

СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ЭНТЕРАЛЬНОЙ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КРОВОПОТЕРИ

С.Б.МАТВЕЕВ, В.В.МАРЧЕНКО, Т.С.ЛОПОВА, П.П.ГОЛИКОВ

НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, 129010, Москва,
Б.Сухаревская пл., д. 3 тел.:929-12-57, 929-12-42

Исследована динамика показателей перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы сыворотки крови собак при экспериментальной кровопотере в объеме 30 мл/кг. Обнаружено повышенное содержание в сыворотке крови диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, шиффовых оснований, степени окисленности липидов. Энтеральная коррекция кровопотери глюкозо-аминокислотным солевым раствором, обогащенным мафусолом, способствует снижению перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: кровопотеря, энтеральное возмещение кровопотери, перекисное окисление липидов.

ВВЕДЕНИЕ. Лечение больных с кровотечениями различной этиологии по-прежнему остается актуальной и сложной проблемой. Успехи лечения постгеморрагических состояний неразрывно связаны с изучением отдельных звеньев патогенеза последствий кровопотери.

Гипоксия и стресс-реакция, сопровождающие острую кровопотерю, являются пусковыми механизмами активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1, 2]. Согласно экспериментальным данным, при геморрагическом и гиповолемическом шоке обнаруживается активация процессов ПОЛ в различных органах [3, 4, 5]. Продукты ПОЛ являются повреждающими агентами клеточных мембран, что сопровождается нарушением функции органов [6].

Для устранения гипоксии при кровопотере наряду с традиционной инфузионно-трансфузионной терапией в последнее время используются энтеральные инфузии мономерно-солевых растворов [7]. Ранее нами было показано [8], что энтеральное возмещение кровопотери мономерно-солевым раствором способствует восстановлению транспорта кислорода и показателей кислотно-щелочного состояния.

По-видимому, энтеральная коррекция кровопотери, устраняя гипоксию и ацидоз, может способствовать снижению активации процессов ПОЛ. В связи с этим представляет интерес изучение энтеральной коррекции кровопотери на состояние ПОЛ и антиоксидантную систему (АОС).

МЕТОДИКА. Эксперименты проведены на 35 беспородных собаках обоего пола массой 15-24 кг. Оперативная подготовка животных к эксперименту проводилась по методике Гальперина и соавт. [9]. С этой целью за 1-1,5 месяца до проведения экспериментов производили формирование временно изолированного участка тощей кишки длиной 50-60 см. Для эксфузии крови и сбора проб осуществляли выделение и катетеризация бедренной артерии. Для предотвращения свертывания крови вводили внутривенно гепарин из расчета 300 ед. на 1 кг массы животного. Кровопускание осуществлялось со скоростью 0,8-1,0 мл/кг-мин в объеме 30 мл/кг в течение 40 мин.

Энтеральное возмещение кровопотери осуществлялось мафусолом, содержащим в своем составе фумарат натрия [10, 11, 12] и глюкозо-аминокислотным солевым энтеральным раствором, (ГАСЭР), содержащим следующие ингредиенты в (г/л) $\text{Na H}_2\text{PO}_4$ - 0,9; NaCl - 3,82, CH_3COONa - 3,4, K_2HPO_4 - 2,33, CaCl_2 - 15,0, MgSO_4 - 5,0, глюкоза - 3,0, пептамин - 15.

В литературе работы, посвященные опыту парентерального применения мафусола, крайне немногочисленны [13, 14, 15,].

Общий объем трансинтестинально вводимых растворов составлял 60 мл/кг, из которых мафусола - 10 мл/кг, а ГАСЭРа - 50 мл/кг. Энтеральное введение растворов во временно изолированный участок тощей кишки производили в течение 20 мин спустя 40 мин после кровопотери. Для исследования продуктов ПОЛ кровь забирали из бедренной артерии.

Состояние ПОЛ оценивали, определяя в сыворотке крови первичных (диеновые конъюгаты - ДК) [14], вторичных (малоновый диальдегид - МДА) [15] и конечных (Шиффовы основания - ШО) [16] продуктов ПОЛ, а также по степени окисленности (СО) липидов [17]. О состоянии АОС судили по уровню в сыворотке крови липидорастворимого антиоксиданта α -токоферола (ТФ) [18] и активности внеклеточного антиоксидантного фермента церулоплазмينا (ЦП) [19]. Кроме того, определяли интегральный показатель (К) сбалансированности процессов ПОЛ и АОС, для расчета которого использовали математическое уравнение, где в одной части стоят произведения относительных значений показателей ПОЛ, а в другой - показателей АОС [20]. Содержание ДК и ТФ пересчитывали на количество общих липидов, которое определяли фосфованилиновым методом с помощью наборов фирмы "Lachema" (Чехия). Исследования проводили до кровопускания (исходные данные), сразу после кровопотери и через 1, 6 и 24 часа после коррекции растворами. Результаты обрабатывали методом вариационной статистики с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. При изучении состояния ПОЛ в сыворотке крови собак при кровопотере 30 мл/кг установлено, что максимальное увеличение ДК обнаруживается сразу после кровопотери (в 1,7 раза). В дальнейшие сроки их уровень остается повышенным и через 24 часа его увеличение составляет 1,5 раза по сравнению с исходными данными (табл.). Содержание МДА достоверно повышается сразу после кровопотери в 1,7 раза и остается почти на том же уровне во все сроки исследований по сравнению с исходными данными. Сразу после кровопотери выявляется увеличение ШО в 1,8 раза, а спустя 1 и 24 часа - в 1,7 раза. Степень окисленности липидов достоверно увеличивается (в 1,3-1,4 раза) во все сроки исследований по сравнению с исходными данными.

При исследовании состояния АОС в сыворотке крови собак после острой кровопотери не выявлено существенных изменений в содержании ТФ и ЦП.

Наибольшая информативная ценность о состоянии ПОЛ/АОС выявлена при анализе коэффициента К, который был достоверно увеличен во все сроки исследований от 7,5 до 11,8 раза. Все это указывает на превалирование процессов ПОЛ по отношению к АОС (табл.2). Эта группа животных служила контролем эффективности лечения мафусолом и ГАСЭРом.

При интеральном введении мафусола и ГАСЭРа, уровень МДА в сыворотке крови достоверно уменьшается в 1,5 раза через 6 часов после коррекции кровопотери, тогда как через 1 и 24 часа отмечается тенденция к снижению МДА по сравнению с соответствующими сроками исследований контрольной группы. Содержание ШО в группе животных с коррекцией острой кровопотери значительно снижается во все сроки исследований от 1,6 до 1,8 раза по сравнению с показателями контрольной группы животных. Уровень СО снижен в 1,2 раза через 24 часа после коррекции кровопотери. Содержание ДК под влиянием растворов не изменяется. Мафусол и ГАСЭР не оказывают существенного влияния на показатели АОС (табл. 2). Следовательно, энтеральное возмещение кровопотери в объеме 30 мл /кг

мафусолом и ГАСЭРом снижает содержание вторичных и конечных продуктов ПОЛ.

Таблица. Влияние энтерального введения мафусола и гасэра на показатели ПОЛ и АОС в сыворотке крови собак при кровопотере ($M \pm m$)

| Показатели(часы) | Исходные данные | Сразу после кровопотери | Группы животных | Постгеморрагический период | | |
|------------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------|----------------------------|------------------------|------------------------|
| | | | | 1 | 6 | 24 |
| ДК, Δ D ₂₃₃ мл·мг | 0,45±0,04 | 0,78±0,11 | 1 | 0,63±0,04* | 0,87±0,03* | 0,68±0,06* |
| | | | 2 | 0,73±0,12* | 0,82±0,08* | 0,81±0,10* |
| МДА, нмоль/мл | 1,24±0,17 | 2,05±0,31* | 1 | 1,83±0,32 | 1,74±0,06* | 2,21±0,35* |
| | | | 2 | 1,56±0,42 | 1,16±0,21 ^a | 1,74±0,17 |
| ШО, J _{фл} /мл·мг | 0,90±0,08 | 1,63±0,20 | 1 | 1,50±0,20* | 1,75±0,04* | 1,55±0,16* |
| | | | 2 | 0,95±0,11 ^a | 1,00±0,12 ^a | 0,88±0,13 ^a |
| СО, усл. ед. | 0,38±0,02 | 0,51±0,03* | 1 | 0,50±0,02* | 0,57±0,03* | 0,54±0,03* |
| | | | 2 | 0,49±0,01* | 0,53±0,02* | 0,44±0,03 ^a |
| ТФ, мкг/мл·мг | 0,87±0,08 | 0,84±0,08 | 1 | 1,09±0,10 | 0,84±0,05 | 0,82±0,05 |
| | | | 2 | 0,65±0,07 ^a | 0,77±0,08 | 0,82±0,07 |
| ЦП, мг/100 мл | 12,8±0,76 | 12,1±0,77 | 1 | 10,2±1,03 | 11,2±1,49 | 10,4±0,92 |
| | | | 2 | 11,6±1,07 | 12,5±1,68 | 12,4±1,92 |
| К (коэффициент), усл. ед. | 0,96±0,21 | 7,23±1,65* | 1 | 5,82±1,51* | 11,3±2,42* | 9,40±1,49* |
| | | | 2 | 1,92±0,65 ^a | 1,35±0,30 ^a | 1,66±0,34 ^a |

Примечания: 1 - группа животных без введения раствора (контроль), 2 - группа с введением растворов, * - $p < 0,05$, достоверность отличий по отношению к контролю а - $p < 0,05$, достоверность отличий между группами 1 и 2.

Наиболее выраженный эффект влияния мафусола и ГАСЭРа на состояние ПОЛ и АОС получен при оценке коэффициента К. Так, через 1 час после коррекции коэффициент К снижается в 2,7 раза, через 6 часов - в 8,4 раза и через 24 часа - в 5,7 раза по отношению к результатам у животных с кровопотерей без энтеральной коррекции.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что кровопотеря у собак сопровождается усилением процессов ПОЛ, хотя при этом состояние АОС не изменяется. Согласно литературным данным [21,22], коэффициент К выявляет адекватное отражение нарушений процессов ПОЛ/АОС при неостложных состояниях. В наших исследованиях показано, что несмотря на то, что при кровопотере не нарушается состояние АОС, использование коэффициента К выявило значительные изменения в системе ПОЛ/АОС.

При изучении влияния энтерального введения мафусола и ГАСЭР на процессы ПОЛ и АОС при кровопотере у собак установлено, что энтеральная коррекция снижает содержание вторичных и конечных продуктов ПОЛ, но не влияет на уровень первичных продуктов ПОЛ и состояние АОС. Однако использование коэффициента К позволило выявить существенное восстановление баланса ПОЛ/АОС при экспериментальной кровопотере под влиянием энтерального введения мафусола и ГАСЭР.

Значительный лечебный эффект инфузионной терапии кровезаменителями в сочетании с фумаратом натрия, который входит в состав мафусола, связан со стойким увеличением сердечной деятельности и восстановлением сопряженности дыхания и фосфорилирования в митохондриях [14]. Мафусол существенно повышает эффективность инфузионной терапии геморрагического шока [14]. В эксперименте [25] и клинике [26] показано, что энтеральное введение мономерно-солевого раствора является эффективным средством профилактики геморрагического шока. Комплексное энтеральное использование мафусола и ГАСЭР при кровопотере

приводит к снижению интенсификации процессов ПОЛ, по-видимому, в связи с тем, что ГАСЭР восстанавливает гемодинамику, за счет которой увеличивается транспорт кислорода и устраняется гипоксия, а муфасол, как антигипоксанта́ный препарат, также снижает гипоксию [8], которая является главным пусковым механизмом активации ПОЛ.

Полученные результаты являются патогенетическим обоснованием использования оптимального введения муфасола и ГАСЭРа в клинической практике при кровотечениях различной этиологии.

• ЛИТЕРАТУРА

1. Петрович Ю.А., Гуткин Д.В. (1986). Патол. физиол., 5, 85-92.
2. Меерсон Ф.З., Пшеничкова М.Г. (1988). Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам. М., Медицина.
3. Мальков П.Г. (1990). Структурный анализ повреждений альвеолярной ткани легкого в постреанимационном периоде. - Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - М.
4. Долгих В.Т. (1991). Вопр. мед. химии, 37 (5), 12-16.
5. Русаков В.В., Долгих В.Т., Копачева О.В. (1993). Вопр. мед. химии, 39 (6), 26-28.
6. Владимиров Ю.А., Оленев Р.И., Суслова Т.Б., Потапенко А.И. (1975). Биофизика: Итоги науки и техники. - М., 5, с. 56-117.
7. Матвеев С.Б., Марченко В.В., Ковальская К.С. (1991). В сб.: "Кислотно-основной и температурный гомеостаз: физиология, биохимия и клиника". Сыктывкар, с. 52-57.
8. Матвеев С.Б., Бутко Г.В., Марченко В.В. и др. (1996). III Росс. Нац. конгр. "Человек и лекарство" - Тез. докл. М., 274.
9. Гальперин Ю.М., Попова Т.С., Баклыкова Н.М., Короткова Т.В. (1978). В кн.: Экспериментальное обоснование современных методов хирургического лечения язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки. М., с. 42-48.
10. Слепнёва Л.В., Алексеева Н.Н., Кривцова И.М., Селиванов Е.А. (1983) Пат. физиол. №1, 56-60.
11. Макеев А.Б., Ремизова М.И. (1988). Трансфузионная терапия экспериментальных состояний в эксперименте и клинике: Сборник научн. трудов. - Л., 28-34.
12. Слепнева Л.В., Алексеева Н.Н., Ханевич М.Д. и др. (1990) Тез. докл. III съезда гематол. и трансфузиол. Узбекистана. Ташкент. Т. 1. с. 82-83.
13. Артемов В.И. (1981). Роль регионарного брыжеечного кровотока в возникновении моторных нарушений желудочно-кишечного тракта и их корригирующая терапия. - Дис. ... канд. мед. наук. - Харьков.
14. Ханевич И.Д., Баранчук В.Н., Слепнева Л.В. и др. (1990). Актуал. пробл. трансфуз, МЗ СССР, с. 136-140.
15. Кочетыгов Н.И., Селиванов Е.А., Гербут К.А. и др. (1996). Первый российский конгресс по патофизиологии. Тез. докл, с. 299-300.
16. Каган В.Е., Орлов В.Н., Прилипко Л.Л. (1986). Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. - М.
17. Гаверилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. (1987). Вопр. мед. химии, 33 (1), 118-122.
18. Csallany A.S., Ayaz K.L. (1976). Lipids., 11, 412-417.
19. Биленко М.В. (1989). Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). - М., Медицина.
20. Duggan D.E. (1959). Arch. Biochem., 84, 116-122.
21. Ravin H.A. (1961). J. Lab. Clin. Med., 58, 161-168.

22. Давыдов Б.В., Полумисков В.Ю., Голиков П.П., Голиков А.П. (1991). Клиническая лабораторная диагностика. Тез. докл. 4-го Всесоюзного съезда специалистов по лабораторной диагностике. - М., с. 48-49.
23. Ермолов А.С., Пахомова Г.В., Тверитнева Л.Ф. и др. (1996). Патол. физиол., №1, 23-26.
24. Абакумов М.М., Погодина А.Н., Голиков П.П. и др. (1998). Вестник хирургии, 157 (4), 57-61.
25. Катковский Г.Б., Ковальская К.С., Михеева А.С. (1985). Гематол. трансфузиол. 12, 40-44.
26. Матвеев С.Б., Лебедев А.Г., Калинина Е.Б. (1994) Хирургия., №1, 27-29.

Поступила 23.09. 98 г.

STATE OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN ENTERAL CORRECTION OF EXPERIMENTAL HAEMORRHAGE

S.B.MATVEYEV, V.V.MARCHENKO, T.S.POPOVA, P.P.GOLIKOV

Sklifosovsky Scientific Research Institute for Emergency Medicine, B. Sukharevskaya pl., 3,
Moscow, 129010, Russia.

Time course of lipid peroxidation and the state of antioxidant system of dog blood in an experimental haemorrhage were studied. Increases of conjugated dienes, malonic dialdehyde, Shiff's bases contents, lipid peroxidation degree were revealed. Enteral correction of the haemorrhage by the glucose-aminoacid saline enriched by mafusol promotes a decrease of lipid peroxidation.

Key words: blood loss, enteral substitution of blood loss, lipid peroxidation