

О РОЛИ АКТИВАЦИИ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Г. А. Афанасьева, Н. П. Чеснокова

Саратовский государственный медицинский университет

Активация перекисного окисления при нарастании клинических признаков чумной интоксикации и развитии гипоксического синдрома является внешним проявлением цитопатогенетических эффектов ядов и ферментативных факторов возбудителя. Абсолютная или относительная недостаточность ферментного звена антиокислительной системы крови является ведущим патогенетическим фактором дезорганизации липидных компонентов биологических мембран клеток крови, оказывает потенцирующее воздействие на иницирующие механизмы развития геморрагического синдрома.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, чумная интоксикация.

ROLE OF LIPOPEROXIDATION ACTIVATION IN PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL PLAGUE INTOXICATION

G. A. Afanaseva, N. P. Chesnokova

Activation of lipid peroxidation increasing during elevation of clinical symptoms of *Y. pestis* intoxication and hypoxic syndrome development, is the efferent link in cytopathogenic effects of toxic and enzymatic factors of this microorganism. Absolute or relative insufficiency of enzymatic mechanisms of blood antioxidant protection systems is the main pathogenetic factor in lipid components of biomembrane destruction leading to the haemorrhagic syndrome development in *Y. pestis* intoxication.

Key words: lipid peroxidation, *Y. pestis* intoxication.

В динамике бактериальных инфекций и интоксикаций, в том числе чумной, вслед за иницирующим воздействием специфических патогенных факторов инфекционных возбудителей, как правило, возникают вторичные неспецифические функциональные и метаболические расстройства, определяющие тяжесть течения и исход патологии [2, 4].

Установлено, что в механизмах развития особо опасных заболеваний, в частности чумной инфекции, важнейшая роль должна быть отведена комплексу патогенных факторов: бактериальному эндотоксину, «мышинному» токсину, ферментам чумного микроба (гиалуронидазе, нейраминидазе, фибринолизину, фосфолипазе, протеазе широкой субстратной специфичности, коагулазе, уреазе, пероксидазе, каталазе, альдолазе, рибонуклеазе, дифосфопиридиннуклеотидазе, гемолизину и др.) [3, 5].

Указанный факт в значительной мере затрудняет экспериментальную оценку характера биологических эффектов тех или иных токсических факторов возбудителя чумы и, соответственно, разработку патогенетически обоснованных принципов терапии этого грозного заболевания. В связи с этим несомненна значимость экспериментальных исследований, направленных на изучение общих закономерностей и особенностей патогенных эффектов различных токсинов и ферментов чумного микроба, их взаимопотенцирующего действия.

Как известно, характерной особенностью чумной инфекции и интоксикации, независимо от клинических проявлений чумы, является гипоксия

сложного генеза. Последняя обусловлена тяжелыми расстройствами системной гемодинамики, регионарного кровотока и микроциркуляции, в основе которых лежит комплекс патогенных факторов: прямое миокардиотоксическое действие токсических и ферментных факторов возбудителя, а также изменение реологических свойств, гемостатического потенциала крови, активности фибринолитической системы, и, соответственно, развитие геморрагического синдрома [9]. Обращает на себя внимание тот факт, что наряду с циркуляторной гипоксией возникает и выраженная гемическая гипоксия. Последняя обусловлена массивным гемолизом эритроцитов под влиянием гемолизина чумного микроба. В то же время в динамике чумной интоксикации формируется тканевая гипоксия, на это указывают данные литературы относительно повышения проницаемости мембран митохондрий, нарушения транспорта электронов в ферментной дыхательной цепи [2, 3].

Как известно, для гипоксии характерны активация свободнорадикального окисления липидов, дестабилизация биологических мембран, что, естественно, может явиться одним из патогенетических факторов нарушения внешнего и внутреннего механизмов формирования прокоагулянтной активности и, соответственно, коагулянтного потенциала крови [6—8]. В связи с этим становится очевидной целесообразность использования показателей активности процессов липопероксидации (ЛПО) и антиоксидантной системы (АОС) крови в качестве критериев оценки степени вы-

раженности цитопатогенных эффектов токсинов и ферментов чумного микроба.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнительная оценка биологических эффектов комплекса токсических и ферментных факторов патогенности аутолизата вакцинного штамма *EB Y.pestis* и эффектов «мышинного» токсина на состояние процессов ЛПО, а также установление патогенетической взаимосвязи между тяжестью клинических проявлений чумной интоксикации и состоянием антирадикальной защиты клеток системы циркулирующей крови.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные модели чумной интоксикации достигались внутрибрюшинным введением беспородным белым крысам обоего пола массой 150—200 г чумного аутолизата и «мышинного» токсина в дозах, эквивалентных ЛД₅₀. Токсины получены из РосНИПЧИ «Микроб» г. Саратова.

Для решения поставленной задачи прежде всего было изучено состояние ЛПО и ферментного звена АОС крови в экспериментах на крысах, затравленных чумным аутолизатом, содержащим до 29 токсических субстанций, в частности, эндотоксин, «мышинный» токсин, гиалуронидазу, коагулазу, нейраминидазу и др.

В сравнительных сериях экспериментов использовалась модель чумной интоксикации, достигаемая введением животным фракции FII («мышинного» токсина). По данным Baker E. S. и соавт. (1952), «мышинный» токсин является белком, входящим в состав водорастворимых поверхностных «оболочечных» антигенов клетки, и выступает в роли одного из важнейших факторов патогенности чумного микроба, определяющих тяжесть клинических проявлений и характер метаболических расстройств при чумной интоксикации [1].

Исследования проведены в динамике развития интоксикаций: на ранней стадии доклинических проявлений патологии, среднетяжелой и тяжелой стадиях патологии. В различных модификациях экспериментов исследовали концентрации гидроперекисей липидов (ГПЛ) и малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и эритроцитах, а также показатели, характеризующие АОС, — активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы крови общепринятыми спектрофотометрическими методами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе развития интоксикации, достигаемой введением чумного аутолизата, выявлена значительная активация процессов ЛПО. Об этом свидетельствовало выраженное накопление ГПЛ и МДА в плазме крови и эритроцитах экспериментальных животных уже на ранней стадии патологии до развития

геморрагического и гипоксического синдромов. Результаты исследований, проведенных спустя 4 часа после введения чумного аутолизата, на фоне выраженных клинических проявлений (общей интоксикации, адинамии, одышки) указывали на дальнейшую активацию свободнорадикального окисления: уровень ГПЛ в плазме крови, эритроцитах и МДА в эритроцитах оставался стабильно высоким, а МДА в плазме крови прогрессирующе возрастал. По мере развития интоксикации (спустя 24 часа) на фоне тяжелых проявлений гипоксического синдрома, нарастал уровень ГПЛ и МДА в плазме крови и эритроцитах не только по сравнению с таковыми показателями контроля, но и предшествующей среднетяжелой стадии интоксикации.

Касаясь механизмов выявленного нами повышения содержания в крови промежуточных продуктов перекисного окисления липидов, необходимо отметить, что чрезмерная активация процессов ЛПО в условиях воздействия чумного аутолизата может иметь сложный генез. С одной стороны, очевидна возможность избыточного образования свободных радикалов в результате цитопатогенного воздействия токсинов и ферментов чумного микроба на биологические мембраны, в частности митохондриальные и эндоплазматические, где возможно образование активных форм кислорода при прогрессирующей гипоксии в процессе одно- и трехэлектронного восстановления кислорода. В то же время очевидна возможность развития недостаточности антиоксидантной защиты клеток в связи с подавлением активности ферментного звена под влиянием свободных радикалов.

Для частичного решения этого вопроса прежде всего изучена активность ферментов: СОД и каталазы периферической крови на различных стадиях чумной интоксикации, индуцируемой введением чумного аутолизата. Как оказалось, в динамике интоксикации возникала активация каталазы эритроцитарной массы, сохраняющаяся стабильной по мере развития патологии. Лишь на тяжелой стадии интоксикации отмечено повышение активности каталазы плазмы крови, что свидетельствовало о возникновении синдрома цитолиза, поскольку указанный фермент имеет в основном внутриклеточную локализацию.

Активность СОД крови не претерпевала существенных изменений на ранней стадии интоксикации и повышалась с равной интенсивностью спустя 4 и 24 часа после введения чумного аутолизата.

В связи с этим можно сделать заключение, что обнаруженное повышение активности СОД цельной крови и каталазы эритроцитов в условиях моделирования интоксикации с использованием чумного аутолизата явно неадекватно степени интенсификации процессов ЛПО и не предотвращает дестабилизирующего воздействия на биологические мембраны из-

быточного количества свободных радикалов, в частности, продуктов перекисного окисления липидов.

Таблица 1

Состояние процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты крови при экспериментальной интоксикации, вызванной введением чумного аутолизата

Показатели	Контроль	Стадии интоксикации		
		доклиническая	средне-тяжелая	тяжелая
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
МДА(плазма), мкмоль/мл	$1,3 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,3^{***}$
МДА(эритроциты), мкмоль/мл	$6,7 \pm 0,4$	$8,6 \pm 0,6^{***}$	$7,1 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,3$
ГПЛ (плазма), Ед/мл	$1,4 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,1^*$	$3,4 \pm 0,2^*$	$10,4 \pm 0,9^*$
ГПЛ (эритроциты), Ед/мл	$25,0 \pm 1,9$	$30 \pm 2,3^*$	$51,0 \pm 0,7^*$	$99,0 \pm 1,7^*$
Каталаза (плазма), катал/мл	108 ± 6	97 ± 4	$57 \pm 6^*$	95 ± 4
Каталаза (эритроциты), катал/мл	1300 ± 37	$1432 \pm 17^*$	$1438 \pm 15^*$	$1407 \pm 17^{**}$
СОД (цельная кровь), Ед/мл	336 ± 10	$321 \pm 8^*$	385 ± 9	$408 \pm 13^\circ$

* Достоверные различия с соответствующими показателями контрольной серии $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,02$; ° $p < 0,05$.

В последующих сравнительных сериях экспериментов проведена оценка влияния «мышинного» токсина на состояние процессов ЛПО и активность ферментов АОС в динамике интоксикации у белых крыс.

Таблица 2

Состояние процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты крови при экспериментальной интоксикации, вызванной введением «мышинного» токсина

Показатели	Контроль	Стадии интоксикации		
		доклиническая	средне-тяжелая	тяжелая
	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
МДА (плазма), мкмоль/мл	$1,3 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1^{**}$
МДА (эритроциты), мкмоль/мл	$6,4 \pm 0,2$	$6,5 \pm 0,4$	$6,9 \pm 0,3$	$8,1 \pm 0,2^*$
ГПЛ (плазма), Ед/мл	$1,5 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,3^*$	$3,5 \pm 0,1^{**}$	$3,9 \pm 0,04^*$
ГПЛ (эритроциты), Ед/мл	27 ± 1	$30 \pm 1^{***}$	$32 \pm 2^{**}$	$39 \pm 1^*$
Каталаза (плазма), катал/мл	116 ± 1	$107 \pm 2^{**}$	$108 \pm 2^?$	$105 \pm 2^*$
Каталаза (эритроциты), катал/мл	1274 ± 18	$1072 \pm 12^{**}$	$1038 \pm 9^{**}$	$976 \pm 9^{**}$
СОД (цельная кровь)	337 ± 7	$387 \pm 12^*$	$303 \pm 12^*$	$305 \pm 10^{**}$

Как оказалось, спустя 1,5—2, 4 и 10 часов после введения чумного «мышинного» токсина белым крысам происходит прогрессирующее по мере утяжеления клинической картины патологии накопление ГПЛ как в плазме крови, так и в эритроцитах экспериментальных животных. Значительное повы-

шение уровня МДА в плазме крови и эритроцитах, превышающее контрольные показатели, было отмечено лишь на тяжелой стадии интоксикации. Каталазная активность эритроцитарной массы прогрессирующе уменьшалась по мере утяжеления состояния экспериментальных животных. Активность СОД превышала контрольные показатели лишь на легкой стадии интоксикации. На среднетяжелой и тяжелой стадиях имело место подавление активности этого фермента. Таким образом, прогрессирующее накопление продуктов ЛПО в плазме крови и эритроцитах экспериментальных животных в модификациях экспериментов с использованием «мышинного» токсина происходило на фоне абсолютной недостаточности активности ферментных звеньев АОС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эфферентным звеном реализации цитопатогенных эффектов токсических и ферментных факторов патогенности *Y.pestis* является активация процессов ЛПО, усугубляющаяся по мере утяжеления клинических проявлений интоксикации и развития гипоксического синдрома.

Активация ферментативного звена АОС крови при интоксикации, достигаемой введением чумного аутолизата экспериментальным животным, безусловно, носит адаптационно-приспособительный характер, но в то же время недостаточна для подавления прогрессирующего накопления в крови активных форм кислорода и других свободных радикалов.

Моделирование чумной интоксикации с использованием «мышинного» токсина в дозе, эквивалентной ЛД50 и, соответственно, превышающей дозу «мышинного» токсина в чумном аутолизате в используемой модификации экспериментов, сопровождалось прогрессирующим в динамике интоксикации снижением активности СОД и каталазы крови.

Абсолютная или относительная недостаточность ферментного звена АОС крови, обнаруженная в различных вариантах моделирования чумной интоксикации, является ведущим патогенетическим фактором дезорганизации липидных компонентов биологических мембран клеток крови различной морфофункциональной организации, оказывает потенцирующее воздействие на иницирующие механизмы развития геморрагического синдрома при изучаемой патологии за счет нарушения внутреннего и внешнего механизмов формирования протромбиназной активности крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов А. П. // Молекул.генетика, микробиол. и вирусол. — 2002, №3. — С. 3—23.
2. Каграманов В. С. // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. — 2001. — №3. — С. 8—11.

3. Мишанькин М. Б. Структурно-функциональная характеристика «мышинного» токсина чумного микроба: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Ростов-н/Д, 1997. — 20 с.

4. Саникидзе Т. В., Тхилава Н. Г., Папава М. Б. // Бюл. эксп. биол. и мед. — 2006. — № 2. — С.172—176.

5. Соколова Е. П. Механизмы активации токсических субстанций чумного микроба: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Саратов, 2002. — 21 с.

6. Чеснокова Н. П., Михайлов Е. В., Понукалина Е. В. и др. Инфекционный процесс. — М., 2006. — 434 с.

7. Чеснокова Н. П., Моррисон В. В., Брилли Г. Е. и др. Типовые патологические процессы. — Саратов, 2004. — 390 с.

8. Чеснокова Н. П., Понукалина Е. В., Бизенкова М. Н. и др. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов. — Саратов, 2006. — 177 с.

9. Tapper H., Herwald H. // Blood. — 2000. — Vol. 96, № 7. — P. 2329—2337.

Контактная информация

Афанасьева Галина Александровна — к. м. н., доцент кафедры патологической физиологии Саратовского государственного медицинского университета, e-mail: gafanaseva@yandex.ru.