

УДК 616.36+616.89-008.44.13:541.515

А.А. Бабанин, А.Н. Захарова, Е.Л. Товажнянская,
А.Л. Малев, В.Б. Калиберденко, П.Н. Радзивил*

*Крымский государственный медицинский университет
им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь*

**Харьковский национальный медицинский университет*

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЁРЫ ОКСИДАНТНОГО СТРЕССА ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

На модели эндотоксического поражения печени крыс изучен уровень биохимических маркёров окислительного стресса с применением методов определения конъюгированных диенов и диенкетон, спонтанной окислительной модификации белков и уровня пептидов средней массы. Интраперитонеальное введение эндотоксина сопровождалось увеличением сыровоточного содержимого продуктов свободнорадикального окисления белков и липидов. При этом окислительной модификации более интенсивно подвергались белки, их содержание превышало контрольные показатели в 4,5 раза. Сделан вывод, что эндотоксин, кроме прямого токсического действия, является мощным индуктором окислительного стресса, что приводит к усилению повреждающего действия на печень.

Ключевые слова: липопероксидация, окислительная модификация белков, эндотоксин, печень.

В физиологических условиях эндотоксин, выделяющийся в небольших дозах при самообновлении пула кишечной палочки, является облигатным стимулом формирования реакций иммунной системы организма [1], участвующей в сложных процессах гомеостаза. Снижение защитной функции физиологических барьеров – кишечника и печени, приводит к увеличению количества эндотоксина, нарушению процессов его нейтрализации и возникновению системной эндотоксикемии кишечного происхождения [2, 3]. Кроме прямого токсического действия, чрезмерное накопление эндотоксина стимулирует активацию процессов перекисидации и выработку большого количества свободных радикалов, что усиливает его повреждающее действие на органы и ткани [4, 5]. Печень является органом, в котором протекают сложные процессы элиминации эндотоксина, поэтому практический интерес представляет изучение эндотоксического повреждения печени и степени выраженности при этом оксидантного стресса.

Материал и методы. Исследование проведено на 30 нелинейных половозрелых крысах обоего пола с массой тела от 200 до 250 г.

Моделирование токсического повреждения печени эндотоксином осуществляли путём интраперитонеального введения в течение семи дней препарата эндотоксина кишечной палочки фирмы Sigma (США) из расчета 0,1 мг на 1 кг массы тела (по методу Н.В. Чае). Интактные животные (30 особей) являлись группой контроля. Животные содержались в стандартных условиях, на стандартном рационе, согласно рекомендациям [6]. Сыровотку крови для биохимических исследований получали из цельной крови центрифугированием при 55 с⁻¹ в течение 20 мин. В ходе проведения экспериментов определяли следующие биохимические показатели:

- содержание конъюгированных диенов (КД) и диенкетон (ДК) как первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) по методике И.Д. Стальной в модификации К.С. Казакова и Л.Л. Сидоровой;
- количество малонового диальдегида (МДА) как вторичного продукта ПОЛ с помощью диагностических наборов ТБК-агат по методике М. Mihara;
- спонтанную окислительную модификацию белков (ОМБ) по методу Левина в модификации Е.Е. Дубининой [7, 8].

© А. Бабанин, А.Н. Захарова, Е.Л. Товажнянская и др., 2012

• пептиды средней массы (ПСМ) по методу Н.И. Габриэлян в модификации Д.Л. Брасюк [9, 10].

Изучение биохимических показателей проводили на спектрофотометре СФ–2000.

Полученные данные статистически обработали.

Результаты и их обсуждение. В условиях эндотоксического повреждения печени наблюдается активация свободнорадикальных процессов – усиливаются липидпероксидация и окислительная модификация белков (таблица).

Показатели окислительной модификации белков и липидов при эндотоксической интоксикации

Показатель	Группы животных	
	контрольная	экспериментальная
ДК, моль/л	0,430±0,007	0,58±0,01
КД, моль/л	2,15±0,03	4,78±0,07
МДА, моль/л	2,410±0,137	3,19±0,06
ОМБ, ед. опт. пл.	0,200±0,006	0,91±0,065
ПСМ, ед. опт. пл.	0,26±0,02	0,44±0,01

Активация процессов ПОЛ в условиях эндотоксемии в организме крыс сопровождалась накоплением как первичных, так и вторичных продуктов ПОЛ. При этом содержание конъюгированных диенов в сыворотке крови подопытных животных повышалось в 2,2 раза по сравнению с интактными животными контрольной группы. Аналогичная закономерность, но менее выраженная, наблюдалась в отношении содержания диенкетонов, уровень которых также был повышен по сравнению с таковым в группе контроля в 1,3 раза (рис. 1). О накоплении вторичных продуктов процессов липопероксидации свидетельствовало выявленное увеличение при воздействии эндотоксина содержания МДА в 1,3 раза по сравнению с контролем (рис. 2). В целом активация процессов ПОЛ в экспериментальной группе крыс характеризовалась преимущественным увеличением количества первичных его продуктов. Учитывая более агрессивный цитотоксический характер влияния на клетки организма первичных прооксидантов, а также их способность к аутокатализации свободнорадикальных процессов, можно предположить, что активация процессов ПОЛ является важным

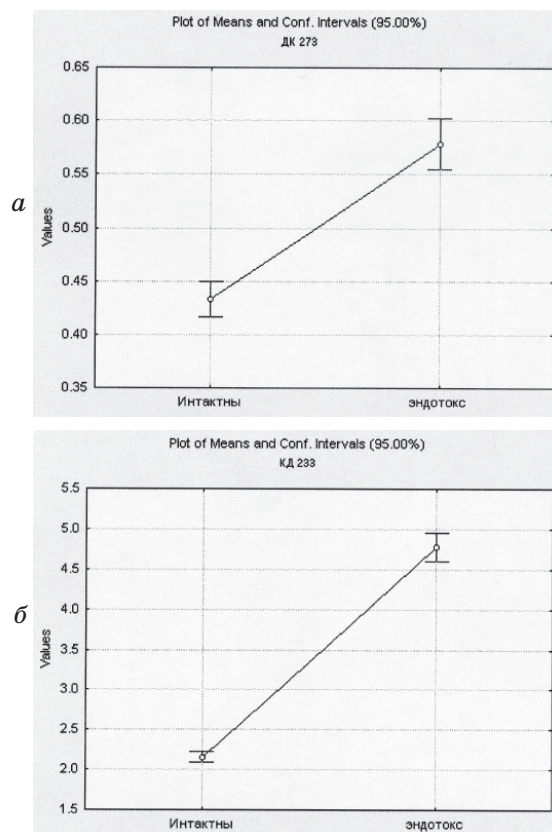


Рис. 1. Содержание диенкетонов (а) и конъюгированных диенов (б) в сыворотке крови крыс при поражении печени эндотоксином

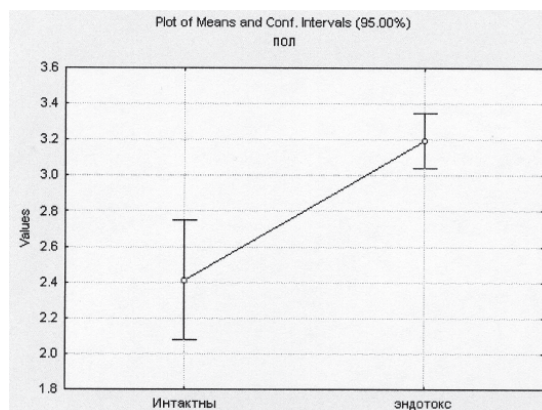


Рис. 2. Показатели накопления МДА в сыворотке крови крыс при поражении печени эндотоксином повреждающим фактором, закрепляющим эндотоксическое повреждение печени и усиливающим в дальнейшем эндотоксемию.

Согласно полученным данным, более выраженные изменения выявлены при изучении процессов окисления белков. Так, содержание карбонильных продуктов под влиянием эндотоксина повышалось в 4,5 раза по сравнению с соответствующим показателем

в контроле (рис. 3), а содержание пептидов средней массы в экспериментальной группе в 4 раза превышало аналогичный показатель в группе интактных животных (рис. 4).

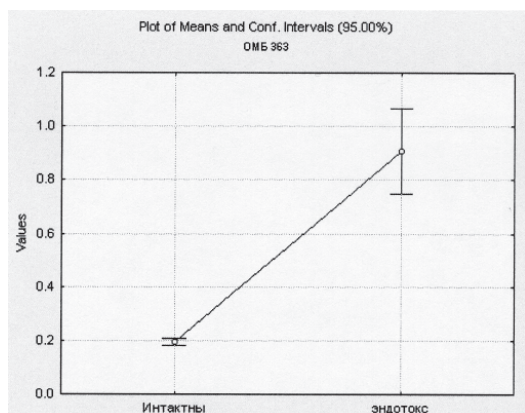


Рис. 3. Изменение уровня карбонильных соединений при поражении печени эндотоксином

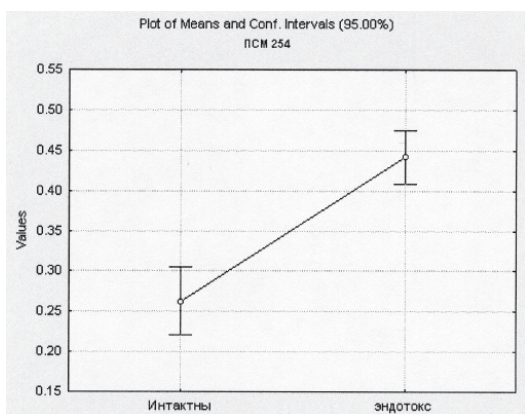


Рис. 4. Динамика изменения содержания пептидов средней массы при поражении печени эндотоксином

Это свидетельствовало о более интенсивной окислительной модификации белков в условиях эндотоксического повреждения печени, что могло быть связано с одновременным токсическим влиянием на клетки организма оксидантного стресса, который также инициируется эндотоксином.

Таким образом, при эндотоксическом поражении печени наблюдается активация

как процессов липопероксидации, так и окислительной модификации белков, что подтверждалось увеличением содержания в сыворотке крови экспериментальных животных продуктов свободнорадикальных процессов (таблица).

Следует полагать, что выявленные в эксперименте изменения связаны как с прямым токсическим действием эндотоксина на структуры клеточных мембран, что вызывает изменение их проницаемости и развитие мембранной патологии, так и с последствиями цитотоксического влияния окислительного стресса, мощным индуктором которого также является эндотоксин. В совокупности указанные биохимические изменения являются важными составляющими патогенеза развития и прогрессирования патологических изменений в клетках печени в условиях эндотоксической интоксикации в организме.

Выводы

1. В условиях экспериментального повреждения печени эндотоксином наблюдается статистически значимое увеличение сывороточного содержания как первичных, так и вторичных продуктов свободнорадикального окисления липидов, а также продуктов окислительной модификации белков (маркёров окислительного стресса).

2. Более выраженные изменения выявлены в отношении содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов и показателей окислительной модификации белковых молекул (повышение содержания конъюгированных диенов в 2,2 раза, содержания продуктов окислительной модификации белков и пептидов средней массы в 4,5 и 4,0 раза соответственно по сравнению с контролем).

3. Выявленную активацию процессов перекисного окисления липидов и белков следует рассматривать как важнейший патогенетический механизм, который усугубляет повреждение печени при эндотоксической интоксикации.

Список литературы

1. Hewett J. A. Hepatic and extrahepatic pathobiology of bacterial lipopolysaccharides / J. A. Hewett, R. A. Roth // *Pharmacol. Rev.* – 1993. – Vol. 45. – P. 3.
2. Hsu D. Z. Sesame oil protects against lipopolysaccharide-stimulated oxidative stress in rats / D. Z. Hsu, M. Y. Liu // *Crit. Care Med.* – 2004. – Vol. 32, № 1. – P. 227–231.
3. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury / H. Jaeschke // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2000. – № 15. – P. 718–724.
4. Hoek J. B. Ethanol, oxidative stress, and cytokine-induced liver cell injury / J. B. Hoek, J. G. Pastorino // *Alcohol.* – 2002. – Vol. 27, № 1. – P. 63–68.

5. The role of the liver in the response to LPS: experimental and clinical findings / E. Jirillo, D. Casav, T. Magrone [et al.] // J. Endotoxin Res. – 2002. – Vol. 8, № 5. – P. 319–327.
6. *Кожем'якін Ю. М.* Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін. – К., 2002. – 155 с.
7. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов, И. Г. Порогов // Вопр. мед. химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26.
8. *Дубинина Е. Е.* Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е. Е. Дубинина, М. Г. Морозова, Н. В. Леонова // Вопр. мед. химии. – 2000. – № 4. – С. 1–11.
9. *Брасюк Д. Л.* Модификация метода определения молекул средней массы / Д. Л. Брасюк // Клини. лаб. диагностика. – 1995. – № 1. – С. 18.
10. *Габриэлян Н. И.* Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н. И. Габриэлян, В. И. Липатова // Лаб. дело. – 1984. – № 3. – С. 138–140.

А.А. Бабанін, Г.М. Захарова, О.Л. Товажнянська, О.Л. Малєв, В.Б. Каліберденко, П.М. Радзівіл
БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ОКСИДАНТНОГО СТРЕСУ ПРИ ЕНДОТОКСИНОВОМУ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ

На моделі ендотоксичного ураження печінки щурів вивчений рівень біохімічних маркерів окислювального стресу з використанням біохімічних методів визначення кон'югованих дієнів і дієнкетонів, спонтанної окислювальної модифікації білків і рівня пептидів середньої маси. Інтраперитонеальне введення ендотоксину супроводжувалося збільшенням сироваткового вмісту продуктів вільнорадикального окиснення білків і ліпідів. При цьому окислювальній модифікації інтенсивніше піддавалися білки, їх вміст перевищував контрольні показники в 4,5 рази. Зроблено висновок, що ендотоксин, окрім прямої токсичної дії, виявляється могутнім індуктором окислювального стресу, що призводить до посилення ушкоджувальної дії на печінку.

Ключові слова: ліпопероксидація, окислювальна модифікація білків, ендотоксин, печінка.

A.A. Babanin, A.N. Zaharova, E.L. Tovazhnyanskaya, A.L. Malev, V.B. Kaliberdenko, P.N. Radzivil
BIOCHEMICAL MARKERS OF THE OXIDISING STRESS AT AN ENDOTOXIC LESION OF A LIVER

In work level of biochemical markers of oxidising stress is experimentally studied at an endotoxic intoxication. Researches it was carried out by creation on model of an endotoxic lesion of a liver of rats. Biochemical methods have been used to studying the oxidising stress: conjugated diene and diene-ketones, spontaneous oxidising modification of the proteins and level of peptides of average mass. Intraperitoneal introduction of an endotoxin, was accompanied by augmentation of serumal contents of products of is free-radical oxidation of fibers and lipids. Thus fibers more intensively were exposed to oxidising modification, their maintenance exceeded control indicators in 4.5 times. Thus, the endotoxin, except rendering of direct toxic action, is a powerful inductor of oxidising stress that leads to intensifying of damaging action on a liver.

Key words: lipoperoxidation, oxidising modification of proteins, endotoxin, liver.

Поступила 08.11.11