
Оригинальная статья

Исследование влияния изотопного d/h обмена на состояние прооксидантно-антиоксидантной системы у крыс при моделировании и коррекции эндотоксикоза различного генеза

Барышева Е.В.

Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России

Поступила в редакцию 19 апреля 2018 г., Принята в печать 16 мая 2018 г.

© 2018, Барышева Е.В.

© 2018, Психосоматические и интегративные исследования

Резюме:

Целью данного исследования являлась оценка влияния воды с модифицированным изотопным D/H составом с пониженным содержанием дейтерия на прооксидантно-антиоксидантную систему и функциональную систему детоксикации при экспериментальном моделировании эндогенной интоксикации у лабораторных животных с различным первичным механизмом развития: продукционным, резорбционным. Были проведены эксперименты по формированию окислительного стресса с различным первичным механизмом развития (экспериментальный аллоксановый диабет), экспериментальное моделирование хронического абсцесса, а также была изучена интенсивность реакций изотопного обмена (D/H) в плазме и тканях органов систем детоксикации. С помощью экспериментального моделирования у животных эндогенной интоксикации продемонстрированы различия в эффективности пищевого рациона, включающего воду с модифицированным изотопным составом с пониженным содержанием дейтерия (40 ppm), при коррекции нарушений в работе прооксидантно-антиоксидантной и детоксицирующей систем в зависимости от первичного механизма развития эндотоксикоза.

Ключевые слова: эндотоксикоз, дейтерий, прооксидантно-антиоксидантная система.

Библиографическая ссылка: Барышева Е.В. Исследование влияния изотопного d/h обмена на состояние прооксидантно-антиоксидантной системы у крыс при моделировании и коррекции эндотоксикоза различного генеза. Психосоматические и интегративные исследования 2018; 4: 0204.

Original article

Influence of isotopic d/h exchange over status of the prooxidant-antioxidant system in rats during modeling and correction of various genesis endotoxemia

Barysheva E.V.

Kuban State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Received on 19 April 2018, Accepted on 16 May 2018

© 2018, Barysheva E.V.

© 2018, Psychosomatic and Integrative Research

Summary:

The research goal is to evaluate the effect of water with a modified isotope D/H composition with depleted deuterium on prooxidant-antioxidant system and detoxification functional system in experimental modeling of endogenous intoxication in laboratory animals with different primary mechanism of development: production or resorption. The experiments were conducted on formation of oxidative stress with different primary development mechanism (experimental alloxan diabetes), experimental modeling of chronic abscess, as well as intensity of isotope exchange reactions (D/H) in plasma and tissues of detoxification systems has been studied. Using experimental modeling of endogenous toxicity in animals, we have demonstrated the differences in dietary intake efficiency comprising water with modified isotopic composition (40 ppm), while correcting disturbances in antioxidant-prooxidant and detoxifying systems, depending on the primary development mechanism of endotoxemia.

Keywords: endotoxemia, deuterium, prooxidant-antioxidant system.

Cite as Barysheva E.V. Influence of isotopic d/h exchange over status of the prooxidant-antioxidant system in rats during modeling and correction of various genesis endotoxemia. Psychosomatic and Integrative Research 2018; 4: 0204.

Введение

Весомый вклад в развитие многих патологических состояний вносит повышение интенсивности свободнорадикального окисления (СРО), что может быть также связано с поступлением в организм различных экологически неблагоприятных факторов, в том числе ионов тяжелых металлов, содержание которых нередко повышено в промышленных регионах с развитой транспортной инфраструктурой. Усиленное образование свободных радикалов и реактивных молекул приводит к повреждению клеточных структур, и сопровождается повреждением нуклеиновых кислот [1], деформацией мембранных липопротеиновых комплексов клеточных мембран, изменением физико-химических свойств и активности мембраносвязанных ферментов, в частности ионных каналов, вызывая необратимые изменения в тканях и органах.

Антиоксидантная система является одной из главных составляющих неспецифической защиты от свободнорадикального окисления. Она представлена ферментным и низкомолекулярным звеньями и участвует в поддержании физиологического баланса прооксидантных и антиоксидантных факторов в организме [2].

Активация свободнорадикальных процессов в условиях патологии приводит к нарушению существующего в физиологических условиях баланса между антиоксидантными и прооксидантными системами с преобладанием прооксидантных факторов [3], которые начинают оказывать повреждающее действие на молекулярном и клеточном уровне, что сопровождается комплексом типовых патологических изменений в органах и тканях, называемых термином "окислительный стресс". Одновременно с развитием окислительного стресса в организме часто происходит усиление распада биологических субстратов, что приводит к накоплению эндотоксических субстанций и формированию синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ [4]). Эндогенная интоксикация как стадийный процесс имеет определенные особенности в зависимости от инициирующего ее фактора на самых ранних стадиях своего развития, но по мере развития вторичной аутоагрессии приобретает универсальный характер.

Экспериментальное моделирование на животных СЭИ, позволяет выявить реакцию основных систем организма на накопление эндотоксических субстанций в биологических жидкостях, определить связанные с этим ведущие патобиохимические изменения в организме [5]. Такой подход повышает эффективность разрабатываемых и применяемых в дальнейшем способов коррекции нарушений метаболизма при СЭИ, в том числе позволяет индивидуализировать лечебные и профилактические мероприятия в зависимости от первичного механизма развития СЭИ [6].

На сегодняшний день потребление воды с модифицированным изотопным D/H составом (ВМИС) с пониженным содержанием дейтерия (ССД) является одним из наиболее перспективных способов коррекции антиоксидантного потенциала организма [7]. Вода $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$ в природных условиях не встречается. Ее производство сопряжено с различными технологическими процессами [8, 9]. Концентрация молекул воды, содержащих тяжелые изотопы водорода, в природной воде колеблется в пределах, зафиксированных в основном международном стандарте изотопного состава гидросферы – SMOW (Standard Mean Ocean Water), который определен по изотопному составу глубинной воды Мирового океана и содержание дейтерия в такой воде составляет 155,76 ppm. Кроме того, показано, что содержание дейтерия в соках из фруктов, выращенных в различных регионах зависит от их географии [10]. ВМИС ССД в условиях формирования в организме окислительного стресса и СЭИ способна приводить к уменьшению интоксикации и повышению антиоксидантного потенциала органов и тканей. Введение в пищевой рацион больных с эндогенной интоксикацией ВМИС ССД может ускорять реакции изотопного обмена, стимулируя тем самым органы функциональной системы детоксикации (печень, почки) за счет влияния на термодинамические и термокинетические показатели макромолекул (прежде всего, белков, нуклеиновых кислот), изменяя скорость биохимических процессов в клетке [11-13]

Таким образом, исследование функциональной активности прооксидантно-антиоксидантной системы при формировании в организме эндогенной интоксикации с различным первичным механизмом развития (продукционным и резорбционным) позволит расширить представление о роли нарушений окислительного метаболизма в их патогенезе, а также сделать возможным изучение эффективности корректирующих мероприятий, осуществляемых с помощью реакций изотопного D/H обмена, при моделируемых патофизиологических состояниях.

Цель исследования – оценить влияние воды с модифицированным изотопным D/H составом с пониженным содержанием дейтерия на прооксидантно-антиоксидантную систему и функциональную систему детоксикации при экспериментальном моделировании эндогенной интоксикации у лабораторных животных. Установить особенности изменения биохимических показателей, характеризующих уровень окислительного стресса, во время формирования эндогенной интоксикации с различным первичным механизмом развития: продукционным, резорбционным.

Материалы и методы

Все эксперименты на животных были проведены в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ № 267 от 19.06.2003г. «Об утверждении правил лабораторной практики», требованиями Приказа МЗ СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных».

Были проведены эксперименты по формированию окислительного стресса с различным первичным механизмом развития (экспериментальный аллоксановый диабет (продукционный), экспериментальное моделирование хронического абсцесса (резорбционный), для определения влияния ВМИС ССД на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса и биохимических показателей при ХЭТ и в норме, а также была определена (изучена) интенсивность реакций изотопного обмена (D/H) в плазме и тканях органов систем детоксикации.

Эксперименты были выполнены на крысах-самцах линии Вистар в возрасте 4-6 месяцев (масса тела 240 ± 50 г, колебание массы тела по группе ± 10 г). Все животные содержались в виварии при сходных условиях в отношении температуры, влажности, освещения, а также получали одинаковый пищевой рацион. Лабораторные крысы находились в виварии при температуре воздуха от $+20$ до $+22$ °С, влажности – не более 50%, в световом режиме – день-ночь. Животных размещали в одинаковых пластиковых клетках и содержали на стандартном рационе (крупы, мясо и овощи). Состояние крыс до начала эксперимента было в границах физиологической нормы: животные были активны, мышечный тонус в удовлетворительном состоянии; шерсть гладкая, блестящая; кожный покров чистый, эластичный; видимые слизистые оболочки бледно-розового цвета, без признаков воспалительных реакций; аппетит хороший; мочеиспускание и дефекация без нарушений.

Наблюдение за состоянием лабораторных животных проводилось в течение всего эксперимента. Ежедневно, примерно в одно и то же время, до кормления животных производился клинический осмотр, взвешивание животных и определение объема потребления ВМИСС ССД (в расчете на одну крысу), кроме того проводилось наблюдение за физической активностью животных, их аппетитом, характером кала.

Сохранность животных во всех экспериментах была 100 %.

При изучении влияния воды с пониженным содержанием дейтерия на изотопный D/H состав и состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса плазмы крови и лиофилизированных тканей внутренних органов функциональной системы детоксикации животные были разделены 2 группы. Первую группу составили крысы ($n=15$), потребляющие дистиллированную минерализованную воду (150 ppm), вторую группу составили крысы ($n=15$), потребляющие дистиллированную минерализованную воду с пониженным содержанием дейтерия 40 ppm. Для оценки динамики изменения изотопного состава плазмы крови и лиофилизированных тканей внутренних органов функциональной системы детоксикации проводили определение этих показателей до начала эксперимента, а также через 15, 30 после изменения питьевого рациона, в связи с чем выполнялся забой 5 крыс в каждой группе в соответствующие сутки эксперимента.

При изучении влияния воды с пониженным содержанием дейтерия на изотопный D/H состав и состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса плазмы крови и лиофилизированных тканей внутренних органов функциональной системы детоксикации проводили сравнение показателей у животных в группах: 1 – крысы, потребляющие дистиллированную минерализованную воду (150 ppm, контроль); и 2 – крысы, потребляющие дистиллированную минерализованную воду с пониженным содержанием дейтерия (подгруппа 40 ppm) с аналогичными показателями в опытных группах с экспериментальным эндотоксикозом различного генеза, в связи с чем животные опытных групп были разделены на 6 групп:

группа 3 – крысы ($n=15$), потребляющие дистиллированную минерализованную воду (150 ppm), у которых путем введения аллоксана (в дозе 17 мг/100 г внутривенно однократно) была создана модель экспериментального сахарного диабета (продукционный первичный механизм развития эндогенной интоксикации);

группа 4 – крысы ($n=15$), потребляющие дистиллированную минерализованную воду с пониженным содержанием дейтерия (40 ppm), у которых путем введения аллоксана (в дозе 17 мг/100 г внутривенно однократно) была создана модель экспериментального сахарного диабета (продукционный первичный механизм развития эндогенной интоксикации);

группа 5 – крысы ($n=15$), потребляющие дистиллированную минерализованную воду (150 ppm), у которых путем введения в рану культуры патогенного штамма была создана модель экспериментального хронического абсцесса (резорбционный первичный механизм развития эндогенной интоксикации);

группа 6 – крысы ($n=15$), потребляющие дистиллированную минерализованную воду с пониженным содержанием дейтерия (40 ppm), у которых путем введения в рану культуры патогенного штамма была создана модель экспериментального хронического абсцесса (резорбционный первичный механизм развития эндогенной интоксикации);

Забор крови и органов у животных в группах 3 и 4 производили на 30-й день после моделирования аллоксанового диабета. Забор крови и органов у животных в группах 5 и 6 производили на 15-й день после моделирования гнойной раны.

При моделировании хронического абсцесса у крыс, использовали двухэтапную модель окислительного стресса. Первый этап представлял собой острую фазу окислительного стресса и моделировался путем создания межмышечного абсцесса в мягких тканях длинных мышц спины лабораторного животного с использованием имплантированного инородного тела. Второй этап отражал хроническую фазу окислительного стресса и моделировался гнойной раной, которая формировалась естественным образом при дренировании абсцесса и удалении инородного тела.

Основой модели окислительного стресса явилась известная модель раневого процесса, предложенная Л.А. Мамедовым.

Воду с пониженным содержанием дейтерия получали на установке, разработанной в Кубанском государственном университете по методике [14] с исходной концентрацией дейтерия в получаемой воде 40 ppm (по дейтерию). Минерализацию полученной воды, производили путем добавления минеральных солей для получения физиологически полноценного минерального состава (минерализация 314-382 мг/л: гидрокарбонаты 144-180 мг, сульфаты менее 1 мг, хлориды 60-76 мг, кальций: 6 мг, магний: 3 мг, натрий 50-58 мг, калий 50-58 мг), который был идентичен у воды с содержанием дейтерия 40 ppm и 150 ppm (по дейтерию).

Перед забором биосубстратов животных оглушали в камере для эвтаназии фирмы VetTech с помощью углекислого газа. После чего производили забор крови из желудочков сердца для исследований и выполняли патологоанатомическое вскрытие крыс с визуальным осмотром внутренних органов. После этого осуществляли изучение изотопного состава в плазме крови и лиофилизированных органах и определяли показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса (спонтанная и H_2O_2 -индуцированная хемилюминесценция, суммарная антиокислительная емкость крови, ТБК-реактивные продукты (малоновый

диальдегид, диеновые конъюгаты), SH-группы) и функциональную систему детоксикации (молекулы средней и низкой массы, АСТ, АЛТ, альбумин, билирубин, креатинин).

Количество свободных SH-групп определяли по методике, основанной на взаимодействии 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислоты с SH-группами, в результате чего образуется окрашенное соединение (тио-2-нитробензойная кислота). Полученный раствор тионитрофенильного аниона обладает специфическим поглощением при длине волны 412 нм, что позволяет определять количество SH-групп в гемолизате. Результаты выражали в мкмоль на грамм гемоглобина (мкмоль/г Hb).

Определение базального количества ТБК-реактивных продуктов в эритроцитах проводили по методике, основанной на оценке уровня продуктов окислительной модификации, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), и последующем определении тиобарбитурового числа эритроцитов (ТБЧэр.), которое рассчитывали и выражали в оптических единицах.

Определение количества продуктов окислительной модификации в плазме проводили по методике, основанной на оценке окисленно-модифицированных продуктов в плазме, по реакции с ТБК. Тиобарбитуровое число плазмы (ТБЧпл).

Определение количества молекул средней и низкой массы (МСИМ) в эритроцитах и плазме проводили, после осаждения с помощью 28-% раствора трихлоруксусной кислоты и центрифугирования высокомолекулярных соединений, в следующем интервале длин волн: от 238 нм до 306 нм (с шагом длины волны 4 нм), с последующим расчетом площади полученной фигуры на основании методики. Количество МСИМ эритроцитов и плазмы пропорциональное полученной площади, выражали в единицах оптической плотности (е.о.п.).

Интенсивность процессов свободнорадикального окисления в плазме крови определяли на хемилюминометре «Lum-5773» (Россия), с использованием лицензионного программного обеспечения PowerGraph 3.3 [15].

Определение суммарной антиоксидантной активности (САОА) плазмы крови с помощью амперометрического метода, при помощи амперометрического детектора Яуза-АА-01. Полученные результаты выражали в мг/л раствора аскорбиновой кислоты.

Интегральную оценку выраженности эндотоксикоза проводили на основании способа, основанного на суммарной оценке уровня МСИМ и ТБЧ эритроцитов и плазмы, с определением индекса эндогенной интоксикации (ИЭИ).

Биохимические исследования проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BioChem SA (USA), используя наборы реактивов HighTechnology (USA).

Результаты исследования

В результате эксперимента при использовании в питьевом рационе лабораторных животных ВМИС ССД 40 ppm установлено достоверное снижение содержания дейтерия в биологических жидкостях и тканях организма. При использовании воды с содержанием дейтерия 40 ppm в течение 15 дней наблюдалось снижение содержания дейтерия в плазме крови у крыс в группе 2 ($M \pm m$, p – дано в сравнении с показателями данной группы в начале эксперимента), до $107,6 \pm 0,6$ ppm ($p < 0,05$), т.е. на 29,8 %, а на 30 день эксперимента уровень дейтерия составил $100,9 \pm 0,4$ ppm ($p < 0,05$), т.е. на 34,1 %.

При употреблении животными воды с содержанием дейтерия 40 ppm определялось снижение уровня дейтерия через 15 дней в лиофилизированной ткани сердца на 6,9 %, через 30 дней - на 12,3 %, в лиофилизированной ткани печени на 5,2 % и 6,1 % соответственно, в лиофилизированной ткани почек уровень дейтерия снизился на 10,2 % через 15 дней и 13,6 % через 30 дней.

Данные изменения свидетельствуют об интенсивных реакциях изотопного обмена между жидкими средами организма и биологическими молекулами в тканях. При этом в тканях наблюдается более высокий уровень дейтерия (в среднем на 11-14 %), чем в плазме, что связано с небольшой скоростью реакций обмена изотопов водорода в физиологических условиях. Кроме того, на изотопный обмен в тканях более существенное влияние оказывает потребляемая пища, чем вода.

При моделировании аллоксанового диабета у крыс наблюдали повышение уровня глюкозы в 2,2 раза, сопровождающееся возрастанием активности ферментов, характеризующих цитолитические процессы (АСТ, АЛТ), увеличением концентраций креатинина, билирубина и мочевины (табл. 1). При этом по данным хемилюминесценции было выявлено достоверное усиление интенсивности процессов свободнорадикального окисления в крови (на 73,2 %, $p < 0,05$) и внутренних органах: сердце (на 58,4 %, печени (на 32,9 %), почке (на 9,3 %).

На фоне столь выраженных метаболических нарушений выявлен значительный дисбаланс функционирования прооксидантно-антиоксидантной системы у крыс в группе 3, который характеризовался повышением: количества продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в плазме крови на 81,2%; базального количества продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, в эритроцитах на 35,7%; количества продуктов окислительной модификации (Fe^{2+} -индуцированных) в эритроцитах на 64,0 %, что превышало аналогичные показатели в группе 4 (табл. 1), получающей воду с пониженным содержанием дейтерия. В группе 4 аналогичные показатели, отражающие выраженность процессов пероксидации, были меньше, чем в группе 3 на 11,3 % (количество продуктов окислительной модификации в плазме), 7,0 % и 7,2 % (базальное и Fe^{2+} -индуцированное количество продуктов окислительной модификации соответственно в эритроцитах).

Таблица 1. Биохимические показатели прооксидантно-антиоксидантной системы и функциональной системы детоксикации при экспериментальном сахарном диабете

Показатель	Группа 1	Группа 3	Группа 4
АСТ, ед. акт	163,20±11,65	192,49±8,67*	182,71±9,60*
АЛТ, ед. акт.	45,03±2,89	106,92±4,73*	97,64±3,28*

Альбумин, г/л	32,51±1,79	32,38±1,62	33,59±2,12
Билирубин, мкмоль/л	5,78±0,27	8,34±0,30*	8,29±0,17*
Креатинин, мкмоль/л	44,81±1,43	64,21±2,27*	62,81±0,93*
Мочевина, ммоль/л	6,89±0,34	9,08±0,41*	8,73±0,45*
Глюкоза, ммоль/л	5,84±0,25	12,91±0,63*	10,42±0,38*#
ТБЧпл., е.о.п.	0,260±0,012	0,471±0,023*	0,418±0,019*#
ТБЧэр, е.о.п.	0,501±0,027	0,680±0,037*	0,632±0,034*
ТБЧэр.-инд., е.о.п.	0,608±0,033	0,997±0,053*	0,925±0,051*
ХЛ, печень	0,283±0,004	0,376±0,010*	0,379±0,013*
ХЛ, почка	0,419±0,005	0,458±0,009*	0,422±0,005#
ХЛ, сердце	0,221±0,003	0,350±0,007*	0,297±0,004*#
ВХЛмакс, усл. ед.	1,993±0,065	3,452±0,113*	3,041±0,106*#
ХЛпл, усл. ед.	2,597±0,086	5,176±0,171*	4,584±0,150*#
САОА, мг/л	1,030±0,034	0,685±0,022*	0,765±0,024*#
SH-гр., мкмоль/ г Hb	0,287±0,006	0,195±0,008*	0,203±0,004*
МСиНМэр., е.о.п.	4,035±0,215	5,792±0,382*	5,286±0,349*
МСиНМпл., е.о.п.	2,917±0,076	4,843±0,126*	4,614±0,120*
ИЭИ, % ГК	0,19±5,08	129,34±14,45*	94,25±12,27*
КОМБэр, ОЕА	0,08±0,71	15,51±1,09*	13,16±1,01*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с показателями группы 1 (контрольная); # – $p < 0,05$ по сравнению с показателями 3-й группы.

При этом было выявлено повышение интенсивности хемилюминесценции плазмы крови: максимума вспышки на 73,2 % и 52,6 % в группах 2 и 3 соответственно в сравнении с контрольной группой, тогда как суммарный показатель низкомолекулярного звена антиоксидантной системы плазмы, измеренный с помощью амперометрического метода, был снижен на 33,5 % и 25,7 % в группах 3 и 4 соответственно, что указывает на более существенный дисбаланс соотношения прооксидантных и антиоксидантных факторов у животных с аллоксановым диабетом, получавших воду 150 ppm (по дейтерию), в сравнении с крысами, потребляющими воду 40 ppm. Количество тиоловых групп у крыс с моделью аллоксанового диабета также было снижено на 32,1 % и 29,3 % в группах 3 и 4 соответственно, что подтверждает нарушение регенерации низкомолекулярных антиоксидантных факторов у крыс в этих группах в условиях окислительного стресса, обусловленного развитием аллоксанового диабета. Это также характеризовалось резким увеличением интегрального показателя КОМБэр до 15,51 ОЕА в группе 3, тогда как у крыс, получающих воду с пониженным содержанием дейтерия, этот показатель был на 15,2% ниже, что указывает на определенный протективный эффект снижения концентрации дейтерия при аллоксановом диабете.

Интегральный показатель функционирования низкомолекулярного звена прооксидантно-антиоксидантной системы (коэффициент окислительной модификации биомолекул эритроцитов) в группе 3 был на 17,9 % выше, чем у крыс в группе 4, что подтверждает перспективность использования воды с пониженным содержанием дейтерия при комплексной коррекции нарушений в работе антиоксидантной системы, наблюдающихся при развитии диабета. При этом наблюдалось уменьшение индекса эндогенной интоксикации в группе 4 на 27,1 % в сравнении с показателями группы 3, что указывает на повышение функциональной активности органов детоксицирующей системы у крыс, потреблявших воду с пониженным содержанием дейтерия. При этом интегральный показатель ИЭИ в группе 3 возрастал на 129,3 % ГК, тогда как у крыс, получающих воду с пониженным содержанием дейтерия, его значения были на 35 % ГК ниже, что указывает на увеличение функциональной активности детоксицирующей системы при введении в пищевой рацион воды с пониженным содержанием дейтерия.

Было изучено влияние ВМИС ССД 40 ppm на уровень изотопного обмена в биологических жидкостях и тканях и на состояние АОС у крыс при формировании у них хронического абсцесса (резорбционный механизм ХЭТ). Наиболее выраженное снижение уровня дейтерия в плазме наблюдалось у животных 6 группы, которое было ниже на 37,3 % и 38,9 % показателей 1 и 5 группы.

В данном эксперименте наблюдалось увеличение образования свободных радикалов и преобладание прооксидантных факторов над компонентами АОС. Известно, что изменение интенсивности индуцированной хемилюминесценции очень чутко реагирует на наличие АФК и продуктов СРО. Так у крыс в группе 5 с ХЭТ резорбционного генеза наблюдалось увеличение ХЛ по сравнению с интактными животными. Уровень ХЛ печени был увеличен на 23,3 %, почек на 7,4 %, сердца на 7,2 %. Наиболее существенные изменения в печени говорят об ее активном участии в обезвреживании токсических субстанций, образующихся при гнойно-воспалительных процессах, в результате этого в гепатоцитах происходит увеличение образования АФК и формирование ОС на тканевом и органном уровнях. При этом в группе 6 у животных, принимавших ВМИС ССД, значения ХЛ были достоверно ниже, так уровень ХЛ печени был увеличен только на 10 %, а ВХЛ и ПХЛ на 36,6 % и 60,7 % соответственно. Более низкий уровень прооксидантных показателей у животных 6 группы можно объяснить более продуктивной работой тканевых компонентов эндогенной АОС, или более слабой токсической нагрузкой на их системы неспецифической защиты, в результате более быстрого обезвреживания в печени эндогенных токсических субстанций.

Значения ВХЛ и ПХЛ плазмы крови крыс в группе 5 были повышены на 53,4 % и 84,5 % соответственно. Более значимые изменения в плазме связаны с интегрирующей функцией крови как биологической жидкости. Преобладание прооксидантных факторов также подтверждалось увеличением ТБЧ плазмы на 50,4 % у животных 5 группы и на 31 % в 6 группе, ТБЧ эритроцитов на 33 % и 19 %, индуцированного ТБЧ эритроцитов на 52 % и 46 % соответственно. То есть наблюдалось увеличение образования и накопления промежуточных и конечных продуктов окислительной модификации биомолекул во внеклеточной среде, кроме того, был значительно повышен уровень пероксидации клеточного звена (табл. 2).

Перегрузка АОС продуктами СРО и ПОЛ проявлялась в значительном снижении АОА у крыс в группе 5 (на 23,8 %), при этом в группе 6 снижение АОА было менее выражено (на 8,7 %). Также наблюдалось снижение SH-групп, являющихся ключевым показателем неферментативной АОС, на 14,6 % в 5 группе и на 13,9 % в 6 группе (табл. 2).

В результате развития острого патологического процесса наблюдается увеличение МСНМ на эритроцитах (на 35,7 % в 5 группе и 20,6 % в 6 группе), то есть происходит увеличение сорбционной емкости и снижение проницаемости мембран гликокаликса, также наблюдается умеренное повышение МСНМ в плазме (на 13,9 % и на 10,3 %) соответственно, то есть образование токсических компонентов превышает их элиминацию из организма. Такие изменения говорят о снижении потенциала эндогенной АОС, особенно ее низкомолекулярного звена, что может привести к развитию осложнений, а также различных повторных патологических процессов.

Также при использовании ВМИС ССД наблюдаются меньшие уровни билирубина (на 10,7 %), креатинина (на 18,3 %), мочевины (на 14,8 %).

Таблица 2. Биохимические показатели прооксидантно-антиоксидантной системы и функциональной системы детоксикации при резорбционном первичном механизме эндотоксикоза

Показатель	Группа 1	Группа 5	Группа 6
АСТ, ед. акт	163,20±11,65	174,51±12,45*	175,83±9,58
АЛТ, ед. акт.	45,03±2,89	61,94±3,97*	65,41±4,19*
Альбумин, г/л	32,51±1,79	33,82±1,86	30,26±1,67
Билирубин, мкмоль/л	5,78±0,27	6,65±0,31	5,94±0,28
Креатинин, мкмоль/л	44,81±1,43	49,37±1,58*	40,33±1,29#
Мочевина, ммоль/л	6,89±0,34	7,52±0,37	6,41±0,32#
Глюкоза, ммоль/л	5,84±0,25	5,61±0,24	5,57±0,20
ТБЧпл., е.о.п.	0,260±0,012	0,391±0,023*	0,343±0,016*#
ТБЧэр, е.о.п.	0,501±0,027	0,669±0,042*	0,597±0,032*
ТБЧэр-инд., е.о.п.	0,608±0,033	0,915±0,049*	0,880±0,047*
ХЛ, печень	0,283±0,004	0,349±0,008*	0,314±0,007*#
ХЛ, почка	0,419±0,005	0,450±0,011*	0,408±0,009#
ХЛ, сердце	0,221±0,003	0,237±0,008*	0,224±0,010
ВХЛмакс, усл. ед.	1,993±0,065	3,058±0,097*	2,716±0,089*#
ХЛпл, усл. ед.	2,597±0,086	4,792±0,158*	4,174±0,141*#
САОА, мг/л	1,030±0,034	0,784±0,021*	0,940±0,030*#
SH-гр., мкмоль/г Нв	0,287±0,006	0,239±0,010*	0,241±0,009*
МСНМэр., е.о.п.	4,035±0,215	5,476±0,362*	4,869±0,321*
МСНМпл., е.о.п.	2,917±0,076	3,324±0,087*	3,018±0,079#
ИЭИ, % ГК	0,19±5,08	90,59±12,35*	57,22±10,26*
КОМБэр, ОЕА	0,08±0,71	7,70±1,03*	6,88±0,97*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с показателями группы 1 (контрольная); # – $p < 0,05$ по сравнению с показателями 5-й группы.

В целом применение ВМИС ССД приводит к уменьшению интегральных показателей в большей степени ИЭИ (на 36,8 %), который был повышен в группе 5 на 90,59 % ГК. При этом КОМБэр также снижался в группе 6, в сравнении с группой 5, на 10,6 %, что подчеркивает тесную взаимосвязь прооксидантно-антиоксидантного и детоксицирующего звеньев системы неспецифической защиты.

Обсуждение результатов

Таким образом, полученные данные, характеризующие состояние прооксидантно-антиоксидантной системы свидетельствуют о значимой роли дисбаланса в ее работе при развитии метаболических нарушений у крыс с аллоксановым диабетом, в том числе и при формировании патологических изменений в органах детоксикации. При этом отмечено корректирующее влияние воды с пониженным содержанием дейтерия (40 ppm) на состояние как прооксидантно-антиоксидантной, так и детоксицирующей систем у

крыс с аллоксановым диабетом, что позволяет рекомендовать применение реакций изотопного обмена при комплексной коррекции нарушений метаболизма, связанных с недостаточностью инсулина. В целом применение в комплексном лечении воды с пониженным содержанием дейтерия позволило уменьшить выраженность нарушений в работе антиоксидантной системы и снизить интенсивность процессов свободнорадикального окисления в крови и тканях внутренних органов, что сопровождалось менее значимым накоплением эндотоксических субстанций в плазме крови.

В заключении следует отметить, что с помощью интегральных показателей продемонстрирована более существенное влияние реакций изотопного обмена на состояние функциональной системы детоксикации при резорбционном первичном механизме развития эндотоксикоза (ИЭИ снижался на 36,8 %), тогда как наиболее значимая коррекция нарушений в работе прооксидантно-антиоксидантной системы с помощью ВМИС ССД отмечена при эндотоксикозе гепато-ренального генеза (КОМБэр уменьшался на 26,6 %). Менее существенное влияние ВМИС ССД отмечено при коррекции нарушений прооксидантно-антиоксидантной системы у крыс с моделированием эндотоксикоза с продукционным первичным механизмом развития (снижение КОМБэр в группе 4 на 15,2 %, в сравнении с группой 3). При этом интегральный показатель состояния функциональной системы детоксикации уменьшался в группе 4 в сравнении с группой 3 на 27,1 %, что также с пониженным содержанием дейтерия наименее значимую коррекцию нарушений детоксицирующего звена системы неспецифической защиты с помощью питьевого рациона с пониженной концентрацией дейтерия у крыс при моделировании аллоксанового диабета.

Заключение

Впервые с помощью экспериментального моделирования у животных эндогенной интоксикации продемонстрированы различия в эффективности пищевого рациона, включающего воду с модифицированным изотопным составом с пониженным содержанием дейтерия (40 ppm), при коррекции нарушений в работе прооксидантно-антиоксидантной и детоксицирующей систем в зависимости от первичного механизма развития эндотоксикоза. С помощью интегральных показателей продемонстрировано более существенное влияние реакций изотопного обмена на состояние функциональной системы детоксикации при резорбционном первичном механизме развития эндотоксикоза (ИЭИ снижался на 36,8 %), тогда как наиболее значимая коррекция нарушений в работе прооксидантно-антиоксидантной системы с помощью ВМИС ССД отмечена при эндотоксикозе гепато-ренального генеза (КОМБэр уменьшался на 26,6 %).

Список литературы

1. Елкина А.А., Шашков Д.И., Барышева Е.В. Влияние среды с модифицированным изотопным D/H составом на репарацию ДНК лимфоцитов после УФ облучения. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований* 2016; 8-4: 557-561.
2. Быков И.М., Ивченко Л.Г., Доменюк Д.А. и др. Особенности свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у детей с сахарным диабетом первого типа. *Кубанский научный медицинский вестник* 2017; 24(4): 27-38.
3. Шумаев К.Б., Ланкин В.З., Коновалова Г.Г. и др. Взаимодействие супероксидных радикалов с активными дикар бонильными соединениями. *Биофизика* 2017; 62(4): 237-242.
4. Павлюченко И.И., Быков М.И., Федосов С.Р. и др. Комплексная оценка состояния системы про-антиоксиданты в различных биологических средах у хирургических больных с гнойно-септическими осложнениями. *Успехи современного естествознания* 2006; 6: 82-83.
5. Дудылина А.Л., Иванова М.В., Шумаев К.Б., Рууге Э.К. Генерация супероксидных радикалов комплексом III митохондрий сердца и антиоксидантное действие динитрозильных комплексов железа при разном парциальном давлении кислорода. *Биофизика* 2016; 61(2): 304-309.
6. Dzhimak S. S., Basov A. A., Elkina A. A., et al. Influence of deuterium-depleted water on hepatorenal toxicity. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 2018; 13(2): e69557.
7. Kravtsov A. A., Kozin S. V., Vasilevskaya E. R., et al. Effect of Drinking Ration with Reduced Deuterium Content on Brain Tissue Prooxidant-Antioxidant Balance in Rats with Acute Hypoxia Model. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences* 2018; 8(2): 42-51.
8. Барышев М.Г., Болотин С.Н., Фролов В.Ю. и др. Способы получения воды с пониженным содержанием дейтерия. *Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества* 2013; 1: 13-17.
9. Петриев И.С., Болотин С.Н., Фролов В.Ю. и др. Кинетические характеристики процесса переноса водорода через модифицированную палладий-серебряную мембрану. *Известия высших учебных заведений. Физика* 2017; 60(9): 138-143.
10. Быков М.И., Джимаков С.С., Басов А.А. и др. Сравнительная характеристика изотопного D/H состава и антиоксидантной активности свежесжатых соков из овощей и фруктов, выращенных в различных географических регионах. *Вопросы питания* 2015; 84(4): 89-96.
11. Джимаков С.С., Басов А.А., Волченко Н.Н. и др. Изменение функциональной активности митохондрий, выделенных из клеток печени крыс, прошедших адаптацию к сверхнизким концентрациям дейтерия. *Доклады Академии наук* 2017; 476(5): 584-587.
12. Levitskaya O. V., Syroeshkin A. V., Pleteneva T. V. Arrhenius kinetics as a bioactivity assessment criterion for drug substances and excipients. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2016; 49(11): 779-781.
13. Барышев М.Г., Джимаков С.С., Долгов М.А. и др. Применение воды с модифицированным изотопным составом и pH в мясной промышленности. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология* 2012; 2-3(326-327): 42-44.
14. Барышев М.Г., Болотин С.Н., Васильев Н.С. и др. Электрохимический способ получения и биологические свойства воды с пониженным содержанием дейтерия. *Наука Кубани* 2010; 3: 18-20.
15. Созарукова М.М., Полимова А.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Изменения в кинетике хемилюминесценции плазмы как мера системного окислительного стресса в организме человека. *Биофизика* 2016; 61(2): 337-344.

Авторы:

Барышева Е.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры общей и клинической патофизиологии, Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, 350063 Россия, г. Краснодар, ул. Седина, д. 4, e-mail: 013194@mail.ru