

УДК 616.36-004-005.1-092.9

Евсеенко Д.А., Дундаров З.А., Грицук А.И., Надыров Э.А.
Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Evseenko D., Dundarov Z., Gritsuk A., Nadyrov E.
Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Антиоксидантный статус лабораторных животных, перенесших острую кровопотерю на фоне цирроза печени

Antioxidant Status of the Laboratory Animals,
who Suffered Acute Blood Loss on the Background
of Liver Cirrhosis

Резюме

Цель. Изучить состояние анти-/прооксидантной активности, содержание мочево́й кислоты и глюкозы в сыворотке крови экспериментальных животных с циррозом печени, осложненным острой кровопотерей.

Материалы и методы. Было выполнено две серии опытов: серия № 1 – животные без цирроза печени, которые были разделены на две группы: группа 1 – без острой кровопотери (n=16) и группа 2 – с острой кровопотерей различной степени тяжести (n=49). Серия № 2 – животные с экспериментальным циррозом печени, которые также были разделены на две группы: группа 3 – без острой кровопотери (n=17) и группа 4 – с острой кровопотерей различной степени тяжести (n=54). Определялось состояние антиоксидантного статуса, концентрация мочево́й кислоты, глюкозы, показателей красной крови. Полученные данные сравнивались между собой в сериях опытов, их группах.

Результаты и обсуждение. Сыворотка крови первой группы животных обладала выраженной антиоксидантной активностью. У животных второй, третьей, четвертой групп наблюдалось истощение антиоксидантной активности с нарастанием выраженности прооксидантных свойств сыворотки крови с последующим развитием окислительного стресса. Животные второй серии опытов имели более выраженную прооксидантную активность сыворотки крови в сравнении с первой серией опытов. Опытные животные групп 2 и 4 нуждались в коррекции нарушений антиоксидантного статуса.

Заключение. Наличие сформировавшегося синдрома портальной гипертензии на фоне цирроза печени, осложненного острой кровопотерей, приводит к развитию редокс-дисбаланса, который проявляется нарастанием прооксидантных свойств сыворотки крови с последующим формированием окислительного стресса. Раннее включение в комплексную терапию препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами, может явиться перспективным дополнением к стандартной терапии пациентов с острым кровотечением на фоне цирроза печени: улучшить данные лабораторных показателей и минимизировать риск развития синдрома полиорганной недостаточности.

Ключевые слова: антиоксидантный статус, лабораторные животные, цирроз печени, острая кровопотеря.

Abstract

Purpose. To study the state of anti-prooxidant activity, the content of uric acid and glucose in the blood serum of the experimental animals with liver cirrhosis complicated by acute blood loss.

Materials and methods. Two series of experiments were performed: series № 1 – animals without liver cirrhosis that were divided into two groups: group 1 – without acute blood loss (n=16) and group 2 – with acute blood loss of various severity (n=49). Series 2 – animals with experimental cirrhosis of the liver that were also divided into two groups: group 3 – without acute blood loss (n=17) and group 4 – with acute blood loss of various severity (n=54). The state of antioxidant status, the concentration of uric acid, glucose, and red blood indices were determined. The obtained data were compared in the series of experiments as well as in their groups.

Results and discussion. The serum of the first group of animals had a pronounced antioxidant activity. In animals of the second, third, fourth groups, depletion of antioxidant activity was observed with increase of the severity of the prooxidant properties of blood serum with subsequent development of oxidative stress. The animals of the second series of experiments had a more pronounced pro-oxidant activity of blood serum in comparison with the first series of experiments. The experimental animals of the groups 2 and 4 needed correction of violations of the antioxidant status.

Conclusion. The presence of the developed portal hypertension syndrome on the background of liver cirrhosis, complicated by acute blood loss, leads to development of redox imbalance, which is manifested by the increase of the prooxidant properties of blood serum with subsequent formation of oxidative stress. Early inclusion in the complex therapy of drugs with antioxidant properties may be a promising addition to the standard therapy of patients with acute bleeding in the presence of liver cirrhosis: to improve the data of laboratory parameters and minimize the risk of multiple organ dysfunction syndrome.

Keywords: antioxidant status, laboratory animals, liver cirrhosis, acute blood loss.

■ ВВЕДЕНИЕ

Возникновение острого кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода и желудка на фоне синдрома портальной гипертензии при циррозе печени побуждает хирургов, эндоскопистов, других специалистов к постоянному поиску эффективных решений в борьбе с такими осложнениями, как гиповолемия, гипоксия и синдром полиорганной недостаточности, ведущими к летальному исходу.

Антиоксидантный статус (АОС) – эволюционно сформированная, комплексная, многоуровневая, динамичная гомеостатическая система организма, определяющая многие его параметры. Одним из эффективных способов оценки состояния АОС является определение его про-/антиоксидантной активности в сыворотке крови.

Согласно данным литературы, цирроз печени (ЦП) характеризуется нарушением АОС в виде повышения содержания в биологических средах организма активных форм кислорода (АФК) и последующим снижением антиоксидантной активности (АОА) крови [1–3].

Острая кровопотеря при ЦП ведет к уменьшению объема портального кровотока внутри печеночной ткани, снижению ее оксигенации, избыточной продукции АФК, уменьшению эффективности

окислительного фосфорилирования, развитию низкоэнергетического состояния и, как показывают данные литературы, падению количества аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) [3]. Это, в свою очередь, влечет за собой снижение количества вазодилаторов: простаглицлина, оксида азота II (NO) и др. [4, 5].

Вместе с тем нарушение микроциркуляции в других органах и тканях также ведет к их гипоперфузии, сопровождающейся формированием анаэробного метаболического фенотипа, который проявляется в переходе клеточного аэробного дыхания на менее эффективное анаэробное, ингибированием активности ферментов цикла Кребса, дыхательной цепи митохондрий, неизбежным увеличением продукции АФК. Отмечается нарушение баланса между антиоксидантной системой организма и многочисленными пероксидными реакциями, включая перекисное окисление липидов (ПОЛ). Это сопровождается увеличением радикалообразования в тканях, полным истощением АОА и, как следствие, установлением прооксидантной активности сыворотки крови (ПОА) с последующим формированием окислительного стресса [6–8].

Суммарная гиперпродукция АФК негативно отражается на морфофункциональном состоянии эндотелиальной выстилки сосудистого русла, продуцирующей физиологический вазодилатор – NO. Взаимодействие большого количества АФК на фоне снижения продукции NO вследствие уменьшения объема портального кровотока ведет к дальнейшему уменьшению содержания последнего и проявляется эндотелиальной дисфункцией в виде повышения внутрисосудистого сопротивления, снижения сосудистой проницаемости, повышения адгезии и агрегации тромбоцитов, ускорения пролиферации гладкомышечных клеток, что повышает риск развития острого кровотечения [9].

Следует отметить, что в организме присутствует система антиоксидантной защиты (АОЗ), представителями которой являются мочевая кислота (МК), система глутатиона (GSH) [10, 11]. Нарушение равновесного состояния между АОЗ и гиперпродукцией АФК также ведет к иницированию цепных реакций ПОЛ, формированию ПОА сыворотки крови с последующим угнетением ключевых звеньев метаболизма и впоследствии развитию окислительного стресса.

Данный аспект проблемы состояния АОС при острых кровотечениях на фоне цирроза печени в эксперименте остается недостаточно изученным, несмотря на его исключительную научно-практическую значимость.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить состояние анти-/прооксидантной активности, содержание мочевой кислоты и глюкозы в сыворотке крови экспериментальных животных с циррозом печени, осложненным острой кровопотерей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен в научно-исследовательской лаборатории ГНУ «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», УО «Гомельский государственный медицинский университет» в соответствии с «Положением о порядке использования лабораторных

животных в научно-исследовательских работах и педагогическом процессе Гомельского государственного медицинского института и методах по реализации требований биомедицинской этики» (№54-А от 23.05.2002 г.). Все манипуляции с животными выполнялись под воздействием воздушно-изофлюоранового наркоза.

В исследовании определено и изучено АОС лабораторных животных. Метод определения АОС сыворотки крови основан на реакции автоокисления адреналина в щелочной среде раствора ($\text{pH} > 7$), которая является супероксид-генерирующей и супероксид-детектирующей системой. Это свойство позволяет определить анти-/прооксидантные свойства сыворотки крови. Выявление и измерение уровня накопления продуктов окисления адреналина (адренохрома) производили по методике Т.В. Сироты в модификации А.И. Грицука [12, 13]. Способность сыворотки крови ингибировать реакцию автоокисления адреналина расценивали как антиоксидантную активность, активацию – как прооксидантную активность.

Острое токсическое поражение печени с исходом в цирроз моделировалось при помощи интраперитонеального введения 50% раствора тетрахлорметана (CCl_4) на оливковом масле в первый день эксперимента в количестве 0,1 мл CCl_4 + 0,4 мл оливкового масла из расчета на 100 г массы тела животного, на вторые сутки эксперимента – 0,3 мл CCl_4 + 0,2 мл оливкового масла из расчета на 100 г массы тела животного. Для синергизма и потенцирования гепатотоксического эффекта CCl_4 животные ежедневно имели в свободном доступе 10% раствор этанола. Длительность эксперимента составила 65 суток [14].

На протяжении всего эксперимента осуществлялись динамическое наблюдение, уход за животными. В утро дня проведения манипуляции, до начала вмешательства, животные не получали пищу, питье. Животные осматривались на наличие соматической патологии, оценивалось их общее состояние.

Животные с экспериментальным циррозом печени имели серо-желтую окраску шерсти, видимые слизистые были бледно-желтоватого цвета, интенсивность окраски которых снижалась во время забора крови.

Моделирование острой кровопотери у животных производилось по методике, предложенной С.Л. Зыблевым [15]. Тяжесть кровопотери составила для легкой степени – $4,0 \pm 0,5$ мл (35–40% ОЦК), средней – $5,0 \pm 0,5$ мл (40–45% ОЦК), тяжелой – $6,0 \pm 0,5$ мл (45–50% ОЦК). Фиксировались тахипноэ до 115,0 в минуту (норма $70,4 \pm 1,8$), тахикардия до 400,0 удара в минуту (норма $360,0 \pm 3,3$) [16].

Первую серию опытов составили животные без ЦП ($n=65$), которые были разделены на две группы. Группа 1 (контрольная) – интактные животные ($n=16$), группа 2 ($n=49$) – животные с острой кровопотерей различной степени тяжести: легкой ($n=15$), средней ($n=17$) и тяжелой ($n=17$).

Вторую серию опытов составили животные с ЦП ($n=71$), которые были разделены на две группы. Группа 3 – животные с ЦП без острой кровопотери ($n=17$), группа 4 ($n=54$) – животные с ЦП с острой кровопотерей различной степени тяжести: легкой ($n=18$), средней ($n=18$) и тяжелой ($n=18$).

Спустя 24 и 48 часов после перенесенной острой кровопотери у животных забирали кровь в объеме 1 мл для оценки состояния АОС, биохимических показателей МК, глюкозы, показателей красной крови.

Определение АОС проводили в тест-системе. В измерительную кювету, содержащую 2 мл 0,2 М карбонатного буфера (pH=10,55), вносили 0,1 мл 0,1%-го раствора адреналина гидрохлорида (0,26 мМ), перемешивали и начинали регистрацию реакции автоокисления адреналина при н. у. (22 °С). Длина волны составляла 347 нм (контрольная проба). Изменение оптической плотности раствора регистрировали каждые 5 сек. на протяжении 105 сек. на спектрофотометре Ultrospec 1100 PRO. Измерение оптической плотности раствора за 60 сек. расценивали как скорость реакции автоокисления адреналина. В аналогичных условиях измеряли скорость автоокисления адреналина в опытной пробе, в которую до внесения адреналина добавляли 0,1 мл сыворотки крови лабораторного животного. Изменение величины оптической плотности раствора во времени было линейным. Скорость (V) процесса расценивалась по формуле:

$\Delta E/t$,

где ΔE – изменение оптической плотности, то есть

$$\Delta E = E_t - E_0,$$

где E_0 – оптическая плотность раствора, измеренная сразу после добавления адреналина, а E_t – оптическая плотность раствора через 105 сек. после добавления адреналина, t – время в минутах.

Присутствие сыворотки крови в растворе ингибировало или активировало скорость автоокисления адреналина. Процент ингибирования или активации реакции вычисляли по формуле:

$$[1 - \Delta E_{оп} / \Delta E_k] \times 100\%,$$

где $\Delta E_{оп}$ и ΔE_k – скорости реакции автоокисления адреналина соответственно в присутствии и отсутствии сыворотки крови.

Ингибирование реакции расценивали как АОА, а активацию – как ПОА. Антиоксидантную активность сыворотки крови выражали в условных единицах: 1 условная единица – это 1% ингибирования реакции (+1 условная единица) или 1% активации реакции (-1 условная единица).

Определение концентрации МК, глюкозы сыворотки крови проводили на биохимическом анализаторе Clima MC 15 ферментативным колориметрическим и глюкозооксидантным методом соответственно. Показатели красной крови оценивали при помощи гематологического анализатора SYSMEX XP-300.

В эксперименте использованы реактивы: 0,1%-й раствор адреналина гидрохлорида «Shandong Shenglu Pharmaceutical Co., Ltd» (Китай), NaHCO_3 «J.T. Baker» (Голландия), NaOH «СмолТехноХим» (Россия).

Животные выводились из эксперимента путем одномоментной гильотинной декапитации спустя 48 ч. после забора крови.

Материалом для морфологического исследования служила ткань печени. Материал фиксировали в 10%-м растворе формалина, подвергали стандартной гистологической проводке с последующей заливкой

в парафин. Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили на микроскопе NikonEclipse 50i.

Статистическая обработка данных производилась с использованием пакета статистических программ Statistica 12.0. Оценку нормальности распределения числовых данных проводили с использованием критерия Shapiro – Wilk test. Цифровые данные были представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q¹; Q³), при распределении числовых признаков, не отличающихся от нормального распределения, – в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD). Сравнительный анализ между группами проводился с использованием критерия Mann – Whitney U-test. Различия между изучаемыми показателями считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Корреляционную зависимость определяли с использованием рангового критерия Tau Kendall. Расчет мощности исследования производился с использованием двустороннего t-критерия [17].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования получены данные о состоянии АОА сыворотки крови, содержании МК, глюкозы и показателей красной крови животных первой серии опытов, которые представлены в табл. 1.

Таблица 1
Показатели сыворотки крови лабораторных животных первой серии опытов

Сроки наблюдения	Показатель				
	АОА, %	Мочевая кислота, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л	Ег, $\times 10^{12}/л$	Нб, г/л
Контрольная группа (группа 1)					
	+55,9 [+13,3; +64,8]	11,18 \pm 5,4	4,8 [2,6; 6,6]	8,8 [5,4; 10,7]	158,5 [121,5; 167,5]
Легкая степень тяжести кровопотери (группа 2)					
24 ч.	+9,7 [+7,5; +14,7]*	11,6 [2,1; 12,3]*	6,4 [5,2; 8,6]*	5,2 [2,0; 6,1]*	105,0 [76,0; 111,0]*
48 ч.	+38,7 [+1,2; +55,7]	5,5 [3,1; 11,7]**	8,0 [2,0; 9,0]	3,1 [1,2; 6,0]	95,0 [69,0; 121,0]
Средняя степень тяжести кровопотери (группа 2)					
24 ч.	-27,8 [-36,9; +20,7]*	4,2 [2,4; 10,8]*	6,7 [2,2; 10,6]*	4,8 [3,1; 6,9]*	89,0 [74,0; 132,0]*
48 ч.	-14,7 [-20,8; -6,0]	12,4 [4,1; 14,8]**	7,8 [4,8; 14,9]**	2,8 [1,7; 5,0]	80,0 [72,0; 126,0]
Тяжелая степень тяжести кровопотери (группа 2)					
24 ч.	-58,4 [-66,1; -23,4]*	5,5 [2,3; 8,8]*	9,4 [3,2; 13,0]*	4,5 [1,0; 6,7]*	87,0 [81,0; 90,0]*
48 ч.	-17,3 [-37,8; +1,8]**	8,2 [4,0; 15,0]**	9,6 [2,9; 14,6]	2,9 [2,0; 6,8]	52,0 [41,0; 82,0]**

Примечания:

* различия являются статистически значимыми по сравнению с контрольной группой;

** с 24-часовым периодом.

Сыворотка крови контрольной (интактной) группы лабораторных животных обладала выраженной антиоксидантной активностью, медиана ингибирования реакции окисления адреналина составляла +55,9 [+13,3; +64,8] %. Далее отмечено, что спустя сутки, по мере увеличения дефицита ОЦК вследствие острой кровопотери, наблюдается умеренное истощение АОА организма с постепенным нарастанием выраженности ПОА: Ме ингибирования окисления адреналина уменьшилась с +55,9 [+13,3; +64,8] % до +9,7 [+7,5; +14,7] % при кровопотере легкой степени тяжести и далее снижалась до -27,8 [-36,9; +20,7] % при кровопотере средней степени тяжести, до -58,4 [-66,1; -23,4] % при тяжелой степени тяжести кровопотери ($p < 0,001$). ПОА сохранялась и наблюдалась на вторые сутки при кровопотере средней и тяжелой степени тяжести, несмотря на тенденцию к ее снижению с -27,8 [-36,9; +20,7] % до -14,7 [-20,8; -6,0] %, с -58,4 [-66,1; -23,4] % до -17,3 [-37,8; +1,8] % соответственно степени тяжести. Отмечено, что малая степень тяжести кровопотери влечет за собой сохранение и повышение АОА, которая спустя двое суток определяется на уровне +38,7 [+1,2; +55,7] % ($p < 0,001$).

В свою очередь, снижение концентрации МК в сыворотке крови находится в зависимости со степенью тяжести кровопотери, с нарастанием выраженности ПОА. Так, показатель уровня МК контрольной группы животных составил $11,18 \pm 5,4$ мкмоль/л и снижался до 5,5 [2,3; 8,8] мкмоль/л при тяжелой степени кровопотери спустя сутки после перенесенной кровопотери ($p < 0,001$). Спустя 48 часов отмечена незначительная тенденция к увеличению концентрации МК после перенесенной острой кровопотери, что, вероятно, обусловлено увеличением канальцевой реабсорбции уратов и активацией катаболизма аденилатов [18]. Увеличение содержания МК формирует АОА сыворотки крови.

В прямой взаимосвязи находилась концентрация глюкозы сыворотки крови со степенью тяжести кровопотери. По истечении 48 часов отмечается увеличение концентрации глюкозы по сравнению с показателями одних суток. Это связано с тем, что по мере увеличения степени тяжести кровопотери и соответствующего снижения кислородтранспортной функции крови возрастает уровень гликемии, что обусловлено переходом аэробного энергетического фенотипа на менее эффективный – анаэробный.

Тяжесть кровопотери подтверждалась статистически значимым снижением количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови лабораторных животных уже через 24 часа после перенесенной кровопотери с дальнейшим прогрессированием анемического синдрома ($p < 0,05$).

Таким образом, по мере увеличения степени тяжести кровопотери отмечается истощение АОА с нарастанием выраженности прооксидантных свойств сыворотки крови, снижение концентрации мочевой кислоты, увеличение концентрации глюкозы.

Лабораторные данные, полученные во второй серии опытов, о состоянии АОА, содержании МК, глюкозы и показателей красной крови обобщены в табл. 2.

Количество эритроцитов и уровень гемоглобина группы животных с ЦП находились на более низком уровне по отношению к группе животных без данной патологии ($p < 0,001$), что обусловлено нарушением

По мере увеличения степени тяжести кровопотери отмечается истощение АОА с нарастанием выраженности прооксидантных свойств сыворотки крови, снижение концентрации мочевой кислоты, увеличение концентрации глюкозы.

Таблица 2

Показатели сыворотки крови лабораторных животных второй серии опытов

Сроки наблюдения	Показатель				
	АОА, %	Мочевая кислота, мкмоль/л	Глюкоза, ммоль/л	Er, $\times 10^{12}/л$	Нб, г/л
Животные с ЦП (группа 3)					
	+30,4 [+10,1; +40,8]	6,1 [3,1; 6,7]	4,1 [2,3; 6,5]	9,1 [4,3; 10,6]	139,0 [111,0; 145,0]
Легкая степень тяжести кровопотери (группа 4)					
24 ч.	-9,8 [-12,6; -7,1]*	5,0 [2,6; 7,8]	6,0 [3,5; 8,6]*	7,6 [3,0; 9,2]*	116,0 [85,0; 133,0]*
48 ч.	+4,2 [-3,6; +7,0]**	7,8 [1,1; 9,7]	4,4 [1,4; 10,7]	2,8 [1,4; 8,7]	86,5 [68,0; 148,0]
Средняя степень тяжести кровопотери (группа 4)					
24 ч.	-43,5 [-50,1; -38,9]*	3,9 [0,0; 5,7]*	6,2 [3,5; 9,8]*	5,4 [3,1; 7,3]*	96,5 [71,0; 121,0]*
48 ч.	-26,5 [-35,7; -10,9]**	4,0 [3,0; 4,9]	6,1 [2,2; 13,2]	2,2 [1,7; 5,5]**	70,0 [55,0; 120,0]
Тяжелая степень тяжести кровопотери (группа 4)					
24 ч.	-105,7 [-119,0; -90,2]*	0,0 [0,0; 0,7]*	10,7 [4,0; 12,8]*	3,6 [2,5; 5,5]*	76,0 [67,0; 83,0]*
48 ч.	-47,3 [-60,4; -33,4]**	1,6 [0,0; 4,4]	12,0 [2,4; 13,4]	2,3 [1,4; 3,8]**	59,5 [50,0; 64,0]**

Примечания:

* различия являются статистически значимыми по сравнению с контрольной группой;

** с 24-часовым периодом.

гемопоза при ЦП. Содержание эритроцитов и уровень гемоглобина закономерно снижались в соответствии со степенью тяжести кровопотери. Спустя 48 часов отмечалось прогрессирование анемического синдрома.

Сыворотка крови животных с экспериментальным ЦП обладала слабовыраженной антиоксидантной активностью +30,4 [+10,1; +40,8] %, которая менее выражена в сравнении с группой животных без цирроза печени ($p < 0,001$). Спустя сутки АОА сыворотки крови быстро истощалась в соответствии со степенью тяжести кровопотери, отмечалось выраженное превалирование ее прооксидантных свойств. Так, показатель АОА уменьшился с +30,4 [+10,14; +40,8] %, до -9,8 [-12,6; -7,1] % при легкой степени тяжести кровопотери, далее отмечено нарастание степени выраженности ПОА: с -9,8 [-12,6; -7,1] % до -43,5 [-50,1; -38,9] % при средней степени тяжести кровопотери с последующим прогрессированием выраженности ПОА вплоть до -105,7 [-119,0; -90,2] % при тяжелой степени тяжести ($p < 0,001$). Спустя 48 часов отмечалась тенденция к снижению прооксидантных свойств сыворотки крови: показатель АОА при легкой степени тяжести кровопотери составил +4,2 [-3,6; +7,0] % (антиоксидантная активность), при тяжелой -47,3 [-60,4; -33,4] %, что объясняется участием МК как эндогенного антиоксиданта в уменьшении количества АФК ($p < 0,001$).

Уровень МК у животных с ЦП составил 6,1 [3,1; 6,7] мкмоль/л и находился значительно ниже такового по сравнению с контрольной группой – $11,18 \pm 5,4$ мкмоль/л ($p < 0,001$), что отражает снижение антиоксидантных свойств сыворотки крови. По мере увеличения дефицита ОЦК отмечается снижение концентрации МК вплоть до уровня, не детектируемого используемым методом. В частности, для легкой степени кровопотери этот показатель составил 5,0 [2,6; 7,8] мкмоль/л и далее падал до 0,0 [0,0; 0,7] мкмоль/л для тяжелой степени тяжести кровопотери, что можно объяснить, с одной стороны, активацией цикла ресинтеза пуриновых нуклеотидов, которые утилизируются с высокой скоростью и, параллельно, с другой – их катаболизмом до МК. Однако спустя 48 часов после перенесенной кровопотери содержание МК в сыворотке возрастало, что может быть связано с увеличением почечной реабсорбции.

У животных с экспериментальным ЦП возрастает концентрация глюкозы по отношению к контролю, что обусловлено адренергической стимуляцией системы регуляции гликемии, последующим формированием феномена инсулинорезистентности [19]. Выраженность гипергликемии коррелирует с увеличением степени тяжести кровопотери. Так, концентрация глюкозы у животных, перенесших легкую степень кровопотери, в сыворотке крови спустя сутки составила 6,0 [3,5; 8,6] ммоль/л, у животных со средней степенью – 6,2 [3,5; 9,8] ммоль/л, у животных с тяжелой степенью – 10,7 [4,0; 12,8] ммоль/л ($p < 0,001$). Дальнейшее повышение уровня глюкозы сохранялось спустя 48 часов, что свидетельствует о мобилизации компенсаторных возможностей организма в ответ на перенесенную кровопотерю.

Таким образом, наличие ЦП у животных с острой кровопотерей определяет степень изменений лабораторных параметров по отношению к животным с острой кровопотерей без ЦП: прооксидантные свойства сыворотки крови возрастают, а показатели уровня МК, глюкозы, красной крови заметно снижаются, причем выраженность изменений этих показателей пропорциональна степени тяжести кровопотери как через 24 часа ($t = 0,934$ до $0,414$; $p < 0,001$), так и через 48 часов после кровопотери ($t = 0,853$ до $0,286$; $p < 0,01$).

При микроскопическом исследовании печени животных группы 4, перенесших легкую степень кровопотери, отмечено наличие узлов-регенератов в цирротической печеночной ткани. Гепатоциты находились в состоянии жировой и гиалиново-капельной дистрофии. В перипортальных зонах и центрлобулярных зонах наблюдалось полнокровие кровеносных сосудов. При средней степени тяжести кровопотери печень имела морфологическое строение, соответствующее таковому при легкой степени тяжести кровопотери. Однако степень полнокровия сосудов портальных трактов и крупных междолевых артерий была несколько меньше при сравнении с легкой степенью кровопотери. При тяжелой степени кровопотери печень характеризовалась наличием узлов-регенератов, нарушением балочного строения, разрастанием соединительной ткани, очагами жировой и гидропической дистрофии гепатоцитов. Центральные вены печеночных долек находились в состоянии полнокровия. Степень ее выраженности была меньшей в сравнении с циррозом печени. Сосуды портальных трактов также были полнокровны, но в сравнении с легкой и средней степенью тяжести кровопотери ее выраженность была меньше.

Сыворотка крови здоровых животных обладает выраженной антиоксидантной активностью. При ЦП наблюдается снижение АОА сыворотки крови. Острая кровопотеря при ЦП напрямую влияет на интенсивность протекания ПОЛ, инициирующего гиперпродукцию АФК, и ведет к нарушению состояния антиоксидантного статуса: глубина изменений которого пропорциональна степени тяжести кровопотери. Так, показатель АОА крови контрольной группы животных составил +55,9 [+13,3; +64,8] %, животных с ЦП – +30,4 [+10,1; +40,8] % и далее, по мере увеличения степени тяжести кровопотери, возрастала ПОА сыворотки крови: для легкой –9,8 [–12,6; –7,1] %, для средней –43,5 [–50,1; –38,9] %, для тяжелой степени тяжести кровопотери –105,7 [–119,0; –90,2] % спустя сутки. Проявление прооксидантных свойств сыворотки крови свидетельствует о развитии окислительного стресса, наибольшее проявление которого отмечается у животных с тяжелой степенью кровопотери на фоне ЦП.

Выявлено, что уровень содержания МК напрямую зависит от состояния антиоксидантного статуса сыворотки: по мере истощения антиоксидантного потенциала и формирования прооксидантной активности уровень МК постепенно снижается, что, вероятно, связано с ее участием в антирадикальных процессах.

Наличие гипергликемии у животных с ЦП может быть обусловлено стресс-индуцирующей стимуляцией системы регуляции уровня гликемии. В частности, концентрация глюкозы в крови животных с ЦП и перенесенной острой тяжелой кровопотерей достоверно возрастает более чем в два раза по сравнению с интактными животными.

Показатели красной крови, морфологические данные экспериментальных животных четвертой группы подтверждают наличие острой перенесенной кровопотери на фоне цирроза печени.

Таким образом, наличие цирроза печени в сочетании с острой кровопотерей ведет к развитию редокс-дисбаланса: гиперпродукции АФК, определяющих прооксидантную активность сыворотки крови, с последующим формированием окислительного стресса. Окислительный стресс усугубляет постгеморрагическое состояние на фоне портальной гипертензии, опосредованной циррозом печени, и ведет к развитию синдрома полиорганной недостаточности. Раннее включение в комплексную терапию острой кровопотери на фоне цирроза печени препаратов с антиоксидантной активностью может быть рекомендовано с целью коррекции нарушений антиоксидантного статуса, органной дисфункции и минимизации риска развития синдрома полиорганной недостаточности.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сыворотка крови здоровых лабораторных животных имеет высокую антиоксидантную активность. Однако при циррозе печени наблюдается существенное ее снижение. Наличие острог кровотечения при циррозе печени ведет к ее полному истощению и формированию выраженной прооксидантной активности крови, развитию окислительного стресса и органной дисфункции, которые в совокупности способствуют развитию и/или усугублению проявлений синдрома полиорганной недостаточности. Полученные данные могут служить основанием для

Наличие цирроза печени в сочетании с острой кровопотерей ведет к развитию редокс-дисбаланса: гиперпродукции АФК, определяющих прооксидантную активность сыворотки крови, с последующим формированием окислительного стресса.

разработки мероприятий по коррекции нарушений антиоксидантного статуса и сопутствующих нарушений в терапии острой кровопотери на фоне цирроза печени путем применения препаратов, обладающих антиоксидантной активностью.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Beier J.L., McClain C.J. (2010) Mechanisms and cell signaling in alcoholic liver disease. *Journal of biological chemistry*, 391 (11), pp. 1249–64. doi: 10.1515/BC.2010.137.
2. Pablo Muriel (2009) Role of free radicals in liver diseases. *Hepatology international*, 3 (4), pp. 526–536. doi: [10.1007/s12072-009-9158-6].
3. Groot H., Rauen U. (2007) Ischemia–reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. *Transplantation Proceedings*, 39 (2), pp. 481–4.
4. Halina Cichoż-Lach, Agata Michalak (2014) Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World Journal Gastroenterology*, 20 (25), pp. 8082–8091. doi: [10.3748/wjg.v20.i25.8082].
5. Jaeschke H. (2003) Molecular mechanism of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am Jounal Physiol Gastrointest and Liver Physiology*, 284 (1), pp. 15–26.
6. Tanaka J., Kamiyama Y., Sato T., Ukikusa M., Jones R.T., Cowley R.A., Trump B.F. (1981) Pathophysiology of hemorrhagic shock. A role of arterial ketone body ratio as an index of anoxic metabolism of the liver in acute blood loss. *Advances in shock research*, vol. 5, pp. 11–25.
7. Sazontova T. (2002) Zakonomernosti modulyatsii antioksidantnogo statusa kletki v otvet na aktivatsiyu svobodnoradikal'nogo okisleniya [Laws of modulation of antioxidant status of cell in response to activation of free radical oxidation]. *Hyp. Med. J.*, vol. 10, no 1–2, pp. 2–9.
8. Zarubina I. (1999) Biohimicheskie aspekty gipoksicheskikh povrezhdenii kletki. *Hypertension Medicine Journal*, vol. 7, no 1–2, pp. 2–9.
9. Lerman A., Zeiher A.M. (2005) Endothelial function: cardiac events. *Mayo clinic. Circulation*, 111 (3), pp. 363–8.
10. Ziblev S., Dundarov Z., Gritsuk A., Zibleva S. (2016) Rol' mochevoi kisloty v sisteme antioksidantnoi zashchity organizma [Role of uric acid in the system of antioxidant protection of the organism]. *Problemi zdorov'ya i ekologii*, 1 (47), pp. 50–55.
11. Mytilineou C., Kramer B.C., Yabut J.A. (2002) Glutathione depletion and oxidative stress. *Parkinsonism Relat Disord.*, 8 (6), pp. 385–7.
12. Sirota T. (2000) Patent № 2144674, Rossiiskaya Federatsiya, MPK7 G01N33/52, G01N33/68. Sposob opredeleniya antioksidantnoi aktivnosti superoksidodismutazy i himicheskikh soedineniy. № 99103192/14; zayavl. 24.02.1999; opubl. 20.01.2000 [Method of determination of antioxidant activity of superoxide dismutase and chemical compounds]. *B.I.P.M.*, 2, pp. 266.
13. Gritsuk A. (2006) Otsenka sostoyaniya antioksidantnoi aktivnosti sleznoi zhidkosti [Assessment of the state of antioxidant activity of tear fluid]. *Biomeditsinskaya himiya*, vol. 52, no 6, pp. 601–608.
14. Evseenko D., Dundarov Z., Nadirov E. (2018) Eksperimental'naya model' tsirroza pecheni u laboratornih zhivotnih. *Problemi zdorov'ya i ekologii*, 1 (59), pp. 72–77.
15. Ziblev S., Dundarov Z., Martem'yanova L. (2013) Eksperimental'naya model' gemorragicheskogo shoka [Experimental model of hemorrhagic shock]. *Problemi zdorov'ya i ekologii*, 1 (35), pp. 109–113.
16. Zapadnyuk I., Zapadnyuk V., Zahariya E., Zapadnyuk B. (1983) *Laboratornie zhivotnie. Razvedenie, sodержание, ispol'zovanie v eksperimente* [Laboratory animals. Breeding, keeping, using in experiment]. Kiev. Golovnoe izdatel'stvo izdatel'skogo ob'edineniya «Vischa shkola», 383 p.
17. Rebrova O. (2000) *Statisticheskii analiz meditsinskih danih. Primenenie paketa prikladnih programm STATISTICA* [Statistical analysis of medical data. Use of STATISTICA software]. Moscow. «MediaSfera», 312 p.
18. Prado de Oliveira E., Carlos Burini R. (2012) High plasma uric acid concentration: causes and consequences. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. doi: 10.1186/1758-5996-4-12
19. Kawaguchi T., Taniguchi E., Itou M., Sakata M., Sumie S., Sata M. (2011) Insulin resistance and chronic liver disease. *World Journal Hepatol.*, 3 (5), pp. 99–107. doi: 10.4254/wjh.v3.i5.99

Поступила/Received: 05.03.2019

Контакты/Contacts: ayvengoo@yandex.ru