

Опубликовано в: Экспериментально-клиническая фармакология сверхмалых доз антител к андрогенным регуляторам функций. Сборник трудов под редакцией акад. РАМН, проф., докт. Биол. Наук М.Б.Штарка, проф., докт. Биол. Наук С.А.Сергеевой. Приложение к журналу №8 «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины» за 2009 год. – М.: Издательство РАМН, 2009. – С. 136-139

Автор(ы): Тараканов А.В., Луспикаян С.Х. Милютин Н.П., Рожков А.В.
Кафедра скорой и неотложной помощи ФПК и ППС Ростовского государственного медицинского университета, Ростов-на-Дону

Название статьи: Влияние артрофоона и СКЭНАР-терапии на показатели ПОЛ и антиоксидантной системы крови больных перитонитом в послеоперационном периоде

Ключевые слова: СКЭНАР, гнойный аппендикулярный перитонит, артрофоон, перикисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты

Аннотация: Применение артрофоона в лечении ограниченного гнойного аппендикулярного перитонита в послеоперационном периоде в комплексе со СКЭНАР-терапией приводит к достоверному снижению уровня МДА в плазме крови, стабилизации активности церулоплазмينا и повышению активности каталазы в эритроцитах по сравнению с группой пациентов, получавших общепринятую и СКЭНАР-терапию

ВЛИЯНИЕ АРТРОФООНА И СКЭНАР-ТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПОЛ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПЕРИТОНИТОМ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

Выраженная эндогенная интоксикация, сопровождающая гнойный перитонит (ГП), гипоксия смешанного характера и гиповолемия приводят к выраженной активации процессов свободно-радикального ПОЛ, что становится одним из ведущих звеньев патогенеза клеточной альтерации [6, 7]. Течение воспалительного процесса взаимосвязано с состоянием плазматических мембран, которые подвергаются деструктивным изменениям [8, 12]. Дезорганизация мембран под действием эндо- и экзогенных факторов первоначально ведет к возникновению патохимических процессов с изменением функций систем и организма в целом [3]. При формировании механизмов адаптации в качестве молекулярного пускового механизма выступают процессы ПОЛ, активация которых является универсальным ответом организма на действие экстремальных факторов. В регуляции интенсивности процессов ПОЛ в крови и клетках, поддержании определенной концентрации эндогенных липоперекисей участвует антиоксидантная система [1, 18].

Существенным, но мало разработанным звеном лечения ГП являются методы, направленные на коррекцию ПОЛ. Наряду с фармакотерапией существуют и другие способы регуляции этой системы. Перспективным является метод воздействия при помощи биорегулируемой низкочастотной импульсной электротерапии, в частности, самоконтролируемого энергонейроадаптивного регулятора (СКЭНАР) [11].

Острая гнойная хирургическая инфекция сопровождается усиленным синтезом

цитокинов и активацией ПОЛ. В этом ряду ФНО- α , как один из активнейших медиаторов, способен запускать каскад провоспалительных цитокинов. Он активирует макрофаги и, вероятно, вмешивается в процессы респираторного взрыва фагоцитирующих клеток. Включение артрофоона — препарата, представляющего собой антитела к ФНО- α в сверхмалых дозах, в комплекс терапии больных с ГП обосновано на фоне чрезмерного воспалительного процесса. В доступной литературе мы не встретили данных о применении артрофоона при ГП, его назначении коротким курсом, влиянии на показатели ПОЛ и антиоксидантной системы.

Цель исследования — изучить влияние артрофоона на динамику показателей ПОЛ в плазме крови и эритроцитах, активность основных антиоксидантных ферментов при включении препарата в комплексную терапию с применением СКЭНАР у больных ГП аппендикулярного происхождения в послеоперационном периоде.

Методика исследования

Обследовано 99 пациентов (76 мужчин и 23 женщины, возраст 17-74 года), оперированных по поводу острого аппендицита, осложненного ограниченным гнойным перитонитом. Методом случайной выборки выделено 3 группы. Пациенты 1-й группы ($n=42$) получали в послеоперационном периоде комплекс «традиционной» антибактериальной, инфузионной и симптоматической терапии; 2-й ($n=38$) — наряду с традиционными методами СКЭНАР-терапию. Пациенты 3-й группы ($n=19$) в дополнение к комплексу терапии, проводимой пациентам 2-й группы, получали препарат артрофоон сублингвально по 1 таблетке 4 раза в сутки (каждые 6 ч). Курс лечения артрофооном проводили до улучшения клинической картины и купирования температурной реакции, в среднем 5 сут. СКЭНАР-терапию осуществляли раздражением выносными электродами (12 см²) в режиме F-Sw зон кожи в области ладоней (*thenar* и *hypo thenar*) и стоп (подпальцевое пространство *regio plantaris pedis*) с конечной обработкой кожной проекции печени (с включением точек F₁₃ и F₁₄ меридиана печени) по 10 мин на каждую область. Силу раздражения подбирали индивидуально [11].

В контрольную группу, сопоставимую по возрасту, вошли 38 здоровых людей.

Объект исследований: плазма крови, 1% гемолизат и суспензия эритроцитов. Применяли хемилюминесцентный (ХЛ) анализ в системе H₂O₂ — люминол [13], интенсивность ПОЛ оценивали по уровню накопления молекулярных продуктов в хлороформном липидном экстракте [16], диеновых конъюгатов (ДК) [9], МДА [10], шиффовых оснований [15]; определяли активность СОД [17], каталазы [5], церулоплазмينا по методу Ревина в модификации [4]. Исследования проводили в биохимической лаборатории НИИ биологии при Южном федеральном университете на 3–5-е сутки после оперативного вмешательства (исходные данные), далее через 5 сут. от начала комплексного лечения.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием *t* критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Исходные биохимические параметры в 3 группах характеризовались повышенной генерацией активных форм кислорода, которые являются мощными инициаторами ПОЛ (табл. 1). Так, показатель индуцированной ХЛ — высота быстрой вспышки — достоверно превышал во всех группах показатели нормы на 29.9-42.6%. Показатель светосуммы ХЛ, указывающий на скорость расходования липидных радикалов вследствие их взаимодействия друг с другом или с эндогенными антиоксидантами, был достоверно повышен только в 1-й и во 2-й группах.

В плазме крови уровень ДК во всех группах в начале лечения был достоверно повышен на 43.4–55.1%. Содержание МДА также было достоверно увеличено в 3 группах на 60.8, 82.8 и 55.1% соответственно. Уровень оснований Шиффа достоверно повышался на 51.5, 61.6 и 24.2% соответственно.

Считается, что продукты ПОЛ типа МДА относятся к бифункциональным поперечно-сшивающим реагентам и способствуют образованию высокомолекулярных конечных продуктов — шиффовых оснований. Это зачастую приводит к значительным, а иногда необратимым нарушениям структуры и функций мембран.

Таблица 1

Интенсивность H_2O_2 -люминолиндуцированной ХЛ, ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов в плазме крови в исследуемых группах ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
		исходные данные	через 5 сут	исходные данные	через 5 сут	исходные данные	через 5 сут
Высота быстрой вспышки ХЛ, мм	43.8±4.1	62.5±11.0	71.9±7.5*	60.9±7.5*	53.5±4.2	56.9±4.1*	47.4±18.3
Светосумма ХЛ, $\times 10^4$, отн. ед.	84.1±2.1	120.0±30.6	164.5±21.3*	136.1±13.3*	153.3±33.7*	93.7±11.9	83.7±19.9
ДК, нмоль/мл	14.5±1.8	20.8±1.0*	20.3±1.6*	21.1 ± 1.4*	18.2±0.5* ⁺	22.5±1.1*	19.2±2.6
МДА, нмоль/мл	25.0±1.8	40.2±2.9*	47.2±2.9*	45.7±2.2*	39.6±2.0* ⁺	36.8±12.8*	29.7±2.2* ⁰
Основания Шиффа, отн. ед/мл	0.99±0.05	1.5±0.1*	1.30±0.07*	1.6±0.2*	1.3±.1*	1.23±0.09*	1.34±0.08*
Церулоплазмин, мкмоль/л	1.2±0.1	1.4±0.1*	0.90±0.08* ⁺	1.1±0.1	1.0±0.1	1.6±0.1*	1.5±.1* ⁰
Каталаза, нмоль H_2O_2 /мл	14.9±0.9	11.8±1.1*	14.5±2.0	12.4±1.7	17.2±3.2	10.90±1.81*	15.4±0.4 [±]

Примечание. Здесь и в табл. 2: $p < 0.05$ по сравнению с *контролем, ⁺исходными данными, ⁰2-й группой

Более существенные изменения ПОЛ происходили в эритроцитах (табл. 2). Если в плазме крови отмечался определенный исходный разброс данных в группах, то показатели эритроци-тарного ПОЛ во всех группах характеризовались практически однонаправленными изменениями. В эритроцитах уровень ДК во всех группах в начале лечения был достоверно повышен на 123.6, 112.8 и 133.2%. Содержание МДА также было достоверно выше контроля на 53.1, 48.2 и 53.1%. Уровень оснований Шиффа достоверно повышался на 26.3, 22.8 и 28% соответственно. Избыточная перекисидация значительно изменяет функции клеток [2].

У больных с ГП при переводе в общее отделение из реанимационного в плазме крови оставалась повышенной генерация активных форм кислорода, которые обладают широким спектром цитотоксического действия, и существенно повышалась интенсивность ПОЛ. ПОЛ вызывало в клетке порочный круг нарушения биоэнергетики и гомеостаза, который, если его не разорвать, приводит к разрушению клеток.

Интенсивность реакций свободнорадикального окисления зависит и от состояния антиокси-дантной системы тканей и биологических жидкостей, в частности плазмы. В нашем исследовании в активный лечебный процесс во 2-й и 3-й группах были добавлены компоненты, активно вмешивающиеся в механизмы саногенеза.

Традиционное лечение (1-я группа) не приводило на 5-е сутки к купированию оксидативного стресса в плазме крови. ХЛ продолжала повышаться до 64.1% от нормы и до 15% от исходного показателя. Во 2-й и 3-й группах выявлена тенденция к ее снижению на 12.1 и 16.6% соответственно. Во 2-й и 3-й группах отмечено четкое снижение концентрации ДК, такая же закономерность регистрировалась достоверно и для МДА, чего не было в 1-й группе. Здесь существенный и достоверный вклад оказывает включение артрофоона. В 3-й группе на 5-е сутки лечения уровень МДА, хоть и превышал значения контроля (18.8%), но недостоверно.

Указанные изменения происходили на фоне значительных перестроек активности антирадикальных ферментов. Если в 1-й группе в фоновых показателях активность церулоплазмينا была высокой (+16.6%), то через 5 сут. она достоверно снижалась (-25%). В

3-й группе при исходно высокой активности в начале (+33.3%) она оставалась высокой и в дальнейшем (+25%). Повышение активности церулоплазмينا следует рассматривать как защитно-компенсаторную реакцию, т.к. он регулирует ПОЛ, функционируя в качестве перехватчика как супероксидного анион-радикала, так и гипохлорита, обладает ферроксидазной активностью, снижая уровень Fe^{2+} . Активность каталазы во 2-й и 3-й группах восстанавливалась и превышала цифры исходных параметров, чего не происходило в 1-й группе.

Таблица 2

Интенсивность ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах в исследуемых группах ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	1-я группа		2-я группа		3-я группа	
		исходные данные	через 5 сут	исходные данные	через 5 сут	исходные данные	через 5 сут
ДК, нмоль/мг	7.16±0.72	16.01±0.49*	14.43±0.48**	15.24±0.72*	10.22±0.81**	16.7±1.1*	10.30±1.52 ⁺
МДА, нмоль/мг	3.46±0.36	5.32±0.31*	4.53±0.24 ⁺	5.13±0.31*	4.2±0.19 ⁺	5.30±0.31*	3.90±0.20 ⁺
Основания Шиффа, отн. ед/мг	0.57±0.05	0.72±0.04*	0.60±0.06	0.7±0.1	0.59±0.04	0.73±0.06*	0.60±0.03 ⁺
СОД, ЕД/мг	3.35±0.11	3.10±0.23	3.41±0.15	2.80±0.21*	3.24±0.21	3.22±0.20	3.54±0.12
Каталаза, нмоль H_2O_2 /мг	26.4±1.07	31.60±3.28	31.10±1.34*	34.5±3.9*	30.80±1.82*	34.9±4.3	37.6±3.9*°

Острый процесс при развитии ограниченного ГП при аппендиците на фоне, как правило, удовлетворительного состояния здоровья способствует быстрому восстановлению статуса ПОЛ и антиоксидантной системы. Во всех группах достоверно снизился уровень МДА и оснований Шиффа (табл. 2). Только продукция ДК оставалась высокой в 1-й группе, тогда как во 2-й и 3-й группах отмечено ее достоверное снижение на 32.9 и 38.3% соответственно.

Во всех группах повышалась активность СОД. Существенным результатом лечения в 3-й группе является наиболее значимое повышение активности каталазы. Если в 1-й и 2-й группах отмечалось ее снижение к 5-м суткам, то в 3-й группе выявлен прирост уровня каталазы по сравнению с фоном на 7,7%, по сравнению со 2-й группой — на 22.1% ($p < 0.05$).

Таким образом, при ограниченном ГП аппендикулярного происхождения в послеоперационном периоде усиливалась генерация активных форм кислорода, что подтверждается выраженным приростом величины параметров индуцированной ХЛ и содержания молекулярных продуктов ПОЛ в плазме крови и эритроцитах, и снижалась активность каталазы плазмы и СОД эритроцитов.

Проведение общепринятой терапии не устраняло проявления окислительного стресса, что подтверждается высоким уровнем показателей ХЛ и повышением МДА в плазме крови. К 5-м суткам использование СКЭНАР-терапии уменьшало окислительный стресс, снижая уровень ДК и МДА в плазме и эритроцитах.

Использование в комплексном лечении СКЭНАР-терапии и артрофоона приводило к уменьшению окислительного стресса в крови, достоверному снижению уровня МДА и повышению активности каталазы в плазме крови. Вклад артрофоона заключается в достоверном и значительном уменьшении МДА в плазме крови, сохранении активности церулоплазмينا и повышении активности каталазы в эритроцитах.

Литература

1. *Бышевский А.Ш., Терсенов О.А.* Биохимия для врача. Екатеринбург, 1994.
2. *Владимиров Ю.А.* // Соросовск. образоват. журн. 2000. Т. 6, № 12. С. 13-19.
3. *Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др.* // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. 1991. Т. 29. С. 1-249.
4. *Колб В.Г., Камышников В.С.* // Справочник по клинической биохимии. Минск, 1982. С. 290-292.
5. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е.* // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16-19.
6. *Малахова М.Я.* // Эфферент.тер.2000.Т.6,№6.С. 3-14.
7. *Мельцер И.М., Потапов А.Ф., Эверстова Л.В., Кершенгольц Б.М.* // Анестезиол. и реаниматол. 2004. № 2. С. 49-51.
8. *Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др.* Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М., 2006.
9. *Стальная И.Д.* // Современные методы в биологии. М., 1977. С. 63-64.
10. *Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г.* // Современные методы в биохимии. М., 1977. С. 66-68.
11. *Тараканов А.В.* СКЭНАР-терапия при неотложных состояниях. Ростов н/Д, 2005. Ч. 1.
12. *Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В.* Антиоксидантная терапия в клинической практике. СПб., 2003.
13. *Шестаков В.А., Бойчевская И.О., Шерстнев М.П.* // Вопр. мед. химии. 1979. Т. 51, № 2. С. 132-137.
14. *Эпштейн О.И.* // Бюл. экспер. биол. 2003. Прил. С. 10-15.
15. *Bidlack W.R., Tappel A.L.* // Lipids. 1973. Vol. 8, N 4. P. 203-207.
16. *Bligh E. G., Dyer W.J.* // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. Vol. 37, N8. P. 911-917.
17. *Fried R.* // Biochemie. 1975. Vol. 57, N 5. P. 657-660.
18. *Halliwell B.* // Am.J.Med. 1991. Vol.91, N3C.P. 14S-23S.