

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ТРИХИНЕЛЛЕЗНОЙ ИНВАЗИИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО КОРРЕКЦИИ АНТИОКСИДАНТАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Белорусский государственный медицинский университет

Свободнорадикальные процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) рассматривают как физиологические, поскольку они характерны для нормально метаболизирующих клеток и при небольших концентрациях оказывают биологически полезное действие [17, 20, 24].

Однако активация свободнорадикальных цепных реакций и чрезмерное накопление вторичных продуктов ПОЛ, таких как кетоны, малоновый диальдегид (МДА), приводят к тяжелым последствиям, известным как состояние "пероксидного стресса". Происходит угнетение гликолиза, разрушается коэнзим А, инактивируется цитохром Р-450, изменяется биосинтез белков и ДНК, наблюдается нарушение проницаемости мембран и инактивация мембранных ферментов [3, 9, 10].

Регуляция процессов свободнорадикального окисления осуществляется неферментативными биоантиоксидантами (витамины Е, А, С, убихинон, глутатион и др.) и антиоксидатными ферментными системами. Основными компонентами ферментативного звена антиоксидантной системы защиты организма (АОС) являются супероксид-дисмутаза (СОД) и каталаза, участвующие в обезвреживании избытка свободных радикалов и перекисей [7].

При хроническом воздействии повреждающего агента (радиоактивные излучения, ксенобиотики и др.) активация свободнорадикальных реакций приводит к угнетению АОС организма или развитию антиоксидантной недостаточности. Это, в свою очередь, способствует повреждению иммунокомпетентных клеток и иммунодисфункциям и является одной из ведущих причин снижения неспецифической резистентности организма [1, 2, 16].

Интенсификация процессов свободнорадикального окисления рассматривается в настоящее время как один из значимых механизмов в развитии более чем 50 заболеваний человека различной этиологии [23]. Вместе с тем анализ отечественной и зарубежной литературы показывает, что этот аспект является наименее изученным звеном патогенеза гельминтозов и трихинеллеза в частности.

В настоящее время трихинеллез в Беларуси по-прежнему представляет собой не только серьезную медицинскую проблему, но и наносит ощутимый экономический ущерб. Это обусловлено тем, что на территории республики существует несколько крупных природно-снатропных очагов, поддерживающих значимый уровень заболеваемости людей и животных [19].

Для лечения трихинеллеза применяют антигельминтные препараты (мебендазол, тиабендазол, медамин) в комплексе с коргикостероидами, что нередко вызывает серьезные осложнения [13, 25]. Более того, по результатам наших наблюдений и данным литературы, использование мебендазола при экспериментальном трихинеллезе приводит к гибели значительной части подопытных животных [6, 18]. Вопрос о снижении токсичности антигельминтных препаратов без уменьшения их терапевтического эффекта на сегодняшний день остается открытым.

Дисфункция иммунной системы, токсические проявления при трихинеллезе и на фоне его специфической терапии во многом могут быть обусловлены интенсификацией процессов ПОЛ, поскольку имеют характерную

ксенобиотическую природу.

С целью коррекции метаболических процессов и повышения общей неспецифической резистентности организма в последнее время широко используются природные антиоксиданты, особенно витамины. Заслуживает внимания новый комплексный препарат "АКβ" [14], включающий витамины Е, А, С и β-каротин (разработан на кафедре биохимии БГМУ). В практике лечения трихинеллеза "АКβ" может представлять несомненный интерес не только в силу своего цитопротекторного и антистрессорного действия, но также и ввиду имеющегося при данной инвазии дефицита именно тех витаминов, которые входят в его состав [4, 15, 21]. Сведения об использовании "АКβ" при трихинеллезе отсутствуют.

Целью настоящей работы явилось изучение динамики основных показателей ПОЛ у инвазированных животных, а также на фоне лечения экспериментального трихинеллеза мебендазолом и комплексным препаратом "АКβ". В задачи исследования входило: а) определение активности СОД и каталазы эритроцитов; б) измерение концентрации МДА в сыворотке крови; в) оценка эффективности проведенного лечения по анализу клинического статуса подопытных животных.

Материал и методы

В эксперименте использовано 236 белых крыс-самцов линии Wistar, средняя масса 180 г. Из них 148 особей были подвергнуты заражению путем внутрижелудочного введения личинок 60-дневного лабораторного штамма *Trichinella spiralis* (Owen, 1835) в дозе 20 личинок на 1 г массы тела [5]. Инвазированных крыс разделили на 3 группы: животные 1-й группы (ТН) не получали лечения (n = 28), животным 2-й группы (Т + М) давали мебендазол (n = 60), а в 3-й группе (n = 60) применяли сочетанное лечение мебендазолом и комплексом "АКβ" (Т + М + АК). Лечение проводили на стадии мигрирующих личинок (14 — 20-е сутки после заражения). Интактных животных также разделили на 3 группы: в двух (И + М; n = 30 и И + М + АК; n = 30) вводили препараты по той же схеме и в те же сроки, что и в соответствующих группах зараженных животных. Остальные крысы (n = 28) составляли группу контроля (ИК).

Инъекции витаминов, начиная с 14-х суток инвазии, делали через день в течение недели (4 раза): 5%-ный раствор аскорбиновой кислоты в дозе 4 мл/кг вводили внутримышечно; смесь витаминов А, Е и β-каротина — подкожно из расчета токоферола ацетата — 0,08 мг/г, ретинола ацетата — 0,001 мг/г; β-каротина — 0,0036 мг/г массы тела. Мебендазол животные получали внутрижелудочно в дозе 50 мг/кг ежедневно в течение 3 дней, начиная со следующих суток после первой инъекции витаминов. Крысы содержались на обычном рационе вивария.

Взятие крови из шейных сосудов осуществляли под тиопентал-натриевым наркозом на 21, 30, 45 и 60-е сутки инвазии (в группах И + М и И + М+АК на 60-е сутки исследования не проводились).

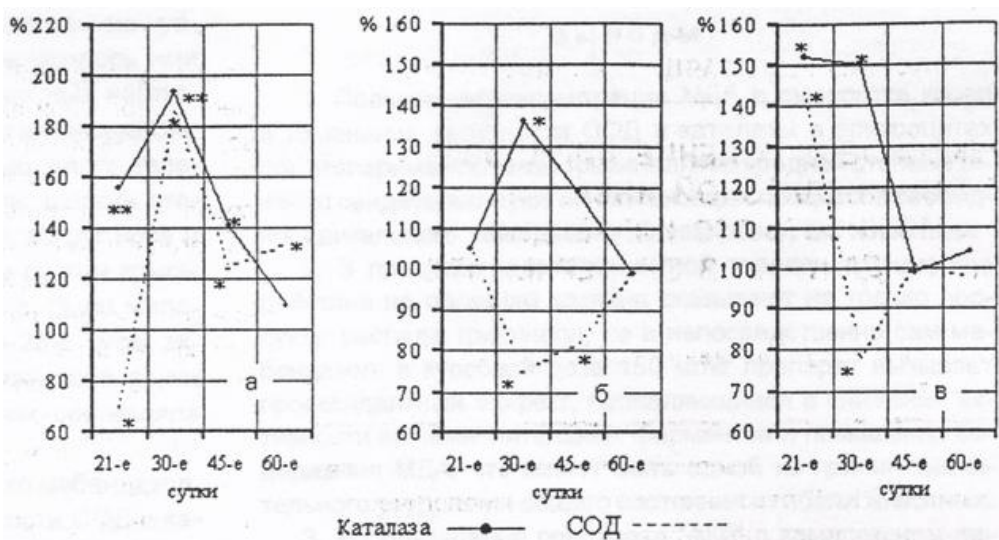
В эритроцитах крови определяли активность СОД [11] и каталазы [12], в сыворотке крови — содержание МДА [8]. Полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики на ПЭВМ с применением программы Excel 97.

Результаты и обсуждение

Выявлено усиление процессов ПОЛ при трихинеллезе, а также значительные изменения в состоянии ферментативного звена АОС. Так, активность СОД у инвазированных животных (группа ТН) была пониженной (P<0,05) на 21-е сутки инвазии, однако уже на 30-е сутки она увеличивалась до 184,5% от показателей в контрольной группе и оставалась повышенной на протяжении всего срока

наблюдения ($P < 0,05$). Активность каталазы на протяжении всего эксперимента, за исключением 60-х суток, у животных из этой группы была существенно выше показателей в контроле, достигая максимальных величин на 30-е сутки после заражения ($P < 0,001$).

Следует заметить, что снижение активности одного фермента (чаще СОД) с одновременным повышением активности другого указывает на усиление процессов ПОЛ и может служить одним из критериев нарушения антиокислительного гомеостаза организма [1, 22]. При нелеченном трихинеллезе (группа ТН) подобное явление наблюдалось на 21-е сутки инвазии (рис., а).



Активность СОД и каталазы (в % к контролю) в эритроцитах инвазированных линейных крыс: а — экспериментальный трихинеллез средней степени тяжести; б — лечение мебендазолом; в — комплексное лечение мебендазолом и "АКβ"; * $P < 0,05$; ** $P < 0,001$

В это же время уровень МДА в сыворотке крови животных данной группы был максимальным (табл.).

Содержание МДА (мкмоль/л) в сыворотке крови интактных и инвазированных трихинеллами крыс в зависимости от способа лечения

Группа	Сутки			
	21-е	30-е	45-е	60-е
Контрольная	2,02±0,09	2,08±0,06	1,93±0,08	2,00±0,08
И + М	3,74±0,39*	2,84±0,19*	2,10±0,08	-
И + М + АК	2,61±0,11**	2,16±0,20	2,06±0,23	-
ТН	4,12±0,28**	3,06±0,31*	2,26±0,23	2,17±0,16
Т + М	4,08±0,34**	3,87±0,19**	2,32±0,14*	1,97±0,17
Т + М + АК	2,78±0,17*	2,29±0,07*	1,97±0,12	2,04±0,10

* $P < 0,05$; ** $P < 0,001$ по сравнению с показателями контрольной группы,

На 30-е сутки у животных из группы ТН концентрация МДА также была высокой, но активность СОД и каталазы почти вдвое превышала показатели в группе ИК, что, по-видимому, следует расценивать как приспособительную реакцию хозяина, поскольку в последующие сроки наблюдения состояние функциональной активности обоих ферментов оставалось согласованным, а концентрация МДА снижалась. Пик изменений исследуемых показателей

совпадал с пиком наибольшей биологической активности трихинелл, который приходился на 21—30-е сутки инвазии, то есть соответствовал периоду миграции личинок по кровеносной системе, внедрению их в мышечные ткани и началу капсулообразования [4,15]. Впоследствии, когда формируется капсула, активность паразитов снижается и заболевание переходит в длительную хроническую фазу без выраженной симптоматики.

Динамика изменений показателей метаболизма коррелировала с картиной клинического статуса экспериментальных животных. Состояние крыс в группе ТН на протяжении всего эксперимента было удовлетворительным: на 3-4-й неделе после заражения наблюдался понос, образование кровянистых корок вокруг глаз и отверстий носа, но аппетит, масса тела и двигательная активность были на уровне таковых в контрольной группе. Не отмечено ни одного случая гибели животных— все это указывает на достаточно высокий уровень компенсаторно-приспособительных реакций инвазированного организма при трихинеллезе средней степени тяжести. В группе Т + М наибольшие изменения изучаемых показателей приходились на 21—30-е сутки эксперимента.

Повышение содержания МДА в 2 раза и отсутствие различий в активности антиокислительных ферментов по отношению к показателям в группе ИК на 21-е сутки с последующим выраженным разобщением активности СОД и каталазы на 30-е сутки (рис., б) указывают на снижение компенсаторных возможностей организма животных, получавших мебендазол. Следует отметить, что крысы линии Wistar весьма чувствительны к мебендазолу и лечение переносилось ими тяжело. К 21-м суткам у большинства животных наблюдались выраженные симптомы диспепсии и интоксикации: жидкий стул (в тяжелых случаях со слизью желто-зеленоватого цвета), вздутие живота, отек кожи; шерсть становилась тусклой, ломкой и взъерошенной; вокруг носа и глаз появлялись кровянистые корки. К 30-м суткам крысы из группы Т + М теряли до 23% массы тела, были малоподвижны; 40% животных погибло на 20—28-е сутки эксперимента. В группе И + М в соответствующие сроки погибли 6 особей (20%), масса тела у них составляла 89% от исходной.

У интактных животных, получавших только мебендазол, на 21-е сутки отмечалось снижение активности СОД и каталазы в эритроцитах (72,5% и 67,5% соответственно; $P < 0,05$). В более поздние сроки наблюдения показатели были на уровне контрольных, концентрация МДА снижалась только к 45-м суткам эксперимента.

У животных из группы Т + М + АК на 21-е сутки наблюдалась высокая активность ферментов, сменяющаяся разобщением таковой на 30-е сутки (рис., в). При этом содержание МДА составляло в среднем 124% ($P < 0,05$) от показателей в контрольной группе. В группе И + М + АК достоверное повышение концентрации МДА и увеличение активности каталазы отмечено только на 14-е сутки эксперимента; активность СОД сохранялась на уровне контрольных показателей на протяжении всего периода наблюдения.

Введение препарата *АКβ* на фоне терапии мебендазолом полностью не предотвращало интоксикации животных, однако клинические проявления диспептического синдрома были выражены в меньшей степени. Масса тела в отличие от животных, получавших только мебендазол, оставалась на уровне исходной, а гибель составляла 28,3% в группе Т + М + АК и 10% — в группе И + М + АК. Вероятно, чтобы свести к минимуму интоксикацию и процент гибели животных, витаминотерапию следует проводить более длительное время.

Нужно подчеркнуть, что физиологическая реабилитация экспериментальных животных при таком способе лечения происходила быстрее, чем в группах крыс, получавших только мебендазол, о чем свидетельствуют динамика ферментативной активности и показатели МДА: уже к 45-м суткам эксперимента в группе Т + М + АК все наблюдаемые параметры приближались к контрольным, а прирост массы тела был на 11% выше, чем в группе Т + М.

Таким образом, мебендазол, по-видимому, непосредственно способен ингибировать

СОД и каталазу эритроцитов, поскольку на 21-е сутки разница между показателями в группах Т + МиИ + М была значимой ($P < 0,05$). Применение комплекса "АКβ" позволяло существенно уменьшить влияние этого негативного фактора, о чем свидетельствовал высокий уровень активности ферментов на 21-е сутки ($P < 0,001$) и более низкое содержание МДА в сыворотке крови на 21—30-е сутки ($P < 0,05$) у животных группы И + М + АК по сравнению с показателями в группе И + М.

Выводы

1. Повышение концентрации МДА в сыворотке крови и изменение активности СОД и каталазы в эритроцитах при экспериментальном трихинеллезе средней степени тяжести свидетельствуют об активизации процессов свободнорадикального окисления у инвазированных животных.

2. В процессе антигельминтной терапии токсическое действие на организм хозяина оказывают не только продукты распада трихинелл, но и непосредственно сам мебендазол: в курсовой дозе 150 мг/кг препарат вызывает прооксидантный эффект, проявляющийся в снижении активности антиоксидательных ферментов и повышении содержания МДА, что может быть одной из причин значительного ухудшения общего состояния и гибели животных.

3. Использование препарата "АКβ" в комплексном лечении трихинеллеза позволяет улучшить показатели ПОЛ и сопряженное действие антиоксидантных ферментов —СОД и каталазы, усилить компенсаторно-приспособительные реакции организма и снизить количество случаев гибели животных.

4. Комплексная оценка показателей активности ферментативного звена АОС и содержания продуктов ПОЛ в динамике заболевания позволяет судить о степени компенсаторных возможностей инвазированного организма и об эффективности проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмедов Д. Р. Клинико-латогенетическое значение нарушений антиоксидантной системы, иммунного статуса и их коррекция у больных брюшным тифом и хронических брюшнотифозных бактерионосителей: Автореф. дис.... д-ра мед. наук.— М., 1994.
2. Баглей Е //Онкология 2000: Тез. докл. II съезда онкологов стран СНГ— Киев, 2000.
3. Бездробная Л. К, Коваль Г. И., Калиновский А. К. и др. //Радиобиологический съезд: Тез. докл.— Пушино, 1993.— Ч. 1.—С. 91.
4. Бекиш О.-Я. Л. Биохимические аспекты адаптации паразита и хозяина при трихинеллезе: Автореф. дис. ... д-ра биол.наук.— М., 1973.
5. Бекиш О.-Я. Л., Бурак И. И., Острейко И. И., Затворницкая В. В. // Современные меры борьбы с паразитарными заболеваниями сельскохозяйственных животных: Тез. докл. респ. науч.практ. конф.— Минск, 1980.— С. 17—18.
6. Бекиш О.-Я. Л., Безнос Т. В., Бурак И. И. //Материалы IX конф. Украинского паразитологического общества.— Киев, 1980.- Ч. 1.— С. 68—69.
7. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах,— М., 1972.
8. Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Мажуль Л. М. //Вопр. мед.химии.— 1987.—N 1.— С. 118—122.
9. Жданов Г.Г., Нечаев В. И., Нодель М. Л. //Анестезиология и реаниматология.— 1989.— N 4.— С. 63—68.
10. Козлов Ю. П. // Физико-химия лучевого поражения.— М., 1965.— С. 30—46.
11. Костюк В.А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В.//Вопр. мед.химии.— 1984.—N 4.— С. 125—127.

12. Мамонтова Н. С, Белобородова Э. И., Тюкалова Л. И. // Клинич. И лаб. диагностика.— 1994.— N 1.— С. 27—28.
13. Озерецковская Н. Н. //Материалы докл. IV Всесоюз. науч.конф. по проблеме трихинеллеза человека и животных.— Ереван, 1985.— С.: 19—22.
14. Рутковская Ж. А. Антиоксидантная система организма и ее коррекция новым комплексом β -каротина и витаминов А, Е, С при действии ионизирующего излучения: Автореф. дис.... канд.мед. наук.— Минск, 1996.
15. СенугайтеЯ. Биохимические изменения в организме притрихинеллезе.— Вильнюс, 1990.
16. Смирнова Л. Д., Сускова В. С. //Хим.-фарм. журн.— 1989.— Т. 23, N 7.— С. 773—784.
17. Сулова Т. В., Владимиров Ю. А. //Биологические мембраны/Под ред. П. В. Сергеева.— М., 1973.— С. 75—93.
18. Толстой В. А., Бутвиловский В. Э., Давыдов В. В. //Тканевые гельминтозы: диагностика, патогенез, клиника, лечение и эпидемиология: Труды науч.-практ. конф.— Витебск, 2000.—С. 131—137.
19. Чистенко Г. Н., Веденькова А. Л., Богданчик Г. И. //Там же.—С. 143—148.
20. Dianzani M. U. //Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.— 1992.— Vol. 68, N8-9.— P. 491—511.
21. Figalova V., ProkopicJ. //Folia Parasitol.— 1987.— Vol. 34.— p. 341—345.
22. GonzalerM. G. //Med. Hypotheses.— 1992.— Vol. 38, N 2.- p. 106—110.
23. Halliwell B. //Drugs.— 1991.— Vol. 42, N 4.— P. 570—605.
24. Harman D. //EXC.— 1992.— N 62.— P. 1—10.
25. Kociencka W. Wlosen krenty i wlosnica.— Wroclaw, 1996.

Поступила 15.02.01.

LIPID PEROXIDATION UNDER TRICHINELLOUS INVASION AND ITS ANTIOXIDANT CORRECTION

V. A. Tolstoy, P. G. Zayats, T. S. Morozkina

The basic LPO values were studied in the rats contaminated by Tricinellosis in their dynamics on the background of introducing either Mebendazol or complex antioxidant drug АКВ. The Trichinellosis invasion was shown to be accompanied by LPO activation. The Mebendazol introduction was revealed to increase that effect and to have marked side effects, whereas the vitaminous complex АКВ favoured the process of the radical oxidation normalization and the animals state improvement