

## ВЛИЯНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д. А. Еникеев, Е. А. Нургалеева, А. Ф. Самигуллина,  
Ю. Л. Баймурзина, М. А. Александров

Башкирский государственный медицинский университет, кафедра патофизиологии, Уфа

### Impact of Postresuscitative Endogenous Intoxication on Lipid Peroxidation Processes in the Experiment

D. A. Yenikeev, Ye. A. Nurgaleyeva, A. F. Samigullina, Yu. L. Baimurzina, M. A. Aleksandrov

Department of Pathophysiology, Bashkir State Medical University, Ufa

Проведено исследование состояния эндогенной интоксикации и свободно-радикального окисления у крыс после перенесенной 10-минутной клинической смерти вследствие остановки системного кровообращения. Выявлены количественные и качественные изменения токсических веществ на протяжении 35 дней постреанимационного периода, а так же усиление процессов свободно-радикального окисления в жизненно важных органах (головном мозге, печени, почках). В то же время в плазме крови наряду с увеличением содержания веществ низкой и средней молекулярной массы отмечалось угнетение показателей хемилюминесценции, так как происходит связывание молекулами средней массы ионов двухвалентного железа, которые добавляются для индуцирования свечения. Метод хемилюминесценции может служить экспресс-методом оценки степени эндогенной интоксикации. *Ключевые слова:* эндогенная интоксикация, постреанимационный период, хемилюминесценция.

Endogenous intoxication and free radical oxidation were studied in rats after 10-minute clinical death due to systemic circulatory arrest. There were qualitative and quantitative changes in toxic substances throughout a 35-day postresuscitative period, as well as increased free radical oxidation processes in the vital organs (brain, liver, kidneys). At the same time, plasma samples showed inhibited chemiluminescence along with the elevated levels of low and medium molecular-weight substances since medium-weight molecules bound ferrous iron ions that were added to induce luminescence. The chemiluminescence technique may serve as a rapid method for evaluating the degree of endogenous intoxication. *Key words:* endogenous intoxication, postresuscitative period, chemiluminescence.

Клинике, патогенезу и лечению эндогенной интоксикации посвящено в последние годы большое количество публикаций, в т. ч. обзорного характера [1–4]. Механизмы возникновения эндогенной интоксикации различного генеза однотипны, среди источников интоксикации основное внимание уделяется ишемизированным тканям, зонам естественной вегетации микрофлоры в организме, очагам воспалительной деструкции. Во время клинической смерти эндотоксины образуются и накапливаются в органах и тканях, а с началом рециркуляции и реоксигенации вымываются в кровь. Было показано, что именно в раннюю гипердинамическую стадию постреанимационного периода начинается выход токсических веществ из тканей и органов в кровь [5], причем максимальная токсичность в сыворотке крови отмечается через 30 мин после оживления организма [6, 7]. Новая волна эндотоксинемии определяется на 5–7-е сутки при неблагоприят-

ном течении постреанимационной болезни, что приводит к синдрому полиорганной недостаточности [8]. Работ, посвященных изучению эндотоксинемии в более поздние сроки постреанимационного периода, мы не встретили.

В последнее время среди исследователей проблемы эндотоксинемии возрос интерес к веществам низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ). В литературных источниках, в основном, отражены отрицательные эффекты ВНСММ: цитотоксическое действие [9]; способность угнетать тканевое дыхание, изменять проницаемость мембран и мембранный транспорт, угнетать глюконеогенез, вызывать нарушение микроциркуляции и лимфодинамики с развитием шокового легкого и отека легких [10] и др. Однако, в единичных работах отмечаются и положительные эффекты действия молекул низкой и средней массы, в частности, их антиоксидантная активность [11].

Таблица 1

Показатели эндогенной интоксикации в динамике постреанимационного периода ( $M \pm m$ )

| Показатели, в усл. ед. | Контроль (n=10) | Значения показателей в постреанимационном периоде |                         |                         |                         |                         |                        |                         |                        |              |
|------------------------|-----------------|---------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|--------------|
|                        |                 | Сутки                                             |                         |                         |                         |                         |                        |                         |                        |              |
|                        |                 | 1-е (n=13)                                        | 3-и (n=13)              | 5-е (n=8)               | 7-е (n=9)               | 10-е (n=10)             | 14-е (n=8)             | 21-е (n=9)              | 28-е (n=11)            | 35-е (n=8)   |
| ВНиСММ <sub>эр</sub>   | 21,21±2,00      | 23,38±0,70                                        | 22,92±0,76              | 19,30±0,71              | 20,70±0,55              | 24,27±0,56              | 20,97±1,16             | 20,73±0,89              | 22,48±0,48             | 20,49±0,96   |
| ВНиСММ <sub>пл</sub>   | 9,54±0,13       | 15,79±0,81 <sup>#</sup>                           | 12,11±0,60**            | 10,26±0,27*             | 10,90±0,38*             | 9,99±0,31               | 6,84±0,53 <sup>#</sup> | 8,49±0,25**             | 7,34±0,27 <sup>#</sup> | 11,32±1,36   |
| Катаболический пул     | 1,24±0,02       | 3,98±0,31 <sup>#</sup>                            | 2,76±0,16 <sup>#</sup>  | 1,93±0,16               | 2,30±0,19 <sup>#</sup>  | 2,48±0,12 <sup>#</sup>  | 2,02±0,41              | 2,09±0,14 <sup>#</sup>  | 2,90±0,12 <sup>#</sup> | 3,06±0,43**  |
| % Катаболического пула | 13,17±0,36      | 33,22±1,63 <sup>#</sup>                           | 27,73±1,80 <sup>#</sup> | 20,81±1,20 <sup>#</sup> | 24,53±0,70 <sup>#</sup> | 23,73±0,57 <sup>#</sup> | 26,45±5,47*            | 24,26±1,09 <sup>#</sup> | 30,3±2,3 <sup>#</sup>  | 27,40±3,16** |

Примечание. \* — ( $p < 0,05$ ), \*\* — ( $p < 0,01$ ), <sup>#</sup> — ( $p < 0,001$ ) — достоверность различий по сравнению с контролем.

Целью настоящего исследования является изучение состояния эндогенной интоксикации и процессов перекисного окисления липидов в динамике длительного постреанимационного периода (35 суток) в эксперименте.

## Материалы и методы

Работа выполнена на 120 беспородных крысах весом 180—200 г. Внезапную остановку кровообращения в организме длительностью 10 минут вызывали у животных под эфирным наркозом путем внутриторакального пережатия сосудистого пучка сердца [12]. Комплекс реанимационных мероприятий включал в себя наружный массаж сердца с интратрахеальным введением адреналина в дозе до 0,1 мг/кг в сочетании с искусственной вентиляцией легких. В течение всего периода наблюдений оценивали неврологический статус по методу С. П. Лысенкова и соавт. [13] в модификации Л. Т. Идрисовой и соавт. [14]. Для определения токсичности крови в разные сроки после оживления (1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки) проводили забор крови. Содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) определялось в плазме крови и на эритроцитах по методике М.Я. Малаховой [15], с последующей регистрацией спектральной характеристики водного раствора супернатанта при длинах волн от 238 до 306 нм. Расчет ВНиСММ в плазме и эритроцитах проводили по формулам:

$$\text{ВНиСММ}_{\text{пл}} = (E_{238} + E_{242} + \dots + E_{306}) \times 4 \text{ (усл. ед.)};$$

$$\text{ВНиСММ}_{\text{эр}} = (E_{238} + E_{242} + \dots + E_{306}) \times 4 \text{ (усл. ед.)}.$$

Величина катаболического пула плазмы (КП<sub>пл</sub>) определялась по формуле:

$$\text{КП}_{\text{пл}} = (E_{238} + E_{242} + \dots + E_{258}) \times 4 \text{ (усл. ед.)};$$

Затем рассчитывался показатель, характеризующий отношение катаболического пула к общему количеству ВНиСММ в плазме крови и выраженный в %.

Для изучения состояния свободно-радикального окисления (СРО) в организме была исследована хемилюминесценция плазмы крови, а так же гомогенатов печени, почек и мозга крыс в те же сроки, что и показатели токсичности крови. Для приготовления гомогенатов органов навеску ткани отмывали охлажденным фосфатным буфером, измельчали и заливали буфером в соотношении 1:5 (вес : объем), гомогенизировали при температуре +4°C. Инициировали хемилюминесценцию плазмы и гомогенатов добавлением 1 мл 50 мМ раствора  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  к 1 мл пробы. Исследование хемилюминесценции велось на установке ХЛМ-003. Проверку стабильности установки проводили перед каждым измерением по эталону ЖС-19 (ГОСТ 9411-81), интенсивность свечения которого составляет  $5,1 \times 10^5$  квантов в секунду. Эта величина была принята за относительную единицу. Для оценки СРО использовали такие показатели как величина светосуммы свечения (S), определявшаяся по интенсивности излучения, и амплитуда максимального свечения ( $I_{\text{max}}$ ).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением программного обеспечения Microsoft Excel с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента и коэффициента корреляции.

## Результаты и обсуждение

Анализ изменений неврологического статуса у крыс в постреанимационном периоде показал, что неврологический дефицит был наиболее выраженным в 1-е сутки. Он достигал  $38,5 \pm 1,7$  балла ( $p < 0,001$ ) и проявлялся гиподинамией, расстройствами мышечного тонуса, координации движений, зрения и слуха. В последующие сутки неврологический дефицит снижался и к 10-м суткам состояние реанимированных крыс внешне не отличалось от контрольной группы.

При оценке состояния эндогенной интоксикации установлено, что содержание ВНиСММ в плазме крови было достоверно повышено до 14-х суток, а в последующие периоды наблюдалась тенденция к снижению данного показателя. К 35-м суткам вновь была отмечена тенденция к повышению уровня ВНиСММ<sub>пл</sub> (табл. 1). В то же время на эритроцитах уровень молекул низкой и средней массы на протяжении всего периода наблюдений хотя и оставался повышенным, однако достоверных различий по сравнению с контрольной группой мы не выявили. В профиле спектрограммы плазмы крови, особенно в 1-е сутки, максимум экстинкций сместился с длин волн 282 нм до длины волн 242 нм и 246 нм, при этом величина поглощений превышала 0,3 ед. оптической плотности (рис. 1, 2). В последующие сутки оставался отличным от контрольной группы профиль в диапазоне длин волн от 238 нм до 258 нм. Именно в этом интервале регистрировались максимальные поглощения спектра веществ, преимущественно катаболического происхождения. После расчета катаболического пула и % катаболического пула выяснилось, что данные показатели достоверно высоки на протяжении всего периода после оживления, что свидетельствовало о несостоятельности детоксицирующей функции печени [16].

Профиль спектрограммы супернатанта после осаждения эритроцитарной массы, в основном, не отличался от контрольной группы.

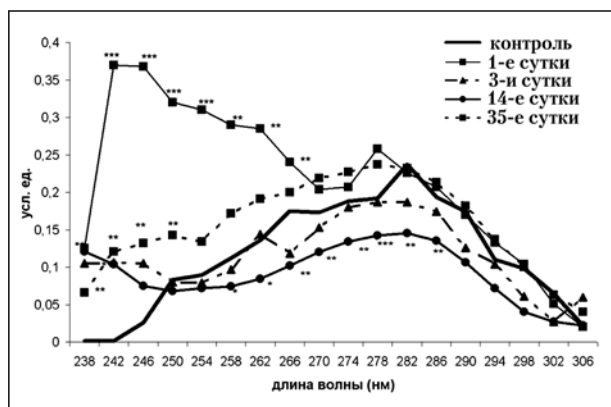


Рис. 1. Динамика показателей ВН и СММ плазмы в различные сроки после оживления.

\* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,001$  — достоверность различий по сравнению с контролем.

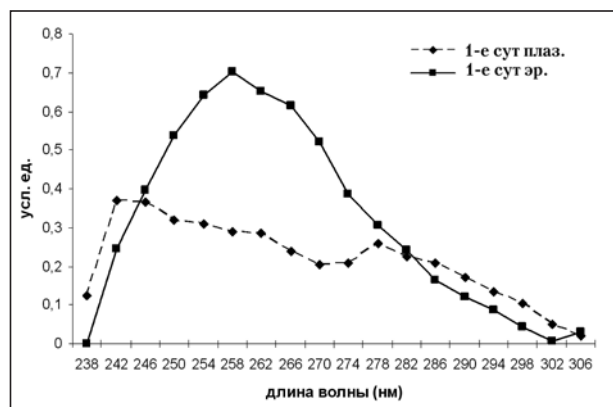


Рис. 2. Спектрограмма плазмы крови и эритроцитов на 1-е сутки после оживления.

Таблица 2

Динамика показателей хемилюминесценции гомогенатов печени, почек, головного мозга и плазмы крови в постреанимационном периоде ( $M \pm m$ ), в усл. ед.

| Сутки           | Плазма     |                  | Печень      |                  | Почки     |                  | Головной мозг |                  |
|-----------------|------------|------------------|-------------|------------------|-----------|------------------|---------------|------------------|
|                 | S          | I <sub>max</sub> | S           | I <sub>max</sub> | S         | I <sub>max</sub> | S             | I <sub>max</sub> |
| Контроль (n=10) | 14,6±2,4   | 7,2±0,2          | 4,9±0,1     | 2,7±0,0          | 2,0±0,15  | 1,1±0,1          | 1,7±0,0       | 0,8±0,0          |
| 1-е (n=11)      | 5,4±1,2*** | 2,7±0,4**        | 18,8±2,1*** | 8,3±1,8***       | 4,0±0,4** | 2,2±0,3**        | 5,8±1,3**     | 3,7±0,7**        |
| 3-и (n=12)      | 7,4±0,3*** | 3,4±0,3***       | 22,9±3,1*** | 9,2±1,2***       | 4,7±0,6** | 2,7±0,5**        | 7,5±1,4**     | 3,2±0,6**        |
| 5-е (n=9)       | 12,4±0,7** | 5,7±0,3**        | 11,4±1,4**  | 6,2±0,4***       | 1,7±0,2   | 0,7±0,0**        | 2,9±0,3*      | 1,7±0,3*         |
| 7-е (n=8)       | 7,4±0,4*** | 3,0±0,1**        | 8,6±1,2**   | 4,0±0,9          | 2,1±0,2   | 1,2±0,1          | 3,94±0,8*     | 1,7±0,2**        |
| 10-е (n=11)     | 9,1±0,5*** | 4,6±0,3**        | 18,3±1,6**  | 9,9±0,6***       | 1,9±0,2   | 0,9±0,1          | 3,6±0,7       | 2,2±0,6*         |
| 14-е (n=8)      | 17,0±0,7** | 8,2±0,5**        | 3,0±0,0**   | 2,9±0,2          | 2,4±0,3   | 1,2±0,2          | 2,5±0,4       | 1,2±0,2*         |
| 21-е (n=12)     | 10,9±1,2*  | 4,8±0,1*         | 17,8±1,8*** | 8,8±0,8***       | 2,0±0,1   | 0,8±0,0*         | 2,5±0,2*      | 1,5±0,2**        |
| 28-е (n=11)     | 7,0±0,7*** | 2,8±0,7***       | 12,7±1,2*** | 5,9±1,3*         | 2,0±0,0   | 0,8±0,1*         | 3,7±0,2***    | 2,0±0,1***       |
| 35-е (n=10)     | 7,8±1,2**  | 2,4±0,3***       | 4,0±0,7     | 2,6±0,4          | 3,2±1,0   | 1,9±0,7          | 1,7±0,1***    | 1,9±0,2***       |

Примечание. \* — ( $p < 0,05$ ), \*\* — ( $p < 0,01$ ), \*\*\* — ( $p < 0,001$ ) — достоверность различий по сравнению с контролем.

Исследование показателей СРО в динамике восстановительного периода (табл. 2) выявило достоверное увеличение показателей хемилюминесценции в печени до 28-х суток, в почках до 5-х, а в головном мозге во все сроки наблюдения, за исключением 7-х и 10-х суток, когда имелась лишь тенденция к увеличению. Последствия окислительного стресса, вызванного аноксией во время клинической смерти, и еще в большей степени последующей реоксигенацией, ведут к окислительной модификации липидов, белков [17], что усугубляет течение постреанимационного периода. В то же время в наших экспериментах отмечалось угнетение хемилюминесценции плазмы крови во все сроки наблюдения, за исключением 14-х суток. В этот период отмечалась тенденция к увеличению светосуммы и амплитуды максимальной вспышки. Показатель светосуммы определяет способность липидов крови подвергаться окислению. Подавление светосуммы может быть связано либо с уменьшением в плазме крови легко окисляющихся липидов, либо с появлением соединений, препятствующих ускорению окисления при добавлении в плазму инициаторов окисления. При терминальных со-

стояниях вследствие дефицита энергии, нарушения процессов аккумуляции и трансформации энергии прекращается работа ионных насосов, идет накопление фосфолипазы А, а так же высвобождение лизосомальных ферментов. Происходят конформационные изменения биологических мембран, оголение липидных компонентов, что повышает доступность и количество легко окисляющегося субстрата. Чем более выражены процессы окисления, тем продолжительнее повышение содержания в крови ненасыщенных жирных кислот [18]. Следовательно, подавление процессов ПОЛ в постреанимационном периоде обусловлено веществами, подавляющими действие инициаторов окисления. Подобным образом действуют молекулы средней массы. Они связывают ионы  $Fe^{2+}$ , которые добавляются для иницирования окисления, в результате снижается их каталитическая активность и, следовательно, падает интенсивность хемилюминесценции [19].

## Заключение

Таким образом, на протяжении постреанимационного периода были выявлены количест-

венные и качественные изменения токсических веществ, а также усиление процессов свободно-радикального окисления в жизненно важных органах. В то же время, токсемия и, в частности, увеличение содержания ВНиСММ в плазме крови,

приводит к угнетению показателей хемилюминесценции в плазме, в связи с чем хемилюминесценцию плазмы можно рекомендовать как экспресс-метод для оценки состояния эндогенной интоксикации при терминальных состояниях.

### Литература

1. Макарова Н. П., Кипичева И. Н. Синдром эндогенной интоксикации при сепсисе. Анестезиология и реаниматология 1995; 6: 4–6.
2. Чаленко В. В., Кутушев Ф. Х. Эндогенная интоксикация в хирургии. Вестн. хирургии им. И. И. Грекова 1996; 4: 3–8.
3. Bone R. S. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and not know about cytokine regulation. Crit. Care Med. 1996; 24 (1): 163–172.
4. Chalasani N., Roman J., Jurado R. L. Systemic inflammatory response syndrome caused by chronic salicylate intoxication. South. Med. J. 1996; 89 (5): 479–482.
5. Неговский В. А., Закс И. О. Эндогенная интоксикация в патогенезе постреанимационной болезни. Анестезиология и реаниматология 1982; 3: 27–31.
6. Шкунова Л. Г., Недошивина Р. В. Изучение токсичности сывороток собак, перенесших длительную клиническую смерть. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1972; 2: 21–23.
7. Закс И. О., Габриэлян Н. И. Токсическая активность плазмы крови в раннем постреанимационном периоде. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1984; 5: 545–547.
8. Золотокрылина Е. С. Постреанимационная болезнь: этиология патогенез, клиника, лечение. Реаниматология и интенсивная терапия 1999; 1: 8–13.
9. Delaporte C., Gros F., Jonson C., Bergström J. In vitro cytotoxic properties of plasma fractions from uremic patients. Artif. Organs 1981; 4: 68–70.
10. Беляков Н. А., Малахова М. Я., Соломенников А. В. и др. Капилляротоксичные факторы консервированной крови и их сорбция на активированных углях. В кн.: Сорбционные методы детоксикации и иммунокоррекции в хирургии. Ташкент; 1984. 240–241.
11. Тутикова З. А. Антиоксидантная активность различных фракций средних молекул и их элиминация при гемосорбции у обожженных. Эфферентная терапия 1997; 3 (1): 53–56.
12. Корпачев В. Г., Лысенков С. П., Тель Л. З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. Патол. физиология и эксперим. терапия 1982; 3: 78–80.
13. Лысенков С. П., Корпачев В. Г., Тель Л. З. Балльная оценка общего состояния крыс, перенесших клиническую смерть. В кн.: Клиника, патогенез и лечение неотложных состояний. Новосибирск; 1982. 8–13.
14. Идрисова Л. Т., Еникеев Д. А., Байбурина Г. А. Балльная оценка неврологического статуса крыс при алкогольной коме и влияние на нее лазерной физиотерапии. Клинич. медицина и патофизиология 1999; 2: 75–79.
15. Малахова М. Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. Эфферентная терапия 2000; 6 (4): 3–14.
16. Карпищенко А. И. (ред.) Медицинские лабораторные технологии: Справочник. СПб.: Интермедика; 1999; 2. 636.
17. Рябов Г. А., Азизов Ю. М., Дорохов С. И. и др. Окислительная модификация белков плазмы крови у больных в критических состояниях. Анестезиология и реаниматология 2000; 2: 72–75.
18. Жданов Г. Г., Нодель М. Л. Проблема гипоксии у реанимационных больных в свете свободно-радикальной теории. Вестн. интенс. терапии 1995; 3: 3–11.
19. Фархутдинов Р. Р., Лиховских В. А. В кн.: Хемилюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в биологии и медицине. Уфа; 1995. 49.

Поступила 23.05.06