

УДК 616.1—005.4

Л. В. ЛЕБЕДЕВ, А. О. ЛЕВИН, А. М. ШАПОШНИКОВ, М. П. РОМАНКОВА,
Л. В. ШАБУНЕВИЧ, В. Л. ГРИГОРЬЕВ, Л. М. МЯГКОВА, В. А. БРАЙНИН,
С. И. СЕРГЕЕВА, А. Е. СОРОКИН

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИАРТЕРИАЛЬНОЙ ИНФУЗИИ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА ПРИ ИШЕМИИ КОНЕЧНОСТИ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ

В экспериментах исследовались содержание меди, гистамина, активность церулоплазмينا, супероксиддисмутазы и каталазы в процессе внутриартериальной инфузии перекиси водорода. Показано, что слабые растворы перекиси водорода вызывали снижение концентрации гистамина в крови и нормализацию активности церулоплазмينا и каталазы, что отражает положительную динамику окислительно-восстановительных процессов в ишемизированных тканях.

В комплексе различных методов лечения больных с патологией сосудов определенное место может занять оксигенация ишемизированной конечности с помощью химических веществ. Наше внимание привлекла перекись водорода (H_2O_2), о положительном эффекте которой появился ряд сообщений [8, 16 и др.]. Однако H_2O_2 обладает и токсическим действием, что сдерживает ее применение [13, 16]. Последнее может быть следствием взаимодействия H_2O_2 с Fe^{2+} , в результате чего образуются чрезвычайно активные окислители—гидроксильные радикалы OH^- и супероксидные анионы O_2^- [7]. Таким образом, оптимальная концентрация растворов H_2O_2 , которая может быть применена в клинике, нуждается в уточнении. Наиболее важным звеном в защите живых систем от действия токсических компонентов метаболизма кислорода, образующихся как при нормальном функционировании организма, так и при повышенной концентрации кислорода, являются супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза, синергизм действия которых имеет место во многих тканях. Принимая во внимание важную роль меди и медьсодержащего белка α_2 -глобулиновой фракции—церулоплазмينا (ЦП), принимающего непосредственное участие в процессе переноса электронов на кислород, было решено изучить их динамику одновременно с исследованием активности СОД и каталазы для суждения о влиянии инфузии H_2O_2 на окислительно-восстановительные процессы в тканях. Известно, что ЦП, в состав которого входит до 98% всей меди сыворотки крови, участвует в регуляции обмена меди, транспорти-

руя ее для синтеза медьсодержащих ферментов, в частности, СОД и цитохромоксидазы [12]. Уровень активности ЦП зависит как от скорости его биосинтеза в печени и деградации, так и от содержания гистамина в крови, который является положительным аллостерическим эффектом по отношению к ЦП [6].

Материал и методы исследования

Были поставлены две серии опытов на 30 собаках массой 8—12 кг. В обеих сериях наркоз проводился идентично: премедикация—гексенал 1% р-р 10 мл в/м, затем в/в оксибутират натрия (1 г/кг массы) с последующим добавлением в/в 0,5% р-ра гексенала.

В I серии (14 опытов) обнажали общую бедренную артерию на одной из задних конечностей и через боковую ветвь вводили тонкий полихлорвиниловый катетер для последующей инфузии растворов. Аналогично выполняли катетеризацию глубокой вены бедра обеих задних конечностей для забора крови. 9 собакам внутриартериально вводили 0,15% раствор H_2O_2 (0,04 М) со скоростью 0,3 мл/мин в дозе 3 мл/кг с помощью автоматического инжектора. Контрольную группу составили 5 собак: им вводили в артерию физиологический раствор в той же дозе с такой же скоростью. Исследования проводили сразу после премедикации, после введения в наркоз до начала инфузии и по окончании ее, причем на последнем этапе одновременно брали кровь из вены инфузировавшейся конечности и интактной.

Во II серии (16 опытов) внутриартериальное введение проводили на фоне предварительно вызванной острой ишемии тканей конечности. С этой целью перевязывали общую бедренную артерию и после часовой экспозиции приступали к инфузии. В этой серии опытов животным вводили H_2O_2 в различной концентрации: 0,25% (4), 0,15% (6) и 0,07% (1). Контрольным животным (5) вводили физиологический раствор. Дозы и скорость введения не отличались от I серии. Введение растворов проводили на фоне прогрессирующей ишемии, длительность которой к концу инфузии составляла в среднем 2,5 часа.

Кровь исследовали на следующих этапах: 1) после премедикации, 2) после введения в наркоз, 3) через 1 час после перевязки общей бедренной артерии одновременно в интактной и ишемизированной конечностях, 4) после окончания инфузии растворов одновременно в инфузировавшейся и контрольной конечностях.

У животных обеих серий исследовали содержание меди (мкг%) и активность ЦП (усл. ед., соответствующие $E_{530-1000}$) в сыворотке крови, активность СОД (усл. ед./мг белка) в эритроцитах, содержание гистамина (мкг%) и активность каталазы (усл. ед.) в цельной крови.

Содержание меди определяли по методу Б. А. Машкова и Л. В. Дмитриевой [4], активность ЦП по методу Ravin [15], активность СОД—по методу Fried [9] в нашей модификации (последняя вызвана тем, что указанный метод не пригоден для определения активности СОД в гемолизатах, в связи с чем для осаждения гемоглобина к гемо-

лизированным водой эритроцитам мы добавляли хлороформ-этанольную смесь), содержание гистамина—по методу С. А. Мещеряковой [5], активность каталазы—по методу Баха и Зубковой [1], содержание белка—по методу Lowry [11].

Результаты и обсуждение

В I серии опытов (табл. 1) в ответ на наркоз, операцию и последующую инфузию как физиологического раствора, так и H_2O_2 наблюдалась тенденция к снижению содержания меди, активности ЦП и СОД: при введении физиологического раствора—на 25, 20 и 18%, при введении H_2O_2 —на 15, 25 и 9% по сравнению с исходными данными.

Таблица 1

Влияние инфузии раствора H_2O_2 на содержание меди, активность ЦП и СОД в крови собак

Изученный показатель	Премедикация	Наркоз	И н ф у з и я		
			ВК	ВИ	
				перекись водорода	физ. р-р
Медь	143,0±11,2	137,0±6,3	123,0±9,0	119,0±9,6	108,0±13,7
ЦП	84,5±6,5	61,0±6,2	53,5±4,1	52,5±5,2	60,0±6,4
СОД	24,5±1,3	23,8±1,7	26,0±1,6	22,1±2,2	20,5±2,3

Примечание. ВК—вена контрольной (интактной), ВИ—вена инфузированной конечности.

Отмеченные тенденции к снижению уровня указанных показателей можно объяснить влиянием общей анестезии [2]. Таким образом, при ненарушенном кровотоке в конечности внутриартериальное введение слабых растворов H_2O_2 не создавало предпосылок для нарушения окислительно-восстановительных процессов.

Во II серии опытов (табл. 2) в ответ на наркоз также наблюдалось снижение содержания меди, активности ЦП, значения коэффициента $Cu/CП$ и содержания гистамина соответственно на 30, 12, 28 и 11% по сравнению с данными после премедикации. Поскольку в дальнейшем эксперимент проводился на фоне наркоза, динамику полученных результатов оценивали в сравнении с данными в начале наркоза. Из табл. 2 видно, что по сравнению с интактной конечностью на фоне часовой ишемии прослеживалась четкая тенденция к снижению содержания меди, гистамина и активности ЦП (на 18, 18 и 11%) и наблюдалось увеличение активности каталазы в среднем в 3 раза. Внутриартериальное введение растворов H_2O_2 на фоне ишемии вызывало дальнейшее снижение уровня меди как в регионарной крови, так и в общем кровотоке (соответственно на 6 и 16%). После введения физиологического раствора отмечено восстановление концентрации меди до исходного уровня в ин-

тактной и ишемизированной конечностях. Активность ЦП в общем кровотоке под влиянием инфузии H_2O_2 и физиологического раствора достоверно не изменялась, а в регионарном—после введения H_2O_2 увеличивалась на 10%. Активность каталазы в результате инфузии H_2O_2 нормализовалась, приближаясь к исходному уровню. Содержание гистамина в регионарном кровотоке в начальном периоде ишемии было ниже исходного на 20%; с увеличением длительности ишемии до 2,5 часов на фоне введения физиологического раствора наблюдалось возрастание уровня гистамина в среднем на 40% по сравнению с интактной конечностью. В то же время при введении в артерию H_2O_2 содержание гистамина в ре-

Таблица 2

Динамика содержания меди, гистамина, коэффициента $Cu/CП$, активности ЦП, СОД и каталазы в крови собак при инфузии H_2O_2 на фоне острой ишемии

Изученный показатель	Премедикация	Наркоз	Ишемия		Инфузия			
			ВК	ВИ	перекись водорода		физ. р-р	
					ВК	ВИ	ВК	ВИ
Медь	195 +14,9	137 +12,8	139 +8,0	118 +13,9	112 +14,0	111 +22,2	138 +17,6	151 +17,6
ЦП	83,9 +7,6	74,6 +7,6	78,6 +8,3	70,6 +6,9	77,6 +8,9	77,7 +11,0	79,0 +13,5	76,6 +14,8
$Cu/CП$	2,9 +0,4	2,1 +0,3	1,9 +0,2	1,8 +0,2	2,0 +0,3	1,7 +0,2	1,5 +0,1	2,0 +0,5
СОД	26,8 +1,3	28,3 +1,5	26,6 +1,1	29,5 +1,7	27,9 +1,1	29,8 +2,5	28,9 +1,8	32,5 +3,0
Гистамин	1,9 +0,4	1,7 +0,2	1,9 +0,5	1,6 +0,1	2,1 +0,5	1,6 +0,3	1,5 +0,7	2,5 +0,4
Каталаза	—	0,26 +0,08	0,23 +0,06	0,68 +0,2	0,18 +0,04	0,21 +0,05	—	—

Примечание. Обозначения аналогичны табл. 1.

гионарной венозной крови оставалось низким, несмотря на нарастание ишемии. Поскольку известно, что каталаза и высокие концентрации H_2O_2 (0,1 мМ) ингибируют выход гистамина из тучных клеток [14], снижение уровня гистамина в регионарном кровотоке при ишемии, а также сохранение этого низкого уровня после введения в артерию H_2O_2 можно объяснить в первом случае значительным подъемом активности каталазы, а во втором—действием растворов H_2O_2 (0,01—0,07 М). Так как накопление гистамина в условиях гипоксии влечет за собой ряд нарушений микроциркуляции и ухудшение процессов окисления [3], то понижение его уровня при введении растворов H_2O_2 на фоне ишемии имеет несомненно положительное значение.

Активность СОД в регионарном кровотоке имела тенденцию к повышению как в ответ на ишемию, так и в ответ на последующую инфузию растворов H_2O_2 и физиологического раствора. Вместе с тем выявлена зависимость активности СОД от концентрации растворов H_2O_2 , использованных для инфузии: при введении 0,15% (0,04 М) раствора H_2O_2 и физиологического раствора активность СОД в ишемизированной ко-

нечности составила в среднем 110% от активности, измеренной непосредственно перед началом инфузии; при введении 0,25% (0,07 М) раствора H_2O_2 ее активность в конце инфузии составила лишь 70% исходной, что можно объяснить частичным торможением каталитической активности фермента 0,07 М раствором H_2O_2 , ибо *in vitro* H_2O_2 в концентрации до 0,1 М вызывает обратимое восстановление связанных с СОД ионов Cu^{2+} [10]. Относительная стабильность активности СОД при использовании слабых концентраций H_2O_2 (0,01—0,04 М) представляется практически важной в связи с физиологическим значением этого фермента в защите клеток от токсического действия реакционно-опасных интермедиатов кислорода $\left(0 \frac{--}{2}\right)$, процесс образования которых увеличивается при повышении его концентрации.

Таким образом, внутриартериальная инфузия слабых растворов H_2O_2 на фоне экспериментально созданной гипоксии не сопровождалась существенными отклонениями от нормы в содержании меди и активности изученных металлосодержащих ферментов. Напротив, отмечены некоторые положительные моменты при использовании растворов H_2O_2 в качестве химического оксигенатора: снижение концентрации гистамина в крови и нормализация активности ЦП и каталазы, что свидетельствует о благотворном влиянии инфузии H_2O_2 на окислительно-восстановительные процессы тканевого обмена в условиях ишемии.

Кафедра факультетской хирургии и отдел медицинской энзимологии

ЦНИЛ I Ленинградского мед. института

Поступила 24/IV 1980 г.

Л. В. ИВАНОВ, У. О. ИВАНОВ, У. В. ЗУБОВИЧ, У. А. БОГДАНОВ,
Л. В. ЗУБОВИЧ, Л. Л. ГРИГОРЬЕВ, Л. В. СЕДУХОВ, Л. А. БОГДАНОВ,
У. В. СЕДУХОВ, У. В. СЕДУХОВ

**ЗНАЧЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ
В РАБОТЕ СЕРДЦА И ЛЕГКИХ**

Внешнее дыхание является основным источником поступления кислорода в организм человека. Оно осуществляется через легкие, где происходит газообмен между атмосферным воздухом и кровью. Этот процесс регулируется различными факторами, включая частоту и глубину дыхания. Исследования в этой области помогают понять механизмы респираторных заболеваний и разработать эффективные методы лечения.

THE INTRAARTERIAL HYDROGEN PEROXIDE INFLUENCE ON SOME INDICES OF THE RED-OX PROCESSES IN THE ISCHEMIC EXTREMITIES

30 experiments on dogs have been performed to investigate the copper and histamin content, the ceruloplasmin, superoxiddismutase and catalase activity during the intraarterial hydrogen peroxide infusion.

Reduction of the blood histamin and normalization of the ceruloplasmin and catalase activity were established. It shows the positive dynamics of the red-ox processes in the ischemic tissues.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бах и Зубкова в кн.: В. Е. Предтеченский, В. М. Боровская и Л. Т. Марголина. Лабораторные методы исследования. М., 1950, стр. 234.
2. Канюк И. И. Экспер. хир. и анестез., 1976, 2, стр. 72.
3. Макшанов И. Я. Тромбооблитерирующие заболевания артерий конечностей. Минск, 1975.
4. Машков Б. А., Дмитриева Л. В. Вopr. мед. химии, 1967, т. 13, 2, стр. 197.
5. Мецержакова С. А. Лаб. дело, 1971, 2, стр. 103.
6. Тинтерис Л. В., Шапошников А. М. Биохимия, 1978, т. 43, 6, стр. 776.
7. Фридович И. В кн.: Свободные радикалы в биологии, т. I. М., 1979, стр. 272.
8. Ackerman N. B., Brinkley F. B. Surgery, 1968, 63, 2, 285.
9. Fried R. Biochemie, 1975, 57, 5, 657.
10. Hodgson F. K., Fridovich A. Biochemistry, 1975, 14, 24, 5294.
11. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
12. Marceau N., Aspin N. Biochem. et biophys. acta, 1973, 328, 351.
13. Mengel Ch. F., Zirkle L. C., O'Malley. Acrospase Med., 1965, 36, 11, 1036.
14. Okmori H., Komoriya K., Azuma A. Biochem. Pharmacol., 1979, 28, 2, 333.
15. Ravin H. A. J. Lab. Clin. Med., 1961, 58, 161.
16. Rogers L. S., Mangulian B. J. Surg. Res. 1965, 5, 10, 463,