

УДК 616.155.1-092:616.931.452

## О РОЛИ АКТИВАЦИИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИКОЗА

Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П.

*ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

**В статье представлены результаты исследования состояния процессов липопероксидации в динамике экспериментальной чумной интоксикации различной степени тяжести, достигаемой использованием эндотоксина в дозах, эквивалентных ЛД<sub>25</sub> и ЛД<sub>50</sub>. Установлена корреляционная взаимосвязь между интенсификацией процессов липопероксидации и степенью выраженности интоксикации у экспериментальных животных.**

Ведущая роль в патогенезе чумы, в частности в механизмах развития расстройств коагуляционного потенциала крови, геморрагического синдрома принадлежит эндотоксину *Y.pestis*, высокоректогенным компонентом которого является липополисахарид (ЛПС).

Как известно, ЛПС чумного микроба, обладает многочисленными биологическими эффектами, свойственными эндотоксинам других грамотрицательных бактерий, хотя и уступает им по выраженности летального эффекта [2, 4, 5]. В связи с этим несомненна значимость проводимых экспериментальных исследований по проблемам патогенеза чумной ЛПС-интоксикации, установлению возможностей депотенцирования цитопатогенных эффектов эндотоксина на состояние процессов свободнорадикального окисления. Последнее позволит экстраполировать полученные нами результаты исследований на молекулярно-клеточные механизмы развития других бактериальных инфекций, индуцированных грамотрицательными возбудителями, ведущие цитопатогенные эффекты которых определяются в значительной мере эндотоксином и его действующим фактором - ЛПС.

Анализ данных литературы свидетельствует о множественности возможных клеточных акцепторов чумного ЛПС [1]. Рецепция эндотоксина носит неспецифический характер и обеспечивается, в част-

ности, клетками крови и эндотелием сосудов, инициируя активацию внешнего и внутреннего механизмов формирования протромбиназы [7].

Закономерными проявлениями патогенного воздействия ЛПС на макроорганизм являются расстройства системной гемодинамики, регионарного кровотока, микроциркуляции. Последние обуславливают развитие циркуляторной гипоксии с формированием стереотипного комплекса структурной и функциональной дезорганизации клеток и субклеточных структур, включающего в частности набухание митохондрий, повышение проницаемости биомембран и т.д. [6]. Как известно, в условиях набухания митохондрий возникает возможность одно- и трехэлектронного восстановления кислорода в связи с утечкой электронов из дыхательной цепи. Последнее приводит к образованию высокоректогенных активных форм кислорода, обладающих способностью индуцировать процессы липопероксидации в биологических мембранах [3, 6].

Между тем до настоящего момента отсутствуют систематизированные данные о патогенетической значимости избыточного образования свободных радикалов в динамике чумной интоксикации и их дестабилизирующем системном воздействии на сосудистые стенки и клетки крови.

Целью нашей работы явилось изучение состояния процессов перекисного

окисления липидов (ПОЛ) в динамике чумной ЛПС-интоксикации по интегративным показателям содержания в крови гидроперекисей липидов (ГПЛ) и малонового диальдегида (МДА) и их роли в развитии аутоинтоксикации.

#### Материалы и методы

Для достижения поставленной цели использованы варианты моделирования чумной интоксикации, достигаемые внутрибрюшинным введением беспородным белым мышам обоего пола массой 18-20 г фракции ЛПС эндотоксина чумного микроба вакцинного штамма ЕВ в дозах, эквивалентных ЛД25 и ЛД50. Использование различных доз токсина позволило исследовать дозозависимые эффекты ЛПС чумного микроба. Токсин приготовлен в ФГУЗ «Российский НИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора города Саратова.

Исследования проведены в динамике интоксикации: легкой и среднетяжелой форм патологии, которые развивались соответственно спустя 1,5–2 и 4 часа после внутрибрюшинного введения эндотоксина экспериментальным животным.

Для оценки состояния активности процессов ПОЛ и степени аутоинтоксикации исследовали концентрации ГПЛ и МДА в плазме крови и эритроцитах, молекул средней массы (МСМ) сыворотки крови общепринятыми спектрофотометрическими методами. Стабильность биологических мембран клеток оценивалась по показателю перекисной резистентности эритроцитов.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведенных нами наблюдений в ранний период интоксикации, спустя 1,5-2 часа после внутрибрюшинного введения ЛПС экспериментальным животным, позволили выявить активацию процессов липопероксидации. Об этом свидетельствовало накопление ГПЛ и МДА в эритроцитарной массе, а также МСМ в сыворотке крови экспериментальных животных (таблица 1). Одновременно обнаружено снижение перекисной устойчивости эритроцитов, о чем свидетельствовало увеличение процента гемолизированных эритроцитов ( $p < 0,001$ ).

**Таблица 1.** Состояние процессов липопероксидации крови белых мышей при экспериментальной интоксикации, вызванной внутрибрюшным введением ЛПС в дозе, эквивалентной ЛД25

Показатели	Серии экспериментов		
	контроль	легкая стадия	среднетяжелая стадия
МДА (плазма) мкмоль/мл	0,89±0,03	0,80±0,04	1,53±0,06*
МДА (эритроцит) мкмоль/мл	2,23±0,03	3,18±0,14 *	4,24±0,11 *
ГПЛ (плазма) Ед/мл	1,55±0,05	1,44±0,06*	2,6±0,05*
ГПЛ (эритроцит) Ед/мл	21,2±0,4	32,8±0,8*	38,1±0,64*
МСМ (сыворотка) Ед/мл	0,2±0,004	0,3±0,007*	0,42±0,009*

В целях уточнения роли активации процессов липопероксидации в молекулярно-клеточных механизмах структурной дезорганизации эритроцитарных мембран проведены аналогичные исследования на высоте клинических проявлений изучаемой патологии, то есть спустя 4 часа с момента внутрибрюшинного введения ЛПС чумного микроба. В указанный период наблюдения возникали выраженная лихора-

дочная реакция, адинамиа животных и единичные летальные исходы.

Как оказалось, утяжеление клинических проявлений патологии коррелировало с прогрессирующей активацией процессов ЛПО. Об этом свидетельствовало накопление ГПЛ и МДА в эритроцитах экспериментальных животных не только по сравнению с показателями группы контрольных животных, но и по сравнению с содержанием указанных продуктов в эрит-

роцитарной массе на предыдущей стадии наблюдения. Утяжеление клинической картины интоксикации сочеталось и с прогрессирующим возрастанием уровня МДА и ГПЛ в плазме крови (таблица 1). Последнее возникает, по всей вероятности, как следствие чрезмерной свободнорадикальной дестабилизации биомембран клеток крови и тканей, что подтверждалось выраженным уменьшением перекисной резистентности эритроцитов ( $p < 0,001$ ). Выявленная нами закономерность возрастания содержания продуктов ПОЛ в плазме крови и эритроцитах, коррелирующего с тяжестью клинических проявлений патологии, свидетельствует о возможности использования показателей содержания МДА и ГПЛ в крови, как объективного критерия оценки тяжести течения ЛПС-интоксикации.

Целью последующих исследований явилось установление дозозависимых эффектов чумного ЛПС на состояние процессов липопероксидации. Для решения поставленной задачи моделирование чумной интоксикации достигалось внутри-

брюшинным введением ЛПС в дозе, эквивалентной ЛД50. Исследования проведены в сроки, аналогичные таковым в экспериментах, с использованием токсина в дозе ЛД25, то есть спустя 1,5-2 и 4 часа после введения ЛПС экспериментальным животным.

Как оказалось, при повышении дозы токсина, спустя 1,5-2 часа с момента введения токсина имело место утяжеление клинических проявлений патологии, о чем свидетельствовали одышка, выраженная адинамия. Одновременно отмечалось возрастание уровней МДА как в плазме, так и в эритроцитах, ГПЛ – в эритроцитах, МСМ – в сыворотке экспериментальных белых мышей, сочетающееся со снижением перекисной резистентности эритроцитов ( $p < 0,001$ ). Аналогичная закономерность накопления продуктов липопероксидации в плазме крови и эритроцитах и снижения перекисной устойчивости эритроцитов, была выявлена и на стадии среднетяжелых клинических проявлений интоксикации (спустя 4 часа после введения токсина) (таблица 2).

**Таблица 2.** Состояние процессов липопероксидации крови белых мышей при экспериментальной интоксикации, вызванной внутрибрюшинным введением «мышинного» токсина в дозе, эквивалентной ЛД50

Показатели	Серии экспериментов		
	контроль	легкая стадия	среднетяжелая стадия
МДА (плазма) мкмоль/мл	0,89±0,03	1,14±0,04*	1,24±0,05*
МДА (эритроцит) мкмоль/мл	2,23±0,03	5,57±0,05*	6,35±0,17*
ГПЛ (плазма) Ед/мл	1,55±0,05	1,66±0,06	3,58±0,04*
ГПЛ (эритроцит) Ед/мл	21,2±0,4	37,9±0,66*	48,3±2,0*
МСМ(сыворотка) Ед/мл	0,2±0,004	0,34±0,008*	0,53±0,003*

Примечание: звездочками отмечены достоверные различия с соответствующими показателями контрольной серии: \* -  $p < 0,001$ .

### Выводы

1. Результаты исследований позволяют заключить, что эфферентным звеном цитопатогенных эффектов ЛПС чумного микроба является активация свободнорадикальной дестабилизации биологических мембран клеток различной структурной организации и функциональной значимости.

2. Выявлены дозозависимые эффекты ЛПС чумного микроба на состояние процессов свободнорадикального окисления в биологической системе, коррелирующие с тяжестью клинических проявлений патологии.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Гусева, Н.П. ЛПС чумного микроба как индуктор апоптоза лимфоцитов

- крови и перитонеальных макрофагов / Н.П. Гусева, А.Л.Кравцов, М.Н.Киреев // Проблемы особо опасных инфекций: Сб.науч.тр. – Саратов, 2003. – Вып. 86. – С.117-123.
2. Домарадский, И.В. Чума./ И.В.Домарадский. – М., «Медицина»; 1998. – С. 33-34.
3. Ленинджер, А. Молекулярные основы структуры и функции клетки. Биохимия. / А. Ленинджер. - М.: «Мир»; 1999. – С. 390-422.
4. Наумов. А.В. Иммунология чумы / А.В. Наумов, М.Ю. Ледванов, И.Г.Дроздов. – Саратов; 1992. – С.19-22.
5. Сварваль, А.В. Липополисахарид иерсиний и его биологическая активность / А.В.Сварваль, Г.Я.Ценева, О.А.Шендерович // Журн. микробиол. – 2006. - №3. – С.100-104.
- 6.Скулачев, В.П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода / В.П. Скулачев // Соровский Образовательный Журнал. – 2001. - Т.7; №6. – С. 4-10.
7. Tapper, H. Modulation of hemostasis mechanisms in bacterial infections diseases / H. Tapper, H. Herwald // Blood. – 2000. – Vol. 96. - №7. - P. 2329-2337.

### **ON LIPID PEROXIDATION PROCESS ACTIVATION ROLE IN BACTERIAL ENDOTOXICOSIS PATHOGENESIS**

Afanasyeva G.A., Chesnokova N.P.

*Saratov state medical university of Roszdrav*

Experimental plague intoxication of different degrees of severity was reached by par-enteral administration to mice of an endotoxin in a dose equivalent to LD50 and LD25. Correlation between the intensification of lipoperoxidation and the degree of autointoxication severity of the blood was established.