

РЕПЕРFUЗИОННОЕ ЭНДОТОКСИНОВОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ОРГАНА ЗРЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Галина Александровна Дроздова, Айгуль Фидратовна Самигуллина^{2*},
Елена Александровна Нургалева², Алексей Александрович Сорокин³

¹Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия;

²Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия;

³Республиканский кардиологический центр, г. Уфа, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-811

Цель. Оценка уровня эндогенной интоксикации в крови и состояния процессов перекисного окисления липидов в тканях глазного яблока у экспериментальных животных после острой остановки кровообращения.

Методы. Проведены хронические (5 нед) патофизиологические эксперименты на 72 нелинейных половозрелых крысах-самцах с моделированием острой остановки кровообращения путём пережатия сосудисто-нервного пучка сердца с последующим проведением комплекса реанимационных мероприятий. Уровень эндогенной интоксикации оценивали по интегральному индексу эндогенной интоксикации с определением олигопептидов и веществ низкой и средней молекулярной массы, свободнорадикальное окисление в тканях глазного яблока — путём определения продуктов, реагирующих с 2'-тиобарбитуровой кислотой, а также методом хемилуминесцентного анализа. Состояние антиоксидантной системы исследовали по характеру каталазной активности и уровню восстановленного глутатиона.

Результаты. Выявлено статистически значимое двухфазное нарастание индекса эндогенной интоксикации на протяжении всего постреанимационного периода. В тканях глазного яблока отмечено повышение Fe²⁺-индуцированной хемилуминесценции с последующим накоплением вторичных метаболитов перекисного окисления липидов, а также усиление активности каталазной системы защиты в ранние сроки (в 1-3-и сутки) и на 2-й неделе. Выявлена положительная корреляция интегрального индекса эндогенной интоксикации с уровнем продуктов, реагирующих с 2'-тиобарбитуровой кислотой в 1-е сутки постреанимационного периода.

Вывод. После острой остановки кровообращения происходит формирование синдрома эндогенной интоксикации с максимальным накоплением токсических молекул в системном кровотоке на 1-3-и и 10-14-е сутки постреанимационного периода и выраженной интенсификацией процессов перекисного окисления липидов в тканях глазного яблока в аналогичные сроки наблюдения.

Ключевые слова: глазное яблоко, реперфузия, перекисное окисление липидов, токсические молекулы, эндогенная интоксикация.

REPERFUSION ENDOTOXIN EYE DAMAGE IN EXPERIMENTAL STUDY

G.A. Drozdova¹, A.F. Samigullina², E.A. Nurgaleeva², A.A. Sorokin³

¹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

²Bashkir State Medical University, Ufa, Russia;

³Republican Heart Center, Ufa, Russia

Aim. To evaluate the level of endogenous intoxication in the blood and the status of the lipid peroxidation processes in eye tissues of experimental animals after acute circulatory arrest.

Methods. Chronic (5 weeks) pathophysiological experiments were performed in 72 nonlinear mature male rats, in which acute circulatory arrest was modeled by neurovascular heart bundle compression, followed by resuscitation. Endogenous intoxication intensity was assessed using endogenous intoxication integral index based on the detection of oligopeptides and low and medium molecular weight substances. Free radical oxidation in eye tissues was assessed by determining the level of 2'-thiobarbituric acid-reactive products, as well as by chemiluminescence. The condition of antioxidant system was investigated by catalase activity features and reduced glutathione level.

Results. There was a significant two-phased increase of endogenous intoxication index during the whole postoperative period. Fe²⁺-induced chemiluminescence with subsequent accumulation of lipid peroxidation secondary metabolites, as well as increased activity of catalase protective system both in early stages (days 1-3) and on the second week were revealed in eye tissues. A positive correlation of endogenous intoxication integral index and the level of 2'-thiobarbituric acid-reactive products on the first day after resuscitation was revealed.

Conclusion. Endogenous intoxication syndrome is formed after the acute circulatory arrest with maximal levels of endogenous toxins in the systemic circulation on 1-3rd and on 10-14th day after resuscitation, as well as with significant intensification of lipid peroxidation processes in eye tissues at the same period.

Keywords: eyeball, reperfusion, lipid peroxidation, toxic molecules, endogenous intoxication.

Синдром эндогенной интоксикации в большей или меньшей степени сопутствует любому соматическому, инфекционному, хирургическому и другим заболеваниям [5, 7].

Известны отдельные биохимические механизмы эндотоксикоза, важными из

которых являются активация тканевого протеолиза с накоплением токсичных молекул низкой и средней молекулярной массы, усиление свободнорадикального окисления липидов биологических мембран, а также действие бактериальных токсинов [2, 4, 8].

Вместе с тем, значительным патогене-

тическим механизмом эндотоксикоза при экстремальных состояниях различного генеза является генерализованное нарушение микроциркуляции, приводящее к значительному дефициту перфузии органов после ишемии [3].

Есть сообщения об иммунопатологическом механизме развития увеитов, связанном с присутствием в кровотоке грамотрицательных микроорганизмов или очагов воспаления, ими обусловленных, поскольку эти бактерии являются донаторами эндотоксинов [9]. Однако можно предположить, что наиболее частой причиной эндотоксиновой агрессии становится стресс, сопровождающийся усилением сброса по шунтам портальной крови (богатой эндотоксинами) в общую гемоциркуляцию [1]. Начальной фазе развития эндогенного увеита всегда предшествует (или сопутствует) реакция напряжения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [10], также наблюдаемая при экстремальных состояниях различного генеза.

Цель исследования — оценить уровень эндогенной интоксикации в крови и состояние процессов перекисного окисления липидов в тканях глазного яблока у экспериментальных животных после острой остановки кровообращения.

Были проведены хронические (5 нед) патофизиологические эксперименты на 72 нелинейных половозрелых крысах-самцах. Острую 7-минутную остановку кровообращения моделировали путём пережатия сосудисто-нервного пучка сердца с последующим проведением комплекса реанимационных мероприятий. Все эксперименты выполняли в соответствии с нормативными документами, регламентирующими гуманное обращение с животными.

Наблюдение за динамикой общего состояния животных проводили в течение 5 нед постреанимационного периода. Забор крови и глазных яблок для исследования осуществляли в 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е, 21-е, 28-е и 35-е сутки постреанимационного периода, забой экспериментальных животных выполнялся под эфирным наркозом методом одномоментной декапитации.

Контрольная группа крыс подвергалась сходному воздействию наркозного препарата без моделирования острой остановки кровообращения.

Уровень эндогенной интоксикации оценивали по расчётному коэффициенту — интегральному индексу эндогенной интокси-

кации (ИИЭИ):

$$\text{ИИЭИ} = (\sum E_{\text{пл}} \times \text{ОП}_{\text{пл}}) + (\sum E_{\text{эр}} \times \text{ОП}_{\text{эр}}) [6],$$

где $E_{\text{пл}}$ и $E_{\text{эр}}$ — сумма спектральных характеристик веществ низкой и средней молекулярной массы водного раствора супернатанта плазмы крови и эритроцитов при длинах волн от 238 до 306 нм; $\text{ОП}_{\text{пл}}$ и $\text{ОП}_{\text{эр}}$ — олигопептиды плазмы крови и эритроцитов.

Оценку процессов свободнорадикального окисления в гомогенатах тканей глазного яблока проводили путём определения продуктов, реагирующих с 2'-тиобарбитуровой кислотой, с помощью набора реактивов «ТБК-АГАТ» (ООО «АГАТ-МЕД», Москва), а также методом хемилюминесцентного анализа с использованием отечественного хемилюминомера ХЛ-003. Исследовали Fe^{2+} -индуцированную хемилюминесценцию, которая позволяет выявлять накопление перекисных радикалов.

Состояние антиоксидантной системы в тканях глазного яблока определяли путём регистрации каталазной активности (Королюк М.А., 1988) и уровня восстановленного глутатиона (Patterson et al., в модификации Ф.Е. Путиловой, 1982). Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы IBM SPSS Statistics v. 21 с использованием непараметрических критериев.

При оценке состояния эндогенной интоксикации в постреанимационном периоде после острой остановки кровообращения было выявлено достоверное повышение содержания токсических веществ и в плазме крови, и на эритроцитах на протяжении всего периода наблюдения. При анализе обращает на себя внимание факт двухфазного повышения эндотоксинемии: первая волна была зарегистрирована на 1-3-и сутки, что, вероятно, связано с выходом токсических субстанций в кровеносное русло из ишемизированных тканей при реоксигенации, а вторая — на 7-10-е сутки постреанимационного периода (рис. 1).

Изучение процессов свободнорадикального окисления в тканях глазного яблока методом хемилюминесценции выявило значимое повышение спонтанной светимости практически во все сроки наблюдения (рис. 2). Регистрируемое нарастание показателей Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции в ранние сроки и на 2-й неделе после оживления с последу-

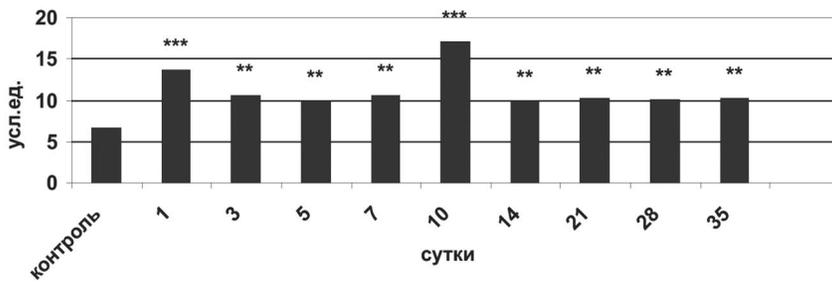


Рис. 1. Динамика интегрального индекса эндогенной интоксикации в постреанимационном периоде; **p <0,01, ***p <0,001 – по сравнению с контролем (критерий Манна-Уитни)

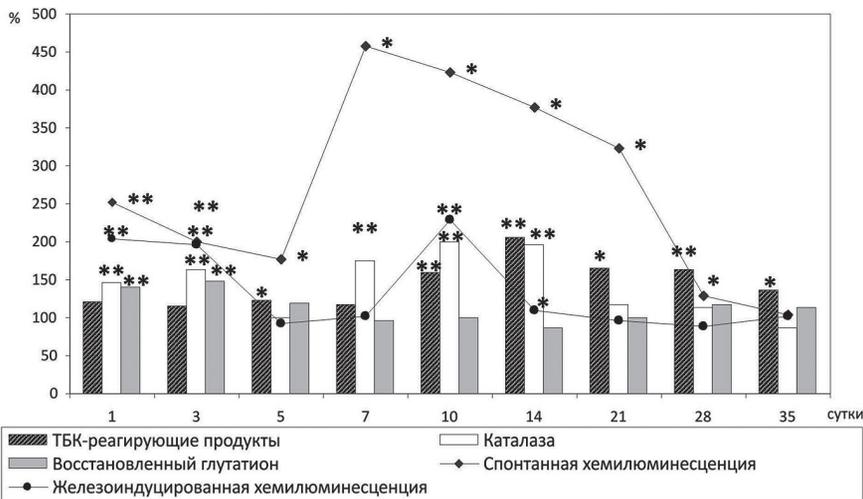


Рис. 2. Динамика показателей прооксидантного и антиоксидантного звеньев в тканях глазного яблока в постреанимационном периоде (% от контроля); *p <0,05, **p <0,01 – по сравнению с контролем (критерий Манна-Уитни); ТБК – 2'-тиобарбитуровая кислота

ющим длительным накоплением вторичных метаболитов перекисного окисления липидов (продуктов, реагирующих с 2'-тиобарбитуровой кислотой) в тканях глазного яблока свидетельствует, вероятно, о постоянной напряжённости процессов образования радикалов в результате сочетанного воздействия светового потока и усиленной оксигенации тканей при реперфузии.

Согласно корреляционному анализу, в 1-е сутки постреанимационного периода была выявлена положительная связь ИИЭИ с уровнем продуктов, реагирующих с 2'-тиобарбитуровой кислотой ($r=0,64$; $p \leq 0,05$).

Со стороны антиоксидантной системы регистрировалась активация ферментативной каталазной системы защиты. Исследуемый уровень каталазы статистически значимо повышался не только на 1-3-и сутки, но и на 2-й неделе постреанимационного периода (см. рис. 2). При оценке уровня восстановленного глутатиона статистически значимое

повышение его содержания было отмечено в первые 3 сут после оживления (см. рис. 2), что, по всей видимости, является компенсаторной реакцией, косвенно свидетельствующей об активизации в постреанимационном периоде также и неферментативного звена антирадикальной защиты.

ВЫВОДЫ

1. В результате острого нарушения системного кровообращения на протяжении длительного постреанимационного периода происходит формирование синдрома эндогенной интоксикации, имеющего двухфазный характер течения. Накопление токсических молекул в системном кровотоке сопровождается выраженной агрессией продуктов радикалообразования, направленной на ткани глазного яблока. При этом на высоте первой волны эндотоксинемии (в 1-3-и сутки) и на 10-е сутки (повторное усиление эндотоксинемии)

было выявлено параллельное усиление процессов свободнорадикального окисления с накоплением продуктов перекисного окисления липидов в исследуемом органе.

2. Активация эндогенной агрессии после острой остановки кровообращения на фоне окислительного стресса в тканях глазного яблока, сопровождающегося нарушением равновесия между прооксидантной и антиоксидантной системами, может обуславливать вовлечение глазного яблока в формирование его в качестве органа мишени для развития офтальмопатологии не только ишемического, но и воспалительно-го характера токсического аутоиммунного генеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аниховская И.А., Опарина О.Н., Яковлева М.М., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза общего адаптационного синдрома // Физиол. человека. — 2006. — Т. 32, №2. — С. 87-91. [Anikhovskaya I.A., Oparina O.N., Yakovleva M.M., Yakovlev M.Yu. Intestinal endotoxin as a universal factor of adaptation and pathogenesis of general adaptation syndrome. *Fiziologiya cheloveka*. 2006; 32 (2): 87-91. (In Russ.)]
2. Григорьев Е.Г., Лишманов Ю.Б., Галеев Ю.М. и др. Патофизиологические механизмы бактериального эндотоксикоза при распространённом перитоните // Патол. физиол. и эксперим. терап. — 2009. — №2. — С. 33-36. [Grigoriev E.G., Lishmanov Yu.B., Galeev Yu.M. et al. Pathophysiological mechanisms of bacterial endotoxemia in disseminated peritonitis. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2009; 2: 33-36. (In Russ.)]
3. Гринев М.В., Гринев К.М. Цитокин-ассоциированные нарушения микроциркуляции (ишемически-реперфузионный синдром) в генезе критических состояний // Хирургия. Ж. им. Н.И. Пирогова — 2010. — №12. — С. 70-76. [Grinev M.V., Grinev K.M. The role of ischemic-reperfusion syndrome in critical state pathology. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2010; 12: 70-76. (In Russ.)]

4. Збаражский Ю.В. Значение перекисного окисления липидов в формировании дисфункций нейтрофилов у новорождённых с бактериальным менингитом // Украин. ж. экстремальной медицины им. Г.О. Можаяева. — 2013. — Т. 14, №1. — С. 106-109. [Zbarazhskii Y.V. Value lipid peroxidation in organization dysfunction of neutrophils in newborns with bacterial meningitis. *Ukrayins'kyi zhurnal ekstremal'noyi medytsyny im. H.O. Mozhaeva*. 2013; 14 (1): 106-109. (In Russ.)]

5. Касымова Е.Б., Башкина О.А., Галимзянов Х.М. и др. Оптимизация фармакотерапии у детей с острой Эпштейна-Барр вирусной инфекцией // Эксперим. и клин. фармакол. — 2014. — Т. 77, №1. — С. 26-29. [Kasymova E.B., Bashkina O.A., Galimzyanov H.M. et al. Reamberin optimizes drug therapy in children with acute Epstein-Barr viral infection. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2014; 77 (1): 26-29. (In Russ.)]

6. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме // Эфферент. терап. — 2000. — Т. 6, №4. — С. 3-14. [Malakhova M.Ya. Endogenous intoxication as the reflection of the compensatory metabolic alterations of human body. *Efferentnaya terapiya*. 2000; 6 (4): 3-14. (In Russ.)]

7. Поддубный И.В., Мешков М.В., Майский И.А. и др. Эндотоксикоз в патогенезе послеоперационных осложнений у детей с болезнью Гиршпрунга // Хирургия. Ж. им. Н.И. Пирогова. — 2013. — №12. — С. 56-60. [Poddubnyi I.V., Meshkov M.V., Maïskii I.A. et al. The endotoxine aggression in the pathogenesis of postoperative complications in children with Hirschsprung disease. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2013; 12: 56-60. (In Russ.)]

8. Юрьева Э.А., Омарова З.М., Османов И.М. и др. Маркёры эндогенной интоксикации у детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта // Рос. вестн. перинатол. и педиатр. — 2013. — Т. 58, №1. — С. 50-57. [Yuryeva E.A., Omarova Z.M., Osmanov I.M. Endogenous intoxication markers in children with gastrointestinal tract diseases. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2013; 58 (1): 50-57. (In Russ.)]

9. Kozhich A.T., Chan C.C., Gery I., Whitcup M. Recurrent intraocular inflammation in endotoxin-induced uveitis // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2000. — Vol. 41, N 7. — P. 1823-1826.

10. Mulholland B., Marks M., Lightman S.L. Anterior uveitis and its relation to stress // Br. J. Ophthalmol. — 2000. — Vol. 84, N 10. — P. 1121-1124.

УДК 612.084: 616.697: 616.682-008.9: 615.225

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МИТОХОНДРИЙ ПРИДАТКА ЯИЧКА КРЫС В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА (II)

Валентина Ивановна Звягина*, Эдуард Сергеевич Бельских, Дмитрий Валерьевич Медведев, Наталья Александровна Головач

Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, г. Рязань, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-814

Цель. Изучить содержание метаболитов оксида азота (II), лактата, эндогенного карнитина и активности митохондриальных оксидоредуктаз ткани придатка яичка (эпидидимиса) в условиях дефицита синтеза оксида азота и, исходя из полученных данных, дать оценку функционального состояния митохондрий эпидидимиса крыс.

Методы. 16 крыс линии Вистар были разделены на две равные группы. Первой группе в течение 7 дней вводили неселективный ингибитор NO-синтазы L-^N-нитроаргина метилэфир (L-NAME) в дозе 25 мг/кг. Второй группе (контрольной) в течение 7 дней внутрибрюшинно вводили 0,9% раствор натрия хлорида. Из ткани