойной хроматографии. Молекулярный анализ липидов проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Software). 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). Активность фосфолипазы A_2 (ФЛА $_2$) оценивали в среде, содержащей 10 ммоль трис-HCL-буфер (pH 8,0), 150 ммоль тритон X-100, 10 ммоль $CaCl_2$ и субстрат (1,2 ммоль). В качестве субстрата использовали фосфатидилхолины 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^{2+} -индуцированном перекисном окислении липидов определяли по накоплению малонового диальдегида (МДА) в реакции с 2-тио-барбитуровой кислотой (Егоров Д.Ю., Козлов А.В., 1987). Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования. В ходе экспериментальных исследований было выявлено, что в условиях эндотоксикоза перитонеального генеза наблюдается значимая активация процессов ПОЛ в биологических мембранах клеток красной крови, не корригируемая традиционной терапией. На всех этапах наблюдения отмечалось повышение содержания ДК на 136,8—241,2% и ТК на 115,4—190,4% ($p < 0,05$), МДА на 86,9—186,5% ($p < 0,05$), Fe-МДА на 40,0—81,2% ($p < 0,05$), активности ФЛА₂ на 238,1—473,8% ($p < 0,05$). В мембранах эритроцитов отмечалось повышение антиокислительной активности каталазы на 23,2—49,3% ($p < 0,05$).

Наращение токсемии и активация процессов ПОЛ сопровождалась изменением функционального состояния эритроцитов. Сорбционная способность эритроцитов была повышенной в течение всего периода послеоперационного наблюдения на 37,9—69,4% ($p < 0,05$). Наблюдалось ухудшение эластичности эритроцитов со снижением индекса их деформабельности. Максимальное снижение показателя отмечалось на начальном этапе эксперимента (1-е сутки), которое составило 64,2% ($p < 0,05$). На втором этапе наблюдения (3-и сутки) наблюдалась динамика к повышению индекса деформабельности, который при этом был ниже исходных величин на 49,4% ($p < 0,05$). На 5-е сутки после санации брюшной полости показатель оставался сниженным по отношению к первоначальным данным на 35,8% ($p < 0,05$) (рис. 1).

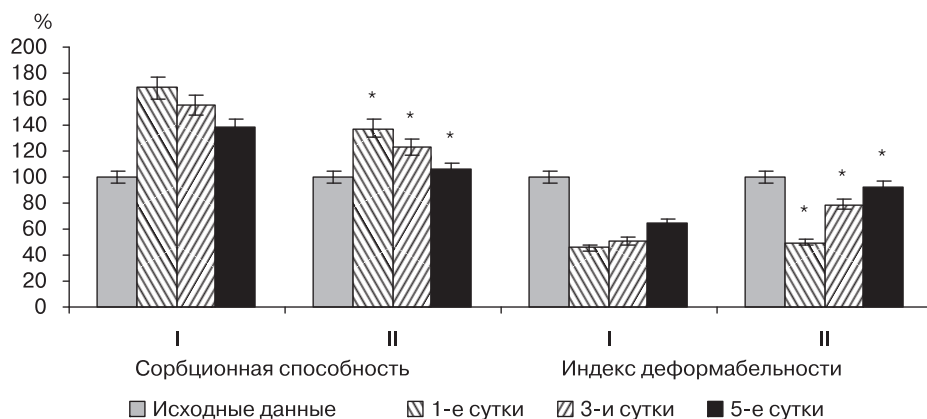


Рис. 1. Динамика показателей функционального состояния эритроцитов при перитоните на фоне терапии этоксиололом

(I — контрольная группа, II—опытная группа). Исходные данные приняты за 100%. * — показатели, достоверно отличающиеся от значений группы контроля при $p < 0,05$.

Нами были изучены возникающие при эндотоксикозе изменения процентного содержания некоторых липидов от общего количества нейтральных липидов

и фосфолипидов мембран эритроцитов, что является одним из информативных критериев определения глубины патологического процесса в организме.

Установлено, что на всех этапах наблюдения отмечалось повышение удельного веса эфиров холестерина на 53,8—73,8% ($p < 0,05$), свободных жирных кислот на 52,3—108,4% ($p < 0,05$), триацилглицеридов на 45,9—80,0% ($p < 0,05$) при снижении холестерина на 20,1—22,3% ($p < 0,05$), фракции суммарных фосфолипидов на 13,5—24,3% ($p < 0,05$). Изменение гомеостаза в эритроцитах сопровождалось перестройками в фосфолипидном спектре их биомембран, что проявлялось снижением фосфатидилэтаноламина на 18,5—23,0% ($p < 0,05$), фосфатидилхолина на 19,2—23,7% ($p < 0,05$); фосфатидилинозита на 22,5—36,7% ($p < 0,05$) на 1-е и 3-и сутки эксперимента, достигая исходного уровня к 5-м суткам наблюдения. Показатели фосфатидилсерина, сфингомиелина и лизофосфатидилхолина достоверно превышали исходный уровень (табл. 1, 2).

Таблица 1

Влияние этоксида на фракционный состав липидов мембран эритроцитов при экспериментальном перитоните ($M \pm m$)

Показатель	Норма	Группа	Этапы наблюдения (от момента моделирования)		
			1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Эфиры холестерина	8,42 ± 0,43	I	14,63 ± 1,12*	13,52 ± 0,80*	12,95 ± 0,72*
		II	12,57 ± 0,85*	9,77 ± 0,45*	9,06 ± 0,76
Холестерол	32,14 ± 1,46	I	24,98 ± 1,30*	25,69 ± 1,47*	25,47 ± 1,36*
		II	27,69 ± 1,48*	28,23 ± 1,37	30,31 ± 1,54
Свободные жирные кислоты	2,98 ± 0,16	I	5,16 ± 0,25*	6,21 ± 0,33*	4,54 ± 0,30*
		II	4,32 ± 0,28*	5,05 ± 0,30*	3,31 ± 0,18
Суммарные фосфолипиды	44,52 ± 1,53	I	34,78 ± 1,56*	33,69 ± 1,52*	38,52 ± 1,64*
		II	38,24 ± 1,54*	39,55 ± 1,38*	45,52 ± 2,11
Триацилглицеролы	10,94 ± 0,50	I	18,56 ± 0,91*	19,69 ± 0,95*	15,96 ± 0,75*
		II	15,11 ± 0,73*	15,58 ± 0,81*	11,72 ± 0,71

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

Результаты исследования подтверждают литературные данные [1, 2], что молекулярные основы патогенеза перитонита включают глубокие изменения в метаболизме липидов, свидетельствующие о развитии мембранодеструктивных явлений в организме опытных животных. Выраженные оксидативные изменения липидов, активизация свободнорадикальных процессов, фосфолипазной активности указывают на важную роль нарушений липидного обмена в прогрессировании заболевания.

При дополнении традиционной терапии этоксидолом наблюдалась следующая динамика выраженности процессов ПОЛ в мембранах эритроцитов: достоверное снижение уровня ДК на 34,5—39,2% ($p < 0,05$), ТК — на 39,1—40,0% ($p < 0,05$), МДА — на 25,8—37,5% ($p < 0,05$), Fe-МДА — на 19,1—21,9% ($p < 0,05$). На всех сроках наблюдения активность ФЛА₂ была достоверно ниже показателей контрольной группы на 36,5—38,7% ($p < 0,05$).

При оценке функционального статуса эритроцитов на фоне включения в терапию перитонита этоксида было зарегистрировано снижение их сорбционной

способности на 18,8—24,0% ($p < 0,05$) и повышение индекса деформабельности на 41,4—56,1% ($p < 0,05$) (см. рис. 1).

Этоксидол эффективно корригировал нарушения липидного спектра мембран эритроцитов. На всех этапах динамического наблюдения отмечалось достоверное снижение эфиров холестерина, свободных жирных кислот и триацилглицеридов при увеличении суммарных фосфолипидов относительно показателей контрольной группы. В фосфолипидном составе мембран эритроцитов достоверно увеличивался уровень фосфатидилхолина при снижении фосфатидилсерина и лизофосфатидилхолина (табл. 1, 2).

Таблица 2

Влияние этоксидола на фосфолипидный состав мембран эритроцитов при экспериментальном перитоните ($M \pm m$)

Показатель	Норма	Группа	Этапы наблюдения (от момента моделирования)		
			1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Фосфатидилэтаноламин	34,26 ± 1,51	I	27,92 ± 1,52*	26,38 ± 1,48*	31,36 ± 1,76
		II	29,57 ± 1,60*	28,17 ± 1,55*	32,71 ± 1,95
Фосфатидилсерин	4,61 ± 0,24	I	8,94 ± 0,47*	8,72 ± 0,44*	7,53 ± 0,39*
		II	6,84 ± 0,43*	6,32 ± 0,40*	4,83 ± 0,32
Фосфатидилхолин	36,09 ± 1,58	I	28,25 ± 1,45*	27,52 ± 1,41*	29,17 ± 1,56*
		II	33,74 ± 1,47	34,64 ± 1,82	35,79 ± 1,96
Лизофосфатидилхолин	1,09 ± 0,06	I	4,21 ± 0,26*	4,98 ± 0,30*	3,46 ± 0,21*
		II	3,17 ± 0,19*	3,25 ± 0,20*	2,15 ± 0,15*
Сфингомиелин	18,74 ± 1,25	I	24,87 ± 1,53*	26,52 ± 1,48*	21,86 ± 1,47
		II	23,11 ± 1,34*	22,79 ± 1,36*	19,82 ± 1,34
Фосфатидилинозит	4,93 ± 0,25	I	3,12 ± 0,18*	3,82 ± 0,19*	4,28 ± 0,32
		II	3,56 ± 0,19*	3,94 ± 0,20*	4,32 ± 0,36

Обсуждение. Анализируя полученные в ходе экспериментального исследования данные, установлено, что при остром перитоните наблюдается интенсификация процессов ПОЛ, активизация фосфолипазных систем в эритроцитах. При этом наиболее выраженные изменения показателей активности липопероксидации зарегистрированы на 1-е сутки после операции. К 5-м суткам эксперимента выраженность патологического процесса снижалась, но уровень продуктов липопероксидации, активность ФЛА₂ достоверно отличались от исходных значений. Происходили глубокие сдвиги в липидном и фосфолипидном составе биологических мембран клеток красной крови. Данные изменения сопровождались расстройством функционального состояния эритроцитов в течение всего периода исследования в виде уменьшения эластичности и повышения неспецифической проницаемости биомембран эритроцитов. Согласно данным литературы, подобные изменения морфофункционального состояния эритроцитов увеличивают вероятность сладж-феномена, приводят к ухудшению реологических параметров крови, нарушению процессов микроциркуляции и снабжению органов и тканей кислородом [1, 2].

Применение антиоксидантов с целью коррекции функционального состояния эритроцитов при остром перитоните является патогенетически обоснованным [1, 2]. Использование этоксидола в коррекции функционального состояния эритроцитов показало его высокую эффективность, что проявилось в уменьше-

нии сорбционной способности и увеличении индекса деформабельности эритроцитов. Существенный положительный эффект этоксида отмечался уже с первых суток его применения.

Препарат оказал корригирующее влияние также на течение процессов ПОЛ в эритроцитах и способствовал нормализации липидного спектра их мембранных структур в качественном и количественном отношении. Важным выявленным эффектом антиоксиданта явилась способность уменьшать уровень лизофосфолипидов и свободных жирных кислот, которые обладают детергентоподобной активностью и возможностью лабилизировать состояние клеточных мембран [1, 2], что имеет особое значение для установления молекулярных основ патогенетических механизмов формирования полиорганной недостаточности при остром перитоните, а также в определении направленности основного вектора лечебного воздействия.

Выводы

1. Применение при эндогенной интоксикации нового производного 3-окси-пиридина этоксида, обладающего антиоксидантным действием, способствует восстановлению функциональной активности эритроцитов.

2. Исследуемый препарат обладает способностью корригировать липидный дистресс-синдром — одно из центральных патогенетических звеньев острого перитонита. Улучшение функционального состояния и липидного состава мембран эритроцитов наблюдается с первых суток применения этоксида.

3. Липидрегулирующий эффект антиоксиданта реализуется не только посредством изменения интенсивности процессов ПОЛ, но и фосфолипидной активности.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Власов А.П., Крылов В.Г., Тарасова Т.В. и др.* Липидмодифицирующий компонент в патогенетической терапии. — М.: Наука, 2008. — 374 с.
- [2] *Власов А.П., Трофимов В.А., Крылов В.Г.* Системный липидный дистрессиндром в хирургии. — М.: Наука, 2009. — 224 с.
- [3] *Келина Н.Ю., Васильков В.Г., Безручко Н.В., Чернова Т.В., Ганяева Н.Б.* Динамика показателей антиоксидантного и оксидантного статуса при перитоните в ранний послеоперационный период // Вестник интенсивной терапии. — 2004. — № 3. — С. 45—50.
- [4] *Осиков М.В., Макаров Е.В., Кривохижина Л.В.* Гемостазиологические эффекты α_1 -кислого гликопротеина при экспериментальном септическом перитоните // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2007. — Т. 144. — № 8. — С. 143—145.
- [5] *Пахомова Г.В., Дорфман А.Г., Кифус Ф.В. и др.* Влияние пектина на показатели эндогенной интоксикации при распространенном гнойном перитоните в ранний послеоперационный период // Вестник интенсивной терапии. — 2004. — № 3. — С. 16—17.
- [6] *Петросян Э.А., Сергиенко В.И., Сухинин А.А., Захарченко И.С., Оганесян С.С.* Состояние про- и антиоксидантной систем крови при экспериментальном желчном перитоните // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2005. — Т. 139. — № 1. — С. 19—21.
- [7] *Прокопьева В.Д., Петрова А.В., Ситожевский А.В. и др.* Исследование роли липидного матрикса и белков мембранного каркаса в регуляции Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов эритроцитов у больных алкоголизмом и сахарным диабетом II типа // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2002. — Т. 134. — № 10. — С. 401—404.

- [8] *Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Кублинская М.М.* Изменения липидной фазы мембраны эритроцитов при параноидной шизофрении // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2002. — Т. 133. — № 1. — С. 98—101.

THE INFLUENCE OF ETOXIDOL UPON THE INDICATIONS OF FUNCTIONAL ACTIVITY AND LIPID ERYTHROCYTES EXCHANGE AT ENDOTOXICOSIS

A.P. Vlasov

Faculty surgery department's chairperson
Mordovian state university named N.P. Ogarev
Bolshevitskaya str., 68, Saransk, Russia, 430000
E-mail: vap.61@yandex.ru.

G.A. Drozdova, V.F. Mustyatsa

The pathological physiology chair
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russia, 117198
E-mail:g-drozdova@yandex.ru

T.V. Tarasova

The chair of pedagogical psychology and pedagogics
Mordovian state university named N.P. Ogarev
Bolshevitskaya str., 68, Saransk, Russia, 430000
E-mail: 9023060@mail.ru

E.I. Nachkina, N.U. Leschankina

The hospital therapy chair, reader
Mordovian state university named N.P. Ogarev
Bolshevitskaya str., 68, Saransk, Russia, 430000

The chronical experiments on stray dogs at the peritonitis modeling showed the etoxidol application at a complex therapy is conducive to the improvement of erythrocytes functional activity and to the correction of lipid distress syndrome. The etoxidol lipid regulating effect is shown to take place at the expense of a decrease in the process of lipid peroxidation, as well as at the phospholipasae activity, the lipid regulating effect being evident since the first days of etoxidol application.

Key words: peritonitis, erythrocytes, lipids, etoxidolum, endogenous intoxication.