

УДК 617.215.34:547

*А.І. Ковтун, В.М. Кошовчук
І.Ф. Мецишен, С.О. Акентьєв
П.М. Карно, В.М. Лопатін*

АНТИОКСИДАНТНІ ЕФЕКТИ ДАЛАРГІНУ ЗА УМОВ ГІПЕРБАРОКСІЇ У ЩУРІВ З ГОСТРИМ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ПЕРИТОНІТОМ

Буковинська державна медична академія
м. Чернівці

Ключові слова: гіпербароксія, даларгін, експериментальний, перитоніт, глутатіонова система.

Резюме. Вивчено стан глутатіонової системи печінки білих щурів з гострим експериментальним перитонітом за умов поєднаного застосування даларгіну (500 мкг/кг добу) та гіпербароксії (60хв, 3 атм). Встановлено, що у щурів з гострим експериментальним перитонітом має місце пригнічення глутатіонової системи печінки: знижується рівень відновленого глутатіону та активність глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази. Застосування даларгіну самостійно та за умов гіпербароксії призводить до активації глутатіонової системи печінки щурів.

Вступ

Важливу патогенетичну роль у розвитку гострого експериментального перитоніту (ГЕП) займає активація процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окиснювальної модифікації білків (ОМБ), котрі є універсальним механізмом патогенезу запальних процесів у черевній порожнині [8, 9].

Гіпербароксія (ГБО) є високоефективним методом у комплексному лікуванні хворих на перитоніт (покращується життєздатність клітин кишкової стінки, підвищується бактерицидна активність плазми крові, зменшується токсикогенність мікроорганізмів, особливо анаеробів, підсилюється дія антибактеріальної терапії) [3]. Разом з позитивними ефектами ГБО навіть при звичайних терапевтичних режимах може призвести до розвитку окиснювального стресу і як його наслідок – активації ПОЛ і ОМБ [11]. У таких випадках у клініці використовують низькі терапевтичні режими гіпербароксії, скорочують термін перебування хворих у барокамері, але при цьому зменшується терапевтичний ефект ГБО.

Посиленому ПОЛ і біополімерів протидіють антиоксидантні системи організму, серед яких важливе місце займає глутатіонова система. До неї належать: відновлений глутатіон, ферменти, що беруть участь у його регенерації з окисненої форми (глутатіонредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа), ферменти обміну глутатіону (його синтезу і розпаду): глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза. Глутатіонова система захищає організм від згубної дії активних форм кисню (АФК) та ліпопероксидів і бере участь в інактивації різноманітних за хімічною природою речовин [7].

У комплексному лікуванні хворих на гострий перитоніт і панкреатит широко застосовується синтетичний опіоїдний пептид даларгін [1, 2, 5]. Проте поєднаний вплив даларгіну та ГБО на стан глутатіонової системи організму за умов ГЕП раніше не вивчався.

Мета дослідження

Дослідити ефект даларгіну та гіпербароксії на стан антиоксидантної системи печінки щурів.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Дослідження проводилися на безпородних білих щурах–самцях масою 180–200 г. Тварини перебували на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до їжі та води. Всі процедури проводилися згідно з міжнародними правилами гуманного ставлення до тварин. Щурів було поділено на 8 груп (I–IV групи – здорові тварини, V–VIII групи – щури з ГЕП). I групу (контроль) склали тварини, яким внутрішньом'язово вводили 1мл ізотонічного розчину натрію хлориду через 12 год; тваринам II групи внутрішньом'язово вводили даларгін по 50 мкг через 12 год; щурам III групи проводили сеанси ГБО по 60 хв під тиском чистого кисню через 24 год у сконструйованій нами портативній барокамері для дрібних тварин; IV групу склали здорові тварини, котрі отримували даларгін по 50 мкг і сеанси ГБО по 60 хв під тиском кисню в 3 атм через 24 год протягом чотирьох діб.

У тварин V–VIII груп відтворювали гострий експериментальний перитоніт шляхом введення в

очеревинну порожнину щура 1 мл 30%-ної фекальної зависі. Тваринам V групи вводили по 1 мл ізотонічного розчину натрію хлориду через 12 год протягом чотирьох діб; щури VI групи отримували внутрішньом'язово даларгін по 50 мкг через 12 год; тваринам VII групи проводили сеанси ГБО (60 хв, 3 атм) через 24 год; VIII група отримувала даларгін по 50 мкг через 12 год і сеанси ГБО (60 хв, 3 атм) також протягом чотирьох діб. Тривалість експерименту становила чотири доби. На п'яту добу тварин виводили з експерименту (пік гострого запального процесу в очеревинній порожнині) під ефірним наркозом шляхом декапітації. У зразках тканини печінки, яка була попередньо заморожена рідким азотом, визначали вміст відновленого глутатіону, активність глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонтрансферази (ГТ) і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФД) за описаними методами [9].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за непараметричними критеріями статистики, використовуючи критерій U (Вілкоксона-Манна-Уїтні).

Обговорення результатів дослідження

Дані таблиці свідчать про те, що введення здоровим щурам даларгіну по 50 мкг через 12 год призводить до збільшення вмісту в печінці відновленого глутатіону на 16%, активності глутатіонредуктази на 36%. Сеанси ГБО у третій групі тварин не впливали на вміст відновленого глутатіону, тоді як активність вивчених ферментів була вірогідно вища в порівнянні з контролем. Підвищення активності глутатіонпероксидази розглядається нами як індукція активності цього фермента у відповідь на підвищення парціального тиску кисню в печінці. Гострий експерименталь-

ний перитоніт призводить до порушень стану глутатіонової системи печінки щурів: зменшується вміст відновленого глутатіону на 27,4% та активність ГР, ГП та ГТ на 24,6%, 25,5% і 28,6% відповідно, а активність Г-6-ФД зростає на 26,8% відносно тварин контрольної групи. Отже, ГЕП супроводжується пригніченням синтезу відновленого глутатіону в печінці – кофактора для ферментів ГП та ГТ. Підвищення активності Г-6-ФД за умов перитоніту можна розглядати як адаптивну реакцію організму тварин, яка спрямована на підтримання рівня відновлених еквівалентів (НАДФН), необхідних для регенерації окисненого глутатіону ГР у його відновлену форму.

Гіпербароксія на тлі перитоніту не впливала на вміст у печінці відновленого глутатіону (він залишався зниженим на 22% у порівнянні з тваринами контрольної групи) та активність глутатіонредуктази (залишалась зниженою на 20,7%). За цих же умов експерименту активність ГП і ГТ досягала величин контролю, а глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність мала чітку тенденцію до нормалізації, хоча і залишалась вірогідно підвищеною на 13% відносно контролю.

Позитивний вплив ГБО на перебіг ГЕП спрямований у першу чергу на знешкодження пероксидів, посилене утворення яких має місце при цій патології.

Внутрішньом'язове введення тваринам даларгіну на тлі перитоніту (табл.) призводило до підвищення рівня відновленого глутатіону й активності ГР (на 20,4% і 21,6% відповідно) у порівнянні з перитонітом, хоча і залишалися вірогідно зниженими відносно тварин контрольної групи (на 24,9% і 8,3% відповідно). Не виявлено впливу даларгіну на порушену при ГЕП активність ГП, ГТ та Г-6-ФД.

Таблиця

Вплив даларгіну та гіпербароксії на стан глутатіонової системи печінки щурів за умов гострого експериментального перитоніту ($M \pm m$; $n=7$)

№ груп тварин	Показники, що вивчалися				
	Відновлений глутатіон, $\mu\text{моль/г}$ тканини	Глутатіонредуктаза, $\text{нмоль/хв} \cdot \text{мг білка}$	Глутатіонпероксидаза, $\text{нмоль/хв} \cdot \text{мг білка}$	Глутатіонтрансфераза, $\text{нмоль/хв} \cdot \text{мг білка}$	Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, $\text{нмоль/хв} \cdot \text{мг білка}$
I	7,21±0,24	4,11±0,25	135±13,2	42±5,4	6,47±0,23
II	8,35±0,28*	5,74±0,27*	151±7,2	44±4,2	7,01±0,19
III	7,22±0,25	5,38±0,30*	159±6,1*	67±7,2*	7,46±0,22*
IV	8,30±0,31*	6,31±0,32	167±8,4*	46±4,8	7,04±0,26
V	5,24±0,22*	3,10±0,16*	108±10,4*	30±3,6*	9,22±0,52*
VI	5,63±0,33*	3,26±0,17*	152±15,6**	53±5,2**	8,02±0,31**
VII	6,31±0,12**	3,77±0,16**	121±9,6*	35±2,3*	8,82±0,34*
VIII	6,84±0,34**	4,50±0,16**	173±12,7**	61±4,1**	8,0±0,28**

Примітка. * – вірогідні відмінності ($P \leq 0,05$) у порівнянні з контролем (I група);

** – вірогідні відмінності ($P \leq 0,05$) у порівнянні з перитонітом (V група).

Поєднана дія ГБО та даларгіну на тлі ГЕП у щурів підвищувала рівень відновленого глутатіону в печінці до рівня тварин контрольної групи переважно за рахунок впливу даларгіну (табл.). Активність Г-6-ФД (ферменту, який продукує відновлені еквіваленти) і ГР (ферменту, який утилізує відновлені еквіваленти для утворення відновленого глутатіону з його окисненої форми) не відрізнялася від показників контролю. Що стосується активності ГП та ГТ, то вона була підвищеною, як по відношенню до перитоніту, так і до контролю. Слід зазначити, що зростання активності цих ферментів у печінці при сукупній дії даларгіну і ГБО на тлі перитоніту відбувається, в основному, за рахунок ГБО.

Таким чином, проведені експериментальні дослідження засвідчили, що розвиток гострого перитоніту супроводжується істотним пригніченням глутатіонової системи захисту від активних форм кисню та продуктів ліпопероксидації.

Вплив ГБО на стан глутатіонової системи печінки тварин спрямований на індукцію активності ГП і ГТ, як результат дії "оксидативного стресу".

Антиоксидантна дія даларгіну реалізується шляхом підвищення в печінці рівня відновленого глутатіону та активності глутатіонредуктази. Максимальний позитивний вплив на стан глутатіонової системи на тлі експериментального перитоніту спостерігається при сукупній дії ГБО і даларгіну.

Висновки

1. Гострий експериментальний перитоніт у щурів пригнічує глутатіонову систему печінки: знижується рівень відновленого глутатіону та активність глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази.

2. Гіпербароксія на тлі перитоніту нормалізує активність глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази і не впливає на вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонредуктази.

3. Внутрішньом'язове введення даларгіну на тлі перитоніту призводить до підвищення в печінці концентрації відновленого глутатіону, активності глутатіонредуктази і не змінює активності глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

5. Поєднана дія гіпербароксії та даларгіну на тлі гострого експериментального перитоніту активізує глутатіонову систему печінки щурів.

Література. 1. Александрова В.А., Рычкова С.В. Даларгин – фармакологические и клинические аспекты // Педиатрия. – 1993. – №3. – С.101–104. 2. Боднар М.В. Эндогенные опиоидные системы и их роль в регуляции функции орга-

низма // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 1997. – №1. – С.39–53. 3. Васильков В.Г. Гипербарооксия и современные методы детоксикации в комплексной интенсивной терапии разлитого перитонита // Анестезиол. и реаниматол. – 1995. – №5. – С.23–27. 4. Глухов А.А., Банни И.Н. К вопросу о моделировании острого экспериментального перитонита // Бюл.л. эксперим.биологии и медицины. – 2000. – Т.129. №4. – С.478–480. 5. Демидов В.М., Сыновец О.А., Клементьев П.Н. Липосомальная форма даларгина оказывает антиоксидантное действие при остром панкреатите // Анналы хирург. гепатол. – 1998. – Т.3. №3. – С.256. 6. Короткина Р.Н., Фомченков Е.П., Бабкина Н.В. и др. Антиоксидантное действие даларгина на печень в условиях острого холестаза в эксперименте // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1990. – №4. – С.42–43. 7. Меццишен И.Ф. Механизм действия четвергичных аммониевых соединений (этония, тиюния, додепония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис... докт.биол.наук. – К., 1991. – 37 с. 8. Меццишен И.Ф. Глутатионовая система организма за умов норми та патології: Актова промова. – Чернівці: Мед.академія, 1999. – 26 с. 9. Меццишен И.Ф., Польовий В.П. Механизм окисловальной модификации белков // Бук. мед.вісник. – 1999. – Т.3, №1. – С.196–205. 10. Сыновец Н.А. Антиоксидантні ефекти комплексного застосування даларгіну за умов гострого експериментального перитоніту у щурів // Одеський мед. журн. – 1998. – №4. – С.9–12. 11. Sies H. Oxidative stress: oxidant and antioxidants // Experim. Physiol. – 1997. – Vol.82, №2. – P.291–295.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ДАЛАРГИНА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРБАРООКСИИ У КРЫС С ОСТРЫМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПЕРИТОНИТОМ

А.И. Ковтун, В.Н. Коновчук, И.Ф. Меццишен, С.А. Акеentieв, П.Н. Карпо, В.М. Лопатин

Резюме. Изучено состояние глутатионової системи печени белых крыс с острым экспериментальным перитонитом в условиях сочетанного применения даларгина (500 мкг/кг сутки) и гипербарооксии (3 атм, 60 мин). Установлено, что у крыс в условиях перитонита имеет место подавление глутатионової системы печени: снижается уровень восстановленного глутатиона и активность глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы. Применение даларгина самостоятельно и при гипербарооксии приводит к активации глутатионової системы крыс.

Ключевые слова: гипербарооксия, даларгин, экспериментальный перитонит, глутатионовая система.

THE ANTIOXIDANT EFFECTS OF DALARGIN UNDER CONDITIONS OF HYPERBARIC OXYGENATION IN RATS WITH ACUTE EXPERIMENTAL PERITONITIS

А.И. Ковтун, В.Н. Коновчук, И.Ф. Меццишен, С.А. Акеentieв, П.Н. Карпо, В.Н. Лопатин

Abstract. The effect of hyperbaric oxygenation and dalargin on the state of the glutathione system of the rat hepatic system has been studied against a background of acute experimental peritonitis. It has been established that a suppression of the hepatic glutathione system occurs under conditions of peritonitis: the level of reduced glutathione and the activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase and glutathione transferase subside. The joint action of hyperbaric oxygenation and dalargin provokes the activation of the protective glutathione system under condition of peritonitis.

Key words: hyperbaric oxygenation, dalargin, experimental peritonitis, glutathione system.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. – 2002. – Vol.1, №2. – P.15–17.

Надійшла до редакції 29.04.2002