

КОРРЕКЦИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБИОЗА С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕКСИДОЛА

Ю. А. Авдеева, П. В. Калуцкий, В. А. Королев, О. А. Медведева, Н. А. Вережкина, А. П. Калуцкий

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет»

Поступила в редакцию 19.05.2016 г.

Аннотация. Изучено влияние коррекционного использования мексидола в условиях экспериментального дисбиоза на пероксидное окисление липидов и систему антиоксидантной защиты в плазме крови и ткани толстой кишки. О состоянии системы пероксидного окисления липидов судили по содержанию промежуточных и конечных продуктов (ацилгидроперекиси и малоновый диальдегид), системы антиоксидантной защиты – по активности ферментов: супероксиддисмутазы и каталазы. Лечение мексидолом приводит к нормализации исследуемых показателей в условиях экспериментального дисбиоза. Полученные данные позволяют рекомендовать мексидол в качестве средства коррекции негативных последствий окислительного стресса при возникновении лекарственного дисбиоза.

Ключевые слова: дисбиоз; мексидол; пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система.

Abstract. Studied use of mexidol in conditions of experimental dysbiosis for correctional in lipid peroxidation and antioxidant defense system in blood plasma and tissues of the colon. State of lipid peroxidation activity was judged about by the intermediate and final products (acylhydroperoxide and malonic dialdehyde), antioxidant defense system – by enzyme activity: superoxide dismutase and catalase. Treatment with mexidol leads to normalization of the studied parameters in experimental dysbiosis. Data obtained allow to recommend mexidol as a means of correcting the negative effects of oxidative stress in the emergence of drug dysbiosis.

Keywords: dysbiosis; mexidol, lipid peroxidation, antioxidant system.

Известно, что свободные радикалы в физиологических условиях выполняют важную регуляторную роль в окислительном превращении эндогенных субстратов, в окислительном разрушении ксенобиотиков, в защитной функции от микробов, в деструкции собственных поврежденных или ставшими аномальными клеток, а также в биохимических реакциях, регулирующих клеточный рост, пролиферацию, дифференцировку, ангиогенез, эмбриогенез и т.д. Понятие окислительный стресс (ОС) определяется как состояние, при котором активированные кислородные метаболиты оказывают токсическое действие вследствие их повышенного образования или в результате нарушений механизмов антиоксидантной защиты [1, 2].

Среди основных причин развития дисбиоза выделяют стрессы, неблагоприятное воздействие окружающей среды, прием лекарственных препаратов, заболевания гастроинтестинального тракта, острые кишечные инфекции, нерациональное питание, нарушения иммунитета, оперативные вмешательства [3, 4].

Качественно и количественно измененная кишечная микробиота становится источником интоксикации и сенсибилизации, отягощает патологические процессы в кишечнике, препятствует регенеративным процессам, представляет собой важное звено в сложной цепи хронизации заболеваний желудочно-кишечного тракта [5].

Необходимо своевременно мобилизовать антиоксидантную защиту организма, которая участвует в снижении уровня реакционноспособных соединений, препятствуя тем самым проявлению их токсического действия в тканях [6].

© Авдеева Ю. А., Калуцкий П. В., Королев В. А., Медведева О. А., Вережкина Н. А., Калуцкий А. П., 2017

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось изучение влияния препарата с антиоксидантными свойствами мексидол на интенсивность процессов перексидного окисления липидов (ПОЛ) и систему антиоксидантной защиты (АОЗ) при коррекции экспериментального дисбиоза.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследование проводилось на 30 белых половозрелых мышах линии BALB/c, массой 18-20 г, которых содержали на стандартном пищевом рационе в условиях вивария. Все животные были разделены на три группы по 10 особей. Введение препаратов животным осуществляли после определения необходимой дозы, исходя из рекомендуемой в аннотации на каждый препарат среднесуточной дозы для человека (в соответствии с межвидовым переносом доз с учетом удельной поверхности тела) [7; 8]. Первая группа – контрольная (интактные мыши). Вторую группу составили животные, которым моделировали лекарственный дисбиоз путём внутрибрюшинного введения раствора гентамицина в концентрации 80 мкг/мл в пересчете на массу животного (0.02 мл) [9 – 11], 1 раз в сутки, в течение 5 дней. Третью группу составили мыши, которым вводили антиоксидант мексидол для лечения путем внутримышечного введения препарата в дозе 2.06 мг (0.04 мл) в течение 10 суток после окончания введения гентамицина. Исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986). Животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом.

У мышей контрольной группы, а также экспериментальных групп после окончания введения гентамицина и мексидола проводили изучение состояния ПОЛ и АОЗ в плазме крови и колоноцитах толстой кишки.

Определение содержания продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА), ацилгидропероксидов (АГП) и активности ферментов АОЗ – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы в плазме крови

проводили спектрофотометрически, кровь животных помещали в пробирки с гепарином, центрифугировали и забирали верхнюю часть отделенной взвеси. Для анализа содержания продуктов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов брали навеску ткани толстой кишки массой 100 мг гомогенизировали в 1 мл 0.025 М трис-НСL буфера (рН 7.4).

О состоянии ПОЛ судили по содержанию АГП и МДА, о состоянии системы АОЗ – по активности ферментов СОД и каталазы [12, 13, 14, 15].

Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t-критерию Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых параметров с помощью программы Statistica 6.0 [16]. Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные (таблица 1) показывают, что активность фермента каталазы при экспериментальном дисбиозе снизилась на 22.7% ($p \leq 0.05$) в плазме крови и на 23.4% ($p \leq 0.01$) в колоноцитах по сравнению с контролем. Аналогичная динамика наблюдалась при изучении изменения активности фермента СОД в условиях экспериментального дисбиоза – на 18.7% ($p \leq 0.01$) в плазме и на 48.6% ($p \leq 0.001$) в колоноцитах.

Лечение мексидолом способствовало повышению активности каталазы в плазме крови на 68.7% ($p \leq 0.001$) и на 78.3 % ($p \leq 0.001$) в колоноцитах. Повышение активности фермента СОД обнаружено в плазме крови на 46.9% ($p \leq 0.001$), в колоноцитах на 111.2 % ($p \leq 0.001$).

При изучении процессов липопероксидации установлено, что содержание МДА при экспериментальном дисбиозе увеличилось в 1.7 раза ($p \leq 0.001$) в плазме крови и в 2,0 раза ($p \leq 0.001$) в колоноцитах по сравнению с контрольной группой животных. Концентрация АГП в условиях дисбиоза также характеризовалась увеличением в 1.4 раза ($p \leq 0.01$) в плазме, в колоноцитах – в 2.3 раза ($p \leq 0.001$). В свою очередь коррекция антиок-

Таблица 1.

Активность ферментов АОЗ при экспериментальном дисбиозе и лечении мексидолом

Группа животных	Активность каталазы, (M±m)		Активность СОД, (M±m)	
	Плазма, мкат/мл	Колоноциты, мкат/г ткани	Плазма, у.е.	Колоноциты, у.е.
Контроль	11.87±1.11	13.88±0.85	14.47±0.74	15.85±1.03
Дисбиоз	9.18±0.58*	10.63±0.54**	11.77±0.62**	8.14±0.87***
Лечение дисбиоза	15.49±1.25 ^{xxx}	18.95±1.23 ^{xxx}	17.30±0.95 ^{xxx}	17.19±0.95 ^{xxx}

Примечание: * – $p \leq 0.05$ по сравнению с контрольной группой, ** – $p \leq 0.01$ по сравнению с контрольной группой, *** – $p \leq 0.001$ по сравнению с контрольной группой ^{xxx} – $p \leq 0.001$ по сравнению с группой дисбиоз.

Таблица 2.

Содержание продуктов ПОЛ при экспериментальном дисбиозе и лечении мексидолом

Группа животных	Содержание МДА, (M±m)		Содержание АГП, (M±m)	
	Плазма, мкмоль/л	Колоноциты, мкмоль/г ткани	Плазма, у.е.	Колоноциты, у.е.
Контроль	2.41±0.18	2.32±0.19	0.86±0.07	0.35±0.04
Дисбиоз	3.98±0.31***	4.67±0.37***	1.24±0.10**	0.82±0.06***
Лечение дисбиоза	2.44±0.19 ^{xxx}	2.34±0.21 ^{xxx}	0.63±0.05 ^{xxx}	0.26±0.02 ^{xxx}

Примечание: ** – $p \leq 0.01$ по сравнению с контрольной группой, *** – $p \leq 0.001$ по сравнению с контрольной группой; ^{xxx} – $p \leq 0.001$ по сравнению с группой дисбиоз.

сидантным препаратом способствовала снижению содержания МДА и АГП в плазме крови в 1.6 раза ($p \leq 0.001$) и в 2.0 раза ($p \leq 0.001$), соответственно. Снижение АГП обнаружено в колоноцитах в 3.2 раза ($p \leq 0.001$), концентрация МДА в колоноцитах снизилась в 2.0 раза ($p \leq 0.001$) (таблица 2).

Таким образом, создание антибиотик-ассоциированного дисбиоза у животных привело к негативным изменениям в системе АОЗ организма – снизилась активность основных ферментов, формирующих первую линию защиты (СОД и каталаза), что способствовало увеличению содержания в исследуемом биоматериале продуктов ПОЛ (АГП и МДА), как в эпителиоидных клетках толстой кишки, так и в плазме крови. Стоит отметить, что нарушение АОЗ было более выражено в колоноцитах, что может быть обусловлено как тем, что при дисбиозе в микробиоте толстой кишки происходит изменение численности отдельных видов микроорганизмов [17], соответственно, и накопление продуктов их метаболизма, так и действием самого гентамицина.

Лечение мексидолом приводит к нормализации исследуемых показателей и устранению негативных последствий ОС при возникновении лекарственного дисбиоза. Это позволяет полагать, что использование мексидола способствует восстановлению прооксидантно-антиоксидантного баланса организма, способствует увеличению активности ферментов системы АОЗ и снижению содержания продуктов ПОЛ, что свидетельствует о нормализации процесса ПОЛ в организме животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушения микробиоценоза кишечника являются предвестниками изменений физиологического статуса организма, связанных с угнетением иммунобиологической защиты организма, его аллергизацией, хронической интоксикацией, повышением восприимчивости к инфекционным заболеваниям. На фоне дисбиоза заболевания приобретают рецидивирующий характер с развитием

осложнений [18]. При коррекции антиоксидантным препаратом мексидол последствий экспериментального дисбиоза, у животных наблюдается статистически значимое увеличение активности ферментов антиоксидантной системы – каталазы и СОД, ингибирующих инициацию ПОЛ, что подтверждает уменьшение содержания продуктов ПОЛ – МДА и АГП как в плазме крови, так и в колоноцитах, что свидетельствует о своевременной мобилизации антиоксидантной защиты организма [6, 19].

Результаты исследования позволяют рекомендовать антиоксидантный препарат мексидол для коррекции негативных последствий для организма ОС при возникновении антибиотик-ассоциированного дисбиоза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коган А.Х. Модулирующая роль CO₂ в действии активных форм кислорода / А.Х. Коган, С.В. Грачев, С.В. Елисеева. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — 224 с.
2. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б.Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков. — М.: Слово, 2006. — 556 с.
3. McFarland L. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic associated diarrhea / L. McFarland // Diagn. Dis. — 1998. — Vol.16. — P. 292-307.
4. Костюкевич О.И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза / О.И. Костюкевич // Русск. мед. журн. — 2011. — № 5. — Т. 19. — С. 304-308.
5. Ильенко Л.И. Дисбактериоз кишечника у детей / Л.И. Ильенко, И.Н. Холодова // Лечебное дело. — 2008. — № 2. — С. 3-13.
6. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга / Е.И.Гусев, В.И. Скворцова. — М.: Медицина, 2001. — 328 с.
7. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых

фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. — М.: Медицина, 2005. — 832 с.

8. Каркищенко Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / Н.Н. Каркищенко. — М.: Профиль, — 2010. — 358 с.

9. Кашкин К.П. Иммунная реактивность организма и антибиотическая терапия / К.П. Кашкин, З.О. Караев. — Л.: Медицина Ленингр. отделение, 1984. — 200 с.

10. Чичерин И.Ю. Микрофлора кишечника белых мышей и морских свинок при экспериментальном антибиотико-ассоциированном дисбактериозе и возможность ее коррекции пребиотиком стимбифид / И.Ю.Чичерин, И.В. Дармов, И.П. Погорельский, И.А. Лундовских // Журнал инфектологии. — 2012. — Т.4, № 1. — С. 75-80.

11. Гапон М.Н. Состояние микробиоценоза толстой кишки и местных метаболических процессов при коррекции экспериментального дисбактериоза жидкой и сухой формами бифидум-бактерина / М.Н. Гапон, Л.Н. Терновская, О.В. Денисенко // Кубанский научный медицинский вестник. — 2014. — №1(143). — С. 67-70.

12. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидропероксидов липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкородная // Лаб. дело. — 1983. — №3. — С. 33-36.

13. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова,

И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. — 1988. — №1. — С. 16-19.

14. Кушманова О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / О.Д. Кушманова, Е.М. Ивченко. — М.: Медицина, 1983. — 272 с.

15. Строев В.А. Практикум по биологической химии / В.А. Строев, В.Г. Макарова. — М.: Высш. шк., 1986. — 230 с.

16. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica / О. Ю. Реброва. — М.: МедиаСфера, 2006. — 312 с.

17. Романова Е.И. Дисбиозы кишечника: учебно-методическое пособие по инфекционным болезням для студентов медицинских университетов лечебного, медико-диагностического факультетов по специальностям лечебное дело, медико-профилактическое дело / Е.И. Романова. — Гомель.: Гомельский государственный медицинский университет, 2009. — 40 с.

18. Микробиоценоз кишечника: его нарушения и коррекция с использованием бактисубтилла / П.Л. Щербаков [и др.] // Педиатрия. — 1998. — № 5. — С. 99-103.

19. Клиническая эффективность и антиоксидантная активность мексидола при хронических цереброваскулярных заболеваниях / И.Н.Смирнова [и др.] // Клиническая фармакология. Нервные болезни. — 2006. — № 1. — С. 33-37.

ООО «Курскхимволокно»

Авдеева Ю. А., Начальник центральной лаборатории

Тел.: +7 919 214-31-80

E-mail: juliana16.12@mail.ru

KurskKhimvolokno

Avdeeva Yu. A., Head of the Central Laboratory

Ph.: +7 919 214-31-80

E-mail: juliana16.12@mail.ru

Курский государственный медицинский университет

Калуцкий П. В., доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии

Тел.: +7 910 730-86-30

E-mail: pvk62@mail.ru

Kursk State Medical University

Kalutskiy P. V., M.D., DSci., Full Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology

Ph.: +7 910 730-86-30

E-mail: pvk62@mail.ru

Королев В. А., доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии

Тел.: +7 903 875-22-29

E-mail: medecoll@yandex.ru

Korolev V. A., PhD., DSci., Associate Professor, Professor of the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology

Ph.: +7 903 875-22-29

E-mail: medecoll@yandex.ru

*Медведева О. А., доктор биологических наук,
доцент, профессор кафедры микробиологии, ви-
русологии, иммунологии*

Тел.: +7 910 312-22-90

E-mail: olgafrida@rambler.ru

*Калуцкий А. П., аспирант кафедры хирургиче-
ских болезней ФПО*

Тел.: +7 910 316-00-20

E-mail: lex91@mail.ru

*Medvedeva O. A., PhD., DSci., Associate
Professor, Department of Microbiology, Virology,
Immunology*

Tel.: +7 910 312-22-90

E-mail: olgafrida@rambler.ru

*Kalutsky A. P., post-graduate student of the
Department of Surgical Diseases*

Ph.: +7 910 316-00-20

E-mail: lex91@mail.ru