

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

Денисова Евгения Владимировна

канд. биол. наук, доцент

Бирюкова Ирина Владимировна

канд. техн. наук, доцент

Лобанова Юлия Валерьевна

студентка

Институт живых систем ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский

федеральный университет»

г. Ставрополь, Ставропольский край

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРО- И ЛИПОПЕРЕКИСЕЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭНДОТОКСИКАЦИИ

Аннотация: *проведено определение концентрации продуктов ПОЛ при моделировании экспериментальной хронической эндотоксикации на 20 крысах обоего пола в течение 4 недель. Выявлено достоверное увеличение показателей по сравнению с контролем.*

Ключевые слова: *эндогенная токсикация, модель хронической индуцированной эндотоксемии, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, метод Ramos-Vasconcelos, ксиленоловый оранжевый.*

Эндогенная интоксикация – это синдром, характеризующийся накоплением в тканях и биологических жидкостях эндогенных токсических субстанций, вызывающих окислительный стресс. Моделирование процессов хронической эндотоксикации и исследование перекисного окисления липидов (ПОЛ) на лабораторных животных привлекает внимание широкого круга ученых и не теряет своей актуальности.

Целью нашего исследования было изучение изменений параметров ПОЛ у экспериментальных животных в условиях хронической эндотоксикации. Методики проведения анализов следующие:

1. Определение продуктов ПОЛ с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-позитивных веществ).

2. Определение диеновой конъюгации (ДК) ненасыщенных высших жирных кислот.

3. Определение гидро- и липоперекисей методом Ramos-Vasconcelos с ксиленоловым оранжевым.

Экспериментальная часть выполнена на 20 крысах обоего пола.

Все животные проходили 2-недельную адаптацию до начала эксперимента, получали одинаковое питание и находились на естественном режиме освещения в течение всего эксперимента.

Очень важным является исследование изменений при длительно протекающей хронической эндотоксемии подобно той, которая развивается у пациентов с острым, подострым и хроническим сепсисом. Поэтому была проведена оценка применимости методов анализа продуктов ПОЛ на модели хронической индуцированной эндотоксемии у крыс в течение 4 недель.

Животные были разбиты на две группы. Контрольная группа (4 самки – 201–263 г; 6 самцов – 285–366 г) – интактные животные, получали внутрибрюшинно по 1 мл физиологического раствора 2 раза в неделю в течение 4 недель. И экспериментальная группа (3 самки – 215–252 г; 7 самцов – 275–372 г) – животные, которым вводили внутрибрюшинно раствор эндотоксина в концентрации 0,285 мг/кг 2 раза в неделю в течение 2 недель, затем двухкратная доза 2 раза в неделю в течение 1 недели, потом пятикратная доза 2 раза в неделю в течение 1 недели.

Забор крови осуществлялся из подъязычной вены 1 раз в неделю в промежутках между введением препаратов. Интервал между последней инъекцией и забором биоматериала составлял 3 дня. Кровь самотеком собиралась в пластиковые пробирки типа Eppendorf с 150 мкл 3,8% цитрата натрия до отметки 1,5 мл.

Вследствие индукции ПОЛ клеточных мембран и липопротеинов крови в организме накапливаются различные дериваты полиненасыщенных жирных кислот. Из продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), основную массу составляет малоновый диальдегид (МДА). Возможна частичная реакция ТБК с различными альдегидами, аминокислотами, веществами, содержащими SH-,

NH₂-группы, поэтому при использовании метода говорят об изменении концентрации не МДА, а ТБК-реактивных продуктов или МДА-подобных соединений (табл. 1).

Таблица 1

Воспроизводимость различных методик определения продуктов ПОЛ

Метод	ДК плазмы, нмоль/мл	ДК эритроц., нмоль/мл	ДК печени, нмоль/г	МДА плазмы, нмоль/мл	МДА эритроц., нмоль/мл	МДА печени, нмоль/г
4	3,06±0,097	13,2±0,482	47,0±1,14	11,6±0,068	53,8±0,914	36,7±0,656
3	3,24±0,101	14,3±0,168	85,5±3,21	13,4±0,107	54,2±3,30	50,6±1,52
2	2,68±0,127	16,3±0,655	87,9±2,32	13,1±0,051	33,9±1,48	32,8±0,362

По результатам полученных исследований, анализ МДА методиками 2 и 3 завышен по сравнению с 4 методикой, где нет влияния мешающих компонентов.

Поэтому для дальнейшего эксперимента мы остановились только на определении гидро- и липоперекисей методом Ramos-Vasconcelos с ксиленоловым оранжевым.

Пероксидные компоненты анализируемой пробы окисляют железо, входящее в состав реакционной смеси, о чем свидетельствует изменение цвета индикатора. Метод прост, не требует жестких рН, замораживания или длительного нагревания, как в остальных методиках (табл. 2).

С помощью этого метода в течение 4 недель оценивали изменение биохимических показателей ПОЛ у крыс по сравнению с контрольной группой (рис. 1).

Таблица 2

Условия проведения анализа продуктов ПОЛ

Методика	рН	Температура, °С	Время, час	Реакция с другими молекулами
1	9–10	25	1–2	Да
2	2–3	0 90–100	4–5	Да
3	2–3	25	2–3	Нет
4	7	25	0,5	Нет

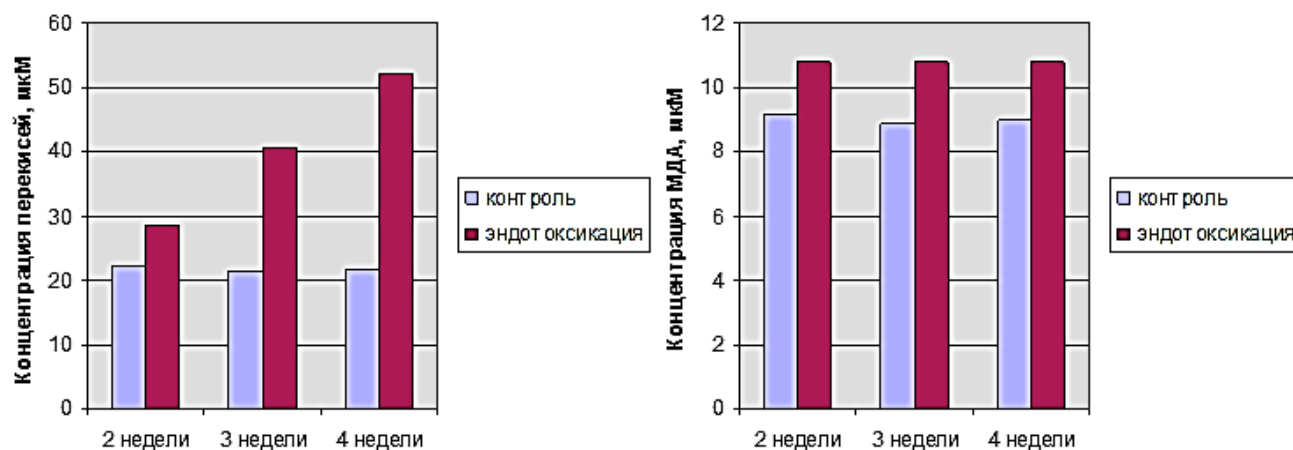


Рис. 1. Биохимические показатели крови крыс в эксперименте

В результате выявили достоверное увеличение общего содержания гидро- и липоперекисей на 27,72% на 2 неделе; 89,81% на 3 неделе и 140,46% на 4 неделе по сравнению с контролем. Уровень МДА в течение месяца увеличившись, оставался на прежнем уровне (17–22%).