

УДК 616.381-002-06:616-008.9:542.943.8

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРАМЕТРОВ СИСТЕМЫ «ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ – АНТИОКСИДАНТЫ» БРЮШИНЫ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.А. Кашафеева, С.Г. Гаймоленко, Б.С. Хышиктугев

Читинская государственная медицинская академия (672090, г. Чита, ул. Горького, 39а)

Ключевые слова: эксперимент, перитонит, перекисный стресс, гипохлорит натрия.

Исследованы изменения перекисного статуса брюшины и антиокислительной защиты на фоне операционной травмы и воспаления, а также после обработки брюшной полости физиологическим и раствором гипохлорита натрия. Установлено, что исследованные факторы вызывают однонаправленные сдвиги в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита», однако обнаружено, что воздействие гипохлорита натрия при перитоните способствует мобилизации антиоксидантных ресурсов.

Чрезмерная активация перекисного окисления липидов в организме является важным звеном патогенеза целого ряда заболеваний. Известно, что скорость перекисного окисления липидов регулируют антиоксидантные системы. На этих данных основаны экспериментальные и клинические работы, посвященные изучению взаимоотношения процессов липопероксидации и антирадикальной защиты при многих патологических состояниях, в том числе и перитоните [4, 13]. Однако в литературе практически отсутствуют сведения о влиянии различных факторов на состояние системы «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» брюшины в норме и при перитоните. В связи с этим цель нашей работы состояла в анализе закономерностей изменений локального перекисного статуса после воздействия механического, физического и химического факторов на интактную и воспаленную брюшину.

Материал и методы. Исследование проведено на 105 беспородных половозрелых крысах обоего пола с массой около 180 г, которые были разбиты на следующие группы:

1-я группа – 35 животных с перитонитом;
2-я группа – 16 животных с перитонитом, санация брюшной полости 0,09 % раствором электролизного гипохлорита натрия;
3-я группа – 17 животных с перитонитом, санация брюшной полости физиологическим раствором натрия хлорида;
4-я группа – 13 животных без перитонита, воздействие на интактную брюшину 0,09 % раствора электролизного гипохлорита натрия;
контроль – 24 животных, у которых оценивалось комплексное воздействие механического (операционная травма) и физического (излучение операционной лампы) факторов.

Во 2–4-й группах отслеживалось влияние химического фактора на состояние брюшины. Все эксперименты

выполнены в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных», принятыми Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) в 1985 г. Крысы содержались в условиях вивария, имели свободный доступ к пище и воде, на 7-е сутки после забора проб безболезненно усыплялись эфиром.

Под эфирным наркозом выполнялась срединная лапаротомия. В бессосудистой зоне брыжейки тонкого кишечника иссекался фрагмент брюшины площадью 1,5 см², который промывался в охлажденном физиологическом растворе. Каждый образец гомогенизировали в 0,05 % трис-НСI-буфере (рН 7,8), центрифугировали по методу Н.Д. Ещенко [5], а супернатант использовали для изучения параметров перекисного окисления липидов: концентрации начальных интермедиатов липопероксидации – диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов [3], веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) – ТБК-активных продуктов, уровня оснований Шиффа, активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и общей антиокислительной активности [1–3, 7, 9, 11, 14]. В контрольной группе материал для исследования забирали сразу по вскрытии брюшной полости, на 1-е, 3-и и 7-е сутки. Для моделирования перитонита перед ушиванием раны проводилось механическое повреждение серозной оболочки петель тонкого кишечника марлевым шариком с последующим орошением брюшной полости 1 мл 20 % каловой взвеси [10]. На следующие сутки после отбора проб для исследования брюшная полость крыс 2-й группы обрабатывалась 0,09 % раствором электролизного гипохлорита натрия, полученным на аппарате электрохимической детоксикации организма – ЭДО-4, а крыс 3-й группы – 0,9 % раствором хлорида натрия (экспозиция действия растворов – 5 мин). После этого брюшная полость трехкратно промывалась физиологическим раствором. Повторный отбор материала для исследования осуществлялся через 30 мин после воздействия гипохлорита натрия и хлорида натрия, а также на 3-и и 7-е сутки эксперимента. В 4-й группе интактная брюшная полость животных обрабатывалась 0,09 % раствором гипохлорита натрия в течение 5 мин, затем трехкратно промывалась физиологическим раствором, после этого проводился отбор материала для исследования через 30 мин, на 1-е, 3-и и 7-е сутки.

Таблица

Динамика показателей системы «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» брюшины после операционной травмы у животных контрольной группы ($M \pm \sigma$)

Показатель ¹		День операции (n=24)	1-е сутки (n=6)	3-и сутки (n=10)	7-е сутки (n=6)
Гептановая фаза	ДК, ΔE232/мг липидов	0,051±0,002	0,082±0,007 ²	0,087±0,013 ²	0,043±0,004 ^{3, 4}
	КД и СТ, ΔE278/мг липидов	0,037±0,001	0,053±0,001 ²	0,066±0,009 ²	0,042±0,003 ^{3, 4}
Изопропанольная фаза	ДК, ΔE232/мг липидов	0,642±0,021	1,130±0,054 ²	1,000±0,124 ²	0,696±0,022 ^{3, 4}
	КД и СТ, ΔE278/мг липидов	0,489±0,015	0,791±0,106 ²	0,758±0,080 ²	0,456±0,017 ^{3, 4}
ТБК, мкмоль/мг липидов		1,08±0,05	1,44±0,11 ²	1,44±0,10 ²	1,28±0,20
Основания Шиффа, усл.ед./мг липидов		1,33±0,05	1,98±0,16 ²	1,71±0,14 ²	1,45±0,11 ³
СОД, % активности		31,20±1,05	30,9±0,80	32,90±0,23	35,70±2,42
Каталаза, нмоль/с мг белка		7,06±0,79	2,20±0,18 ²	2,37±0,34 ²	11,30±1,97 ^{3, 4}
ГПО, мкмоль/с мг белка		60,00±2,66	19,90±2,65 ²	49,80±2,41 ^{2, 3}	49,7±4,79 ³
ГР, мкмоль/с мг белка		40,00±1,97	22,20±1,98 ²	43,80±3,22 ³	46,40±4,76 ³
АОА, %		12,20±0,28	8,47±0,48 ²	8,05±0,76 ²	10,30±0,73 ^{2, 3, 4}

¹ ДК – диеновые конъюгаты, КД – кетодиены, СТ – сопряженные триены, СОД – супероксиддисмутаза, ГПО – глутатионпероксидаза, ГР – глутатионредуктаза, АОА – антиокислительная активность.

² Разница по сравнению с днем операции статистически значима.

³ Разница с 1-ми сутками статистически значима.

⁴ Разница с 3-ми сутками статистически значима.

Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики в пакете Biostat с использованием z-критерия.

Результаты исследования. У животных с каловым перитонитом в первые трое суток отмечалось снижение двигательной активности, пищевого инстинкта на фоне повышенной потребности в воде. Летальность к 7-му дню составила в 1-й группе – 70 %, во 2-й – 56 %, в 3-й – 47 % и в 4-й – 23 % случаев (в контрольной группе – 4 %).

Макроскопически у всех животных с экспериментальным перитонитом на 1-е и 3-и сутки выявлялись гиперемия париетальной брюшины, брыжейки, небольшое количество мутного выпота с неприятным запахом, наложения фибрина на петлях тонкого кишечника, брыжейке и паренхиматозных органах. У 75 % животных 1–3-й групп отмечены признаки пареза кишечника: увеличение диаметра кишки в 1,5 раза и более, наличие жидкости и газа в ее просвете. К 7-м суткам увеличение размеров печени определялось в 1-й и 2-й группах у 50 %, в 3-й группе – у 53 % и в 4-й группе – у 15 % животных.

У крыс контрольной группы (табл.) в гептановой фазе отмечалось повышение содержания диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов на 1-е и 3-и сутки в среднем в 1,6 раза относительно дня операции. К 7-му дню эти показатели снижались в среднем в 1,6 раза по сравнению с 1-ми сутками и в 1,8 раза – по сравнению с 3-ми сутками эксперимента. В изопропанольной фазе наблюдались идентичные изменения. На этом фоне уровень веществ, реагирующих с ТБК, на 1-е и 3-и сутки повышался на 33 % по сравнению с днем операции, а оснований Шиффа – на

49 и 29 % соответственно, по отношению к дню операции (табл.).

В 1-й группе в изопропанольной фазе на протяжении всего эксперимента выявлено снижение уровня начальных интермедиатов перекисного окисления липидов в среднем в 1,4 раза. При этом содержание веществ, реагирующих с ТБК, уменьшалось к 3-му и 7-му дням на 27 и 39 % соответственно. Концентрация оснований Шиффа также снижалась к 7-м суткам на 16 %. Во 2-й группе здесь наблюдалось снижение концентрации начальных интермедиатов перекисного окисления липидов на 1-е и 3-и сутки в среднем в 1,3 раза и увеличение концентрации кетодиенов и сопряженных триенов к 7-му дню в 1,3 раза по сравнению с 1-й группой. В то время как уровень веществ, реагирующих с ТБК, на 1-е сутки после обработки брюшины раствором гипохлорита натрия уменьшался на 26 %, а на 3-и и 7-е сутки увеличивался на 41 и 48 % относительно 1-й группы животных. Содержание оснований Шиффа на 1-й день снижалось на 22 % по сравнению с 1 группой (рис. 1).

В 3-й группе животных в изопропанольной фазе выявлен рост содержания кетодиенов и сопряженных триенов на 1-е сутки в 1,3 раза относительно соответствующих суток во 2-й группе крыс. При этом концентрация веществ, реагирующих с ТБК, на 1-е сутки возросла на 65 %, а оснований Шиффа – на 31 % относительно 2-й группы. На 3-и сутки отмечалось уменьшение уровня оснований Шиффа в 1,2 раза по сравнению со 2-й группой. В 4 группе на 1-е сутки эксперимента содержание оснований Шиффа повышалось на 29 % по отношению ко 2-й группе животных (рис. 1).

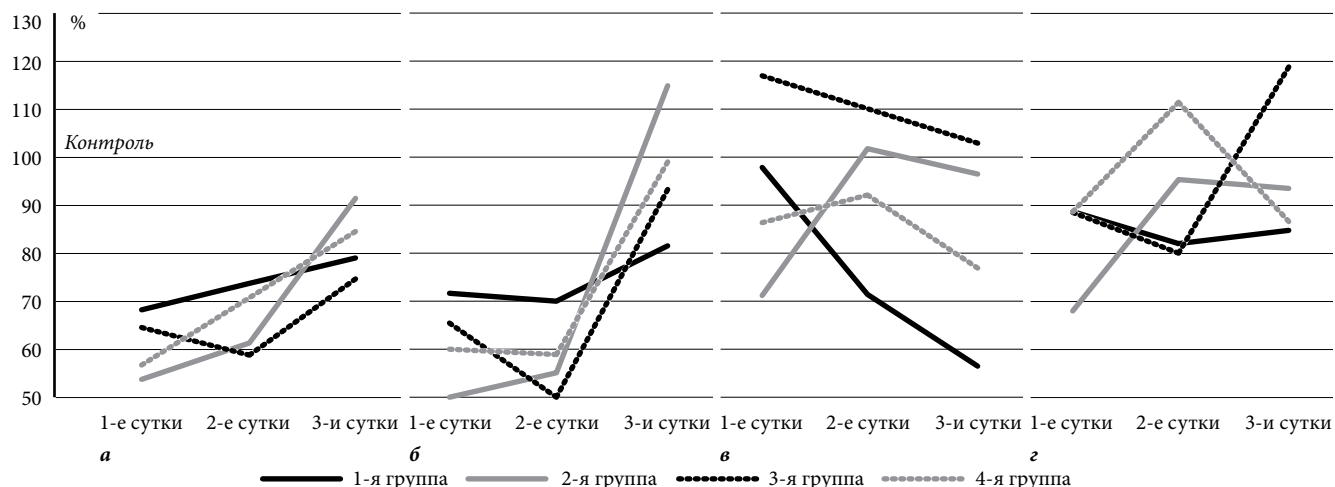


Рис. 1. Динамика уровней продуктов перекисного окисления липидов в брюшине экспериментальных животных: а – диеновые конъюгаты, б – кетодиены и сопряженные триены, в – ТБК-активные продукты, г – основания Шиффа.

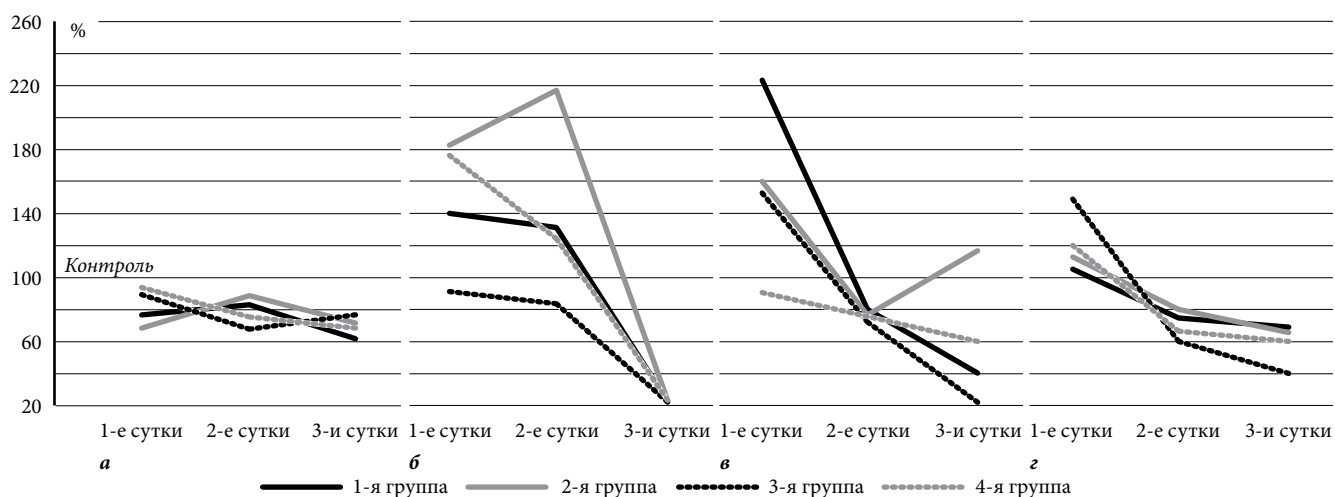


Рис. 2. Динамика активности антиоксидантных ферментов брюшины экспериментальных животных: а – супероксиддисмутаза, б – каталаза, в – глутатионпероксидаза, г – глутатионредуктаза.

При исследовании параметров антирадикальной защиты брюшины в контрольной группе на 1-е и 3-и сутки зарегистрировано снижение активности каталазы (на 69 и 66 % соответственно) и глутатионпероксидазы (на 67 и 17 % соответственно) относительно дня операции. При этом активность глутатионредуктазы на 1-й день снижалась на 45 % по сравнению с днем операции и повышалась на 3-и и 7-е сутки в среднем на 13 % по отношению к 1-м суткам в контроле. Общая антиокислительная активность снижалась на 1, 3 и 7-е сутки в среднем в 1,4 раза по отношению к дню операции и повышалась в среднем в 1,3 раза на 7-й день по сравнению с 1-ми и 3-ми сутками в контроле (табл.).

В 1-й группе отмечалось уменьшение скорости супероксиддисмутазной реакции на 1, 3 и 7-е сутки в среднем в 1,4 раза относительно тех же сроков группы контроля. Активность каталазы на 1-е сутки повышалась в 1,3 раза и к 7 дню снижалась в 3,9 раза по отношению к соответствующим суткам в контроле. При этом показатель глутатионпероксидазы на 1-е сутки возрастал в 2,2 раза, а к 7-м суткам эксперимента

уменьшался в 2,1 раза относительно контроля. На 3-и и 7-е дни эксперимента наблюдалось снижение активности глутатионредуктазы в среднем в 1,3 раза по отношению к аналогичным показателям контрольной группы (рис. 2).

Во 2-й группе на 1-е сутки исследования зарегистрировано уменьшение скорости супероксиддисмутазной и глутатионпероксидазной реакций в среднем в 1,3 раза, с ростом последнего показателя в 2,3 раза к 7-му дню по сравнению с соответствующими показателями в 1-й группе животных. На 3-и сутки выявлено повышение активности каталазы в 1,7 раза по отношению к аналогичному сроку 1-й группы. В 3-й группе животных на 1-е сутки обнаружен рост активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в среднем в 1,3 раза и снижение каталазной активности вдвое в сравнении с 1-ми сутками во 2-й группе. На 3-и сутки отмечалось уменьшение скорости супероксиддисмутазной и глутатионредуктазной реакций в среднем на 23 %, активности каталазы – в 2,5 раза и повышение глутатионпероксидазной

активности в 1,3 раза (относительно 3 суток 2-й группы). На 7-й день показатели активности глутатионпероксидазы уменьшались на 81 %, а глутатионредуктазы – на 37 % (по сравнению с 7-ми сутками 2-й группы). При этом общая антиокислительная активность снижалась на 1-е и 7-е сутки в среднем в 1,4 раза по отношению к аналогичным срокам во 2-й группе (рис. 2).

В 4-й группе животных на 1-е сутки зарегистрированы рост активности супероксиддисмутазы в 1,2 раза и уменьшение глутатионпероксидазной активности в 1,8 раза по сравнению с 1-ми сутками 2-й группы. На 3-й день наблюдалось уменьшение показателей активности каталазы и глутатионредуктазы в 1,2 и 1,8 раза соответственно (относительно 3 суток во 2-й группе). На фоне этого к 7-му дню зарегистрировано снижение активности глутатионпероксидазы в 1,8 раза по сравнению с аналогичным сроком во 2-й группе (рис. 2).

Обсуждение полученных данных. Известно, что инициация патологического каскада перекисных реакций в живом организме определяется целым рядом факторов эндогенного и экзогенного происхождения, из которых в патогенезе заболеваний определяющее значение отводится тканевой гипоксии [6]. Не только заболевание, но и сама операционная травма, обладая поливалентным влиянием на организм (эндогенный стресс, воздействие лекарственных препаратов, травматизация тканей и т.д.), вызывает смещение равновесия в системе «перекисное окисление липидов – антиокислительная защита» в сторону свободно-радикальных реакций, что выражается накоплением в крови метаболитов липопероксидации [6]. Угнетение антирадикальной защиты, циркуляция чрезмерного количества свободных радикалов в кровеносном русле могут вызывать значительные повреждения биологических мембран, что является одним из патогенетических механизмов эндогенной интоксикации и вторичного повреждения органов и тканей [6, 8]. При этом ясно, что иницирует общие изменения в организме зона первичного повреждения, которой при перитоните является брюшная полость, а точнее ее серозный покров.

Изменения метаболизма брюшины после хирургического вмешательства при остром воспалении, а также после воздействия на интактную и воспаленную брюшину гипохлорита натрия свидетельствуют о том, что все эти факторы вызвали однонаправленные сдвиги в локальной системе «перекисное окисление липидов – антиоксиданты», характеризующиеся усилением процессов липопероксидации. Данный факт является, прежде всего, подтверждением универсальности (неспецифичности) изучаемых реакций [6, 8]. В то же время выявлены определенные особенности изменений биохимических параметров, их длительности, в зависимости от характера воздействия. Так, механический и физический факторы (операционная травма) вызывают менее продолжительные

изменения и к 7-му дню все показатели достигают исходных значений, в то время как экспериментальное воспаление и химическое воздействие (гипохлорит натрия) на интактную брюшину существенно пролонгируют проявления локального перекисного стресса. Обработка брюшной полости при перитоните физиологическим раствором способствует накоплению оснований Шиффа и прогрессирующему угнетению активности ферментов антирадикальной защиты к 7-м суткам, в то время как использование 0,09 % раствора гипохлорита натрия приводит к относительной мобилизации антиоксидантных ресурсов брюшины. Вероятнее всего, это связано с тем, что гипохлорит натрия, являясь донором активного кислорода, обеспечивает не только окисление токсических соединений, но и воздействует на клеточные мембраны мезотелия брюшины, иницируя в последнем репаративные процессы [12, 15].

Таким образом, представленные результаты раскрывают общие и специфические закономерности изменений перекисного баланса интактной и воспаленной брюшины при воздействии различных факторов и свидетельствуют о позитивном влиянии раствора гипохлорита натрия на состояние свободнорадикальных процессов при перитоните (активация начальных и ингибирование конечных этапов перекисного окисления липидов на фоне усиления антиоксидантной защиты).

Литература

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // *Лабораторное дело*. 1988. № 11. С. 41–43.
2. Верболович В.П., Подгорная Л.М. Определение активности глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы на биохимическом анализаторе // *Лабораторное дело*. 1987. № 2. С. 17–20.
3. Волчегорский И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // *Вопросы медицинской химии*. 1989. № 1. С. 127–131.
4. Денисов Л.Н., Лобарева Л.С. Роль витаминов-антиоксидантов и селена в процессах свободнорадикального окисления и их значение в ревматологии // *Международный медицинский журнал*. 1998. № 5. С. 449–443.
5. Ещенко Е.Д. Выделение и очистка субклеточных и клеточных структур // *Методы биохимических исследований*. / под ред. М.И. Прохоровой. Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. С. 29–53.
6. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: МАИК, 2001. 343 с.
7. Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблемы анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов // *Биофизика: итоги науки и техники*. М., 1986. Т. 18. 195 с.
8. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии // *Вопросы медицинской химии*. 1985. № 5. С. 2–10.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения каталазы // *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
10. Магомедов М.А. Местная клеточная регуляция в образова-

- нии послеоперационных спаек при перитоните // Хирургия. 2004. № 6. С. 9–11.
11. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лабораторное дело. 1986. № 12. С. 724–727.
 12. Петросян Э.А., Сергиенко В.И., Кулаев Г.К. и др. Гипохлорит натрия в лечении гнойных ран // Вестник хирургии им. Грекова. 1991. № 1. С. 40–43.
 13. Петросян Э.А., Сергиенко В.И., Сухинин А.А. и др. Состояние про- и антиоксидантной систем крови при экспериментальном желчном перитоните // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2005. Т. 139, № 1. С. 19–21
 14. Промыслов М.Ш., Демчук М.Л. Модификация метода определения суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови // Вопросы медицинской химии. 1990. № 4. С. 90–92.
 15. Эвентов В.Л., Адрианова М.Ю., Богорад И.В. Использование электролизного гипохлорита натрия в клинической практике для детоксикации и дезинфекции // Вестник интенсивной терапии. 1998. № 2. С. 43–46.

Поступила в редакцию 14.12.2010.

COMMON FACTORS FOR CHANGING PARAMETERS OF 'LIPID PEROXIDATION-ANTI-OXIDANTS' SYSTEM IN THE PERITONEUM CAUSED BY VARIOUS FACTORS IN VITRO

A.A. Kashafeeva, S.G. Guymolenko, B.S. Khyshiktuev
Chita State Medical Academy (39a Gorkiy St. Chita 672090 Russia)
Summary – The paper analyzes changes in the peritoneal peroxidation and anti-oxidative protection in case of surgery-related injury and inflammation, and when treated with natural saline solution and sodium hypochlorite solution. As shown, the factors under study appear to cause the unidirectional shifts in the 'lipid peroxidation-anti-oxidants' system. This notwithstanding, in case of peritonitis, the sodium hypochlorite solution allows to activate anti-oxidative resources.

Key words: experiment, peritonitis, peroxidant stress, sodium hypochlorite solution.

Pacific Medical Journal, 2012, No. 4, p. 45–49.

УДК 616-006-089.5-032:611.14:611.2: 615.211

КОМБИНИРОВАННАЯ АНЕСТЕЗИЯ (СЕВОФЛУРАН+ПРОПОФОЛ) В ОНКОХИРУРГИИ

С.З. Танатаров¹, М.И. Неймарк²

¹ Государственный медицинский университет г. Семей (007140, Республика Казахстан, г. Семей, ул. Абая Кунанбаева, 103), ² Алтайский государственный медицинский университет (656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, 40)

Ключевые слова: онкохирургия, наркоз, севофлуран, пропофол.

Цель исследования – клиническая апробация подхода к осуществлению комбинированной общей анестезии у пациентов с онкологическими заболеваниями при расширенных хирургических вмешательствах. В группу обследованных были включены 85 человек 40–70 лет. Использовали комбинацию ингаляционного (севофлан, 0,7–1 %) и внутривенного (рекофол, 15–25 мл/час) анестетиков. Фентанил вводился в субнаркозической дозировке (0,2–0,3 мг). Описанный способ обеспечивал адекватный уровень анестезии при минимальном риске побочных эффектов и постнаркозных осложнений.

Императивом анестезиологического пособия в онкохирургической практике является безопасность, поскольку специфика общего состояния организма при злокачественном новообразовании требует максимально щадящего режима применения анестетиков и анальгетиков и использования всех подходов к сохранению жизненно важных функций. Однако большая продолжительность и травматичность вмешательств не позволяют здесь в полной мере реализовать концепцию безопасной анестезии [2, 4]. Кроме того, применение традиционных средств для ингаляционного наркоза и наркозных аппаратов определяет возможность воздействия галогенсодержащих анестетиков не только на больного, но и на операционную бригаду [5].

Потенциальным выходом, обеспечивающим снижение концентрации анестетика в газовой среде и его потребление, устраняющим возможность воздействия на медицинский персонал, является использование

режима закрытого контура [1]. К сожалению, до настоящего времени окончательно не решен вопрос безопасности данного подхода ввиду взаимодействия поглотителя и галогенсодержащих анестетиков с выделением нефротоксической субстанции и других потенциально опасных веществ [3]. Снижение требуемой для достижения адекватного наркоза концентрации ингаляционного анестетика в дыхательной смеси позволяет резко уменьшить риск осложнений и, соответственно, расширить показания к использованию данного подхода в анестезии у онкологических больных. Достижение этого результата возможно путем применения комбинированного ингаляционно-внутривенного наркоза.

Цель исследования – определение эффективности и безопасности комбинированного наркоза (севофлуран+пропофол) в закрытом контуре в онкохирургической практике.

Материал и методы. Исследование проведено на базе Регионального онкологического диспансера г. Семей (Казахстан). Обследованы 85 больных со злокачественными новообразованиями органов желудочно-кишечного тракта в возрасте 40–70 лет, в том числе 58 мужчин и 27 женщин. Осуществлялись радикальные операции по поводу рака желудка (62 пациента), рака поджелудочной железы (9 больных) и опухолей толстой кишки (14 пациентов). Общий объем вмешательств предусматривал радикальное удаление опухоли с лимфодиссекциями, соответствующими распространенности регионарных метастазов.

Критериями исключения из исследования служили: тяжелые сопутствующие соматические заболевания в

Танатаров Саят Замамбекович – канд. мед. наук, ассистент кафедры онкологии Государственного медицинского университета г. Семей; e-mail: sayat68@mail.ru