

## Роль порушень детоксикаційної мікросомальної системи у патогенезі абдомінального сепсису

M. S. ANTONOVA

Kharkiv National Medical University of MPH of Ukraine

### ROLE OF VIOLATIONS MICROSOMAL DETOXIFICATION SYSTEM IN THE PATHOGENESIS OF ABDOMINAL SEPSIS

В експерименті на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–250 г, у яких моделювали 30-хвилинну ішемію/реперфузію дистального відділу тонкої кишки, досліджували стан монооксигеназного та редуцтазного ланцюгів мікросом ЕПР гепатоцитів. Зниження всіх показників мікросомального окиснення, що досліджувались, в ранні терміни (72 год) на тлі зростання інтенсивності перекисного окиснення ліпідів свідчить про порушення функції детоксикації печінки. Внутрішньочеревне введення глюкопротеїду  $\alpha$ -глобулінової фракції сироватки крові людини і карнітину до моделювання ішемії/реперфузії тонкої кишки захищає цитохроми P-450 і b5 від окиснювального пошкодження, підтримує активне функціонування ланцюга електронного транспорту, сприяючи поліпшенню енергозабезпечення клітин за рахунок зниження швидкості перекисного окиснення ліпідів та зміни швидкості ендогенного дихання.

In experiment on white rats-males of Vistar line in weight of 200–250 g there was simulated a 30-minute ischemia/reperfusion of distal part of small intestine, investigated a condition of monooxygenase and reductase chains of microsome of hepatocytes endoplasmic reticulum. Decrease of all studied parameters microsomal oxidations in early terms investigation (72 hour), against the intensity growth of lipid peroxidation testifies about malfunction of detoxication liver functions. Preliminary abdominal introduction of glucoproteides  $\alpha$ -globulin fraction of human serum and carnitine to modeling ischemia/reperfusion of the small intestine protect cytochromes P-450 and b5 from oxidative damage, support the active functioning of the electron transport chain, contributing to improved energy cells by reducing the rate of lipid peroxidation and changes in endogenous respiration rate.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Ключовим фактором у патогенезі абдомінального сепсису (АС) є розвиток ендотоксемії. Патолофізіологічні зміни при АС включають локальне звільнення ензимів, вазоактивних медіаторів, вазодилатацію та вазоконстрикцію, збільшення судинної проникності, ішемію, ішемію/реперфузію (і/р), адгезію лейкоцитів, внутрішньосудинне згортання крові, капілярний стаз та ін., що призводить до набряку, гемоконцентрації, порушення капілярного й венозного відтоку. Гіпоксія кишкової стінки та розвиток у подальшому кишкової недостатності є вирішальними для танатогенезу АС.

Зв'язана з реперфузією тонкої кишки запальна відповідь, що включає активацію та дисфункцію лейкоцитів із вивільненням і діяльністю прозапальних цитокінів та кисневих радикалів, викликає порушення мікросомального окиснення печінки. А якщо врахувати, що цей вид реакцій монооксигеназного шляху окиснення є захисною

реакцією організму для окиснення різноманітних сторонніх сполук, які перетворюються в нешкідливі чи стають більш розчинні у воді та легко виводяться з організму, пошук методів корекції порушень монооксигеназного та редуцтазного ланцюгів мікросом ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР) гепатоцитів при захворюваннях, що супроводжуються явищами ендотоксикозу, є актуальною проблемою.

У літературі ми не знайшли даних про стан детоксикаційної монооксигеназної системи під час етапного лікування хворих на АС, наскільки значимий вплив самої операційної травми на прогресування системного запалення й органних порушень у пацієнтів на АС, механізми розвитку цих порушень залежно від кількості операційних втручань.

Дослідження в цьому напрямку дозволять об'єктивно оцінити доцільність та ефективність методів детоксикації з індукторами системи монооксигенази у хворих на тяжкий АС та ІТШ у післяопераційному періоді.

**Мета роботи:** вивчити порушення детоксикаційної мікросомальної системи в умовах синдрому ішемії/реперфузії у щурів та можливі шляхи їх корекції.

**Матеріали і методи.** Експериментальну частину дослідження виконували на 120 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–250 г, і складалася вона із двох розділів. Щурів оперували в асептичних умовах, наркоз: тіопентал натрію (15 мг/100 г маси тіла внутрішньом'язово). Моделювання синдрому і/р здійснювалося шляхом накладення турнікету з катетером Фогарті для дозованого перетиску судин брижі, що постачають кров до дистальної половини тонкої кишки, протягом 30 хв без їх ушкодження.

Перший розділ включав вивчення стану мікросомальної електронтранспортної системи гепатоцитів: NADP.H – пов'язану з цитохромом P<sub>450</sub> в ролі термінального ланцюга та NAD.H – пов'язану з цитохромом b<sub>5</sub> в ролі акцептора електронів, швидкість ендогенного дихання, швидкість окиснення NADP.H в присутності ЕДТА, швидкість перекисного окиснення ліпідів, рівень цитохромів P<sub>450</sub> і b<sub>5</sub> при синдромі і/р тонкої кишки. Дослідження проведені в 40 тварин: перша – контрольна група (n=20), яким проводили стимулювальну операцію (лапаротомію та релапаротомію (РЛ)); друга – основна група (n=20), у яких моделювали синдром і/р тонкої кишки.

Другий розділ експериментальних досліджень полягав у вивченні стану мікросомальної електронтранспортної системи гепатоцитів при синдромі і/р тонкої кишки до і після попереднього введення глюкопротеїду α-глобулінової фракції сироватки крові людини (ГПАГФСКЛ) та карнітину при синдромі і/р тонкої кишки. Експеримент проведений на 80 щурах, які були розподілені на 5 груп по 16 тварин. Перша – контрольна група 1, яким проводили стимулювальну операцію (лапаротомію та РЛ); друга – контрольна група 2, у яких моделювали 30-хвилинний синдром і/р тонкої кишки; третя – група тварин з попереднім (за 30 хв) введенням ГПАГФСКЛ; четверта – група тварин з попереднім введенням карнітину; п'ята – група тварин з попереднім введенням ГПАГФСКЛ та карнітину. ГПАГФСКЛ вводили в дозі 0,5 г/100 г маси тіла, карнітин у дозі 50 мг/100 г маси тіла внутрішньочеревно за 30 хв до моделювання 30-хвилинної ішемії.

В експерименті виділяли мікросомальну фракцію печінки методом диференціального центрифугування й вивчали загальний пул цитохромів P<sub>450</sub> і b<sub>5</sub>, швидкість ендогенного дихання та перекисного окиснення ліпідів.

Оцінювали вихідні дані, а також дані, отримані через 6, 24, 72 год і 5 діб після РЛ, у другому розділі експерименту вивчали терапевтичний ефект препаратів у динаміці після реперфузії тонкої кишки.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати експериментального дослідження показали зниження О-демітилазної активності мікросом печінки щурів у середньому на 14,6, 15,4, 15,3, 8,6 % у перші 72 год експерименту (p<0,05) та підвищення на 5-ту добу в середньому на 8,6 % (p<0,05) порівняно з контролем; зниження активності NADP.H (у середньому на 12,4, 16,8, 14,4 та 4,3%, p<0,05) та NAD.H – цитохром С-редуктази (у середньому на 5,4, 6,4, 6,3 і 4 %, p<0,05) у перші 72 год та підвищення рівня досліджуваних показників на 5-ту добу експерименту в середньому на 5,2 % та 1,4 % (p<0,05). У перші 72 год знижувалася активність ендогенного дихання (відповідно, на 7,6, 9,4, 13,5 і 4,2 %) і зростала на 5-ту добу експерименту в середньому на 11 % порівняно з контролем (p<0,05); швидкість окиснення NADP.H та швидкість окиснення NADP.H у присутності ЕДТА також знижувалися в перші 72 год (відповідно, на 8,5, 5,8, 9,1, 4,7 % (p<0,05) та на 13,3, 15,5, 10,1, 4 % (p<0,05)), підвищуючись, відповідно, на 2,8 % і 3,5 % на 5-ту добу експерименту порівняно з контрольною групою тварин (p<0,05). Ці порушення супроводжувалися на тлі зростання інтенсивності перекисного окиснення ліпідів у середньому на 213, 211,5, 191,8, 266 і 322,9 % порівняно з рівнем досліджуваних показників у контрольній групі тварин (p<0,05), зниження цитохромів P<sub>450</sub> і b<sub>5</sub> у перші 72 год з їх підвищенням на 5-ту добу. Отримані результати свідчать про зниження всіх досліджуваних параметрів мікросомально-го окиснення при постішемічній реперфузії тонкої кишки в щурів, що проходять на тлі зриву компенсаторних можливостей печінки через 12–24 год, що проявляється дистрофічними змінами гепатоцитів з елементами деструкції внутрішньоклітинних мембранних структур, зокрема ЕПР з активацією репаративних і синтетичних внутрішньоклітинних процесів через 48 год експерименту.

Визначено, що поєднане використання ГПАГФСКЛ і карнітину позитивно впливало на рівень цитохромів P<sub>450</sub> і b<sub>5</sub> (r=0,966, p=0,034; r=0,975, p=0,025), тобто захищало від окиснювального ушкодження, та на швидкість перекисного окиснення ліпідів (r=-0,99, p=0,008), швидкість ендогенного дихання (r=0,96, p=0,0390) порівняно з групою контролю, підтримує активне функціонування ланцюга електронного транспорту, сприяючи поліпшенню енергозабезпечення.

ня клітин. Ізольоване використання ГПАГФСКЛ ( $r=0,96$ ,  $p=0,037$ ) й карнітину ( $r=0,99$ ,  $p=0,01$ ) також позитивно впливало на швидкість ендогенного дихання.

**Висновок.** Синдром постішемичної реперфузії кишкового в щурів сприяє порушенню стану монооксигеназного й редуцтазного ланцюга мікросом ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів, зниженню цитохромів P<sub>450</sub> і b<sub>5</sub> на 15,5 і 4,1% відповідно на тлі зростання швидкості перекисного окиснення ліпідів у середньому на 266 % в перші 72 год експерименту. Показано, що попереднє поєднане внутрішньоочеревинне введення глюкопротеїду  $\alpha$ -глобулінової фракції сироватки крові

людини й карнітину сприяє поліпшенню енергозабезпечення клітин за рахунок зниження швидкості перекисного окиснення ліпідів на 75,8 % у перші 72 год експерименту.

Комплексна корекція мікросомальної детоксикаційної функції клітин, динамічне спостереження за показниками перфузійного тиску черевної порожнини, визначення показників ендогенної інтоксикації та мікросомального окиснення лімфоцитів крові, визначення рівня цитохрому P<sub>450</sub>, застосування методів детоксикації з індукторами монооксигеназної системи у хворих на тяжкий АС та ІТШ у післяопераційному періоді дозволяють знизити ризик виникнення післяопераційних ускладнень та покращити результати лікування.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Голиков С. И. Общие механизмы токсического действия / С. И. Голиков, И. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов. – Л. : Медицина. – 1986. – 276 с.
2. Кривохижина Л. В. Гематологические эффекты церулоплазмينا / Л. В. Кривохижина, Е. В. Климова, Е. Н. Ермолаева : тезисы докладов II Российского конгресса по патофизиологии. – М. – 2000. – С. 93-94.
3. Изоформы цитохрома P-450, метаболизирующие полиненасыщенные жирные кислоты / В. В. Кржечковская, Г. А. Желтухина, В. Е. Небольсин, Р. П. Евстигнеева // Успехи современной биологии. – 2002. – Т. 122, № 4. – С. 390–400.
4. Микросомальное окисление в физиологических и патофизиологических процессах / Э. Э. Кузнецова, В. Г. Горохова, А. Г. Горохов, А. С. Сергеева // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 4 (56). – С. 170–180.
5. Daniels R. Surviving the first hours in sepsis: getting the basics right / R. Daniels // J. Antimicrob. Chemother. – 2011. – Vol. 66, supp 1.2. – P. 11–23.
6. Eltzschig H. K. Targeting hypoxia-induced inflammation / H. K. Eltzschig // Anesthesiology. – 2011. – Vol. 114, № 2. – P. 239–242.

Отримано 27.12.15