**УДК 616.36-005-089:615.272]-092.9**

**Цымбалюк Игорь Юрьевич**

аспирант, кафедра хирургии №2 ФПК и ППС

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

igor\_ts@inbox.ru

**Tsymbalyuk Igor Yurievich**

post-graduate, department of Surgery №2 the FAT and ORP

FSBEI HE KubSMU of the Ministry of Public Health Care of Russia

igor\_ts@inbox.ru

**ВЛИЯНИЕ ДИХЛОРАЦЕТАТА НАТРИЯ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ПРИ ВАСКУЛЯРНОЙ ЭКСКЛЮЗИИ ПЕЧЕНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**INFLUENCE OF SODIUM DICHLOROACETATE ON THE INTENSITY OF THE FREE-RADICAL OXIDATION IN EXPERIMENTAL CONDITIONS OF THE VASCULAR LIVER EXCLUSION**

***Аннотация.*** *Поиск и применение средств, обладающих тканевым протекторным действием, с целью повышения потенциала собственной антиоксидантной системы в условиях васкулярной эксклюзии печени, удовлетворяющих практическую медицину, являются актуальной задачей хирургической гепатологии. В настоящем исследовании изучалось влияние внутрибрюшинного введения дихлорацетата натрия на интенсивность свободнорадикального окисления при моделировании васкулярной эксклюзии печени. Полученные данные демонстрируют цитопротективные свойства дихлорацетата натрия в условиях развития ишемически-реперфузионного синдрома на модели васкулярной эксклюзии печени в эксперименте.*

***Ключевые слова:*** *маневр Прингла, ишемически-реперфузионное повреждение печени, метаболическая цитопротекция, дихлорацетат натрия, свободнорадикальное окисление.*

***Annotation.*** *It is an urgent issue of practical hepatology to find and to use means possessing the tissue protective properties to increase the potential of the own antioxidant system in conditions of the vascular liver exclusion which have to satisfy the practical medicine. In the present study the influence of the intraperitoneal sodium dichloroacetate injections on the intensity of the free-radical oxidation in conditions of modeling of the vascular liver exclusion has been researched. The received data demonstrate the cytoprotective properties of the sodium dichloroacetate in conditions of the developing ischemic-reperfusive syndrome on the model of the vascular liver exclusion in experimental conditions.*

***Keywords:*** *Pringle maneuver, hepatic ischemia reperfusion injury, metabolic cytoprotection, sodium dichloroacetate, free-radical oxidation.*

По данным ВОЗ, треть взрослого населения планеты страдает теми или иными заболеваниями печени. Для радикального лечения тяжелых ее поражений, таких как терминальные диффузные заболевания различной этиологии и очаговые опухолевые образования, в мировой практике все шире используется трансплантация, а также частичная резекция печени.

В современной хирургической гепатологии огромное значение придается профилактике кровопотери. Для этой цели успешно используется современное оборудование, а также техники сосудистого контроля [2] – превентивная сосудистая изоляция печени в различных ее вариантах в сочетании со снижением центрального венозного давления и обработкой резекционной поверхности препаратами на основе фибрина. Наиболее доступным и легко осуществимым является пережатие печеночно-двенадцатиперстной связки (ПДС), внедренное ирландским хирургом Принглом.

Такой вариант сосудистой изоляции позволяет редуцировать артериальный и портальный приток крови в печень без значимых гемодинамических нарушений. Однако вследствие ишемии и последующей реперфузии органа запускается каскад метаболических, морфологических и иммунологических изменений [5, 7], получивших название ишемически-реперфузионного синдрома (ИРС), который потенциально может привести к развитию печеночной недостаточности в раннем послеоперационном периоде [8], что особенно опасно для пациентов с хроническим гепатитом и циррозом печени. Кроме того, ИРС трансплантата разной степени выраженности присутствует при каждой трансплантации печени и вносит значительный вклад в раннюю послеоперационную его дисфункцию [9].

В связи с этим актуальны поиск и применение способов метаболической коррекции, способствующих минимизации последствий ишемически-реперфузионного повреждения, уменьшая при этом тканевую гипоксию или подавляя интенсификацию свободнорадикальных процессов (СРП) в момент восстановления кровотока [3, 4, 8].

Одной из ключевых мишеней на субклеточном уровне при ишемии является митохондрия, повреждаемая как при редуцировании кровотока в сосудах органа, так и при его восстановлении. Митохондриальное окислительное повреждение усиливается образованием активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов, факторов активации апоптоза [6]. В условиях тканевой гипоксии ферментные системы клеточного дыхания представляются потенциальной точкой коррекции.

В связи с этим особый интерес приобретает исследование дихлорацетата натрия (ДХА), стимулирующего активность пируватдегидрогеназного комплекса [10], в качестве митохондриального цитопротектора с целью возможной коррекции последствий ишемически-реперфузионного повреждения печени в условиях ее васкулярной эксклюзии.

**Цель:** изучение влияния интраперитонеального введения дихлорацетата натрия на интенсивность процессов свободнорадикального окисления в условиях моделирования васкулярной эксклюзии печени.

**Материалы и методы**

Экспериментальное исследование проведено на 105 нелинейных крысах-самцах массой 230-260 г, содержавшихся в условиях вивария ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России в стандартной экспериментальной биологически чистой комнате при t 22-24°C и освещении 12 ч/12 ч – светлый/темный цикл. Все исследования проводили в одно и то же время суток в первой половине дня с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Лабораторные животные были разделены на 7 групп. Все манипуляции проводились под общим обезболиванием Золетилом 100 («Virbac», Франция) в дозировке 15 мг/кг внутримышечно. Контрольную группу 1 (К) составили ложнооперированные крысы (n=15), подвергавшиеся только лапаротомии. Животным опытных групп после лапаротомии интраперитонеально вводился ДХА в дозировке 30 мг на 100 г массы тела животного, предварительно разведенный в 0,5 мл физиологического раствора, выделялась ПДС и пережималась на 10 минут [группа 2 (10'ДХА), n=15], 15 минут [группа 3 (15'ДХА), n=15] и 20 минут [группа 4 (20'ДХА), n=15]. Группы сравнения составили 45 крыс, которым также производилась лапаротомия, выделялась и пережималась ПДС на 10 минут [группа 5 (10'), n=15], 15 минут [группа 6 (15'), n=15] и 20 минут [группа 7 (20'), n=15], но без введения ДХА. По окончании моделирования васкулярной эксклюзии печени на 15 минуте реперфузии у животных всех групп забиралась печень и кровь из каудальной полой вены для лабораторных исследований. В качестве антикоагулянта использовался гепарин. Кровь подвергалась центрифугированию при 3000 об/мин в течение 10 минут, отбиралась плазма, а эритроцитарная масса трижды отмывалась физиологическим раствором. Печень подвергалась гомогенизации.

 Для оценки интенсивности СРП в крови и гомогенате печени определяли содержание продуктов, образующихся в результате реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП), и показатели максимума вспышки (МВХЛ) и площади (ПХЛ) Н2О2-индуцируемой люминол-зависимой хемилюминесценции с помощью люминотестера LT-01 («Horos», Joint Venture Soviet-Swedish Company) [1].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии с принятыми методами вариационной статистики с использованием программного обеспечения, находящегося в свободном доступе. Различия считали достоверными, если вероятность ошибки составляла р<0,05. Сравнения проводились между контрольной группой и всеми остальными группами, а также между основными опытными группами с коррекцией ДХА (2, 3 и 4) и соответствующими по продолжительности васкулярной эксклюзии печени группами сравнения (5, 6 и 7).

**Результаты и их обсуждение**

Исследование показателей интенсивности окислительных процессов в группах без проведения метаболической профилактики ишемически-реперфузионных нарушений показало неуклонный рост их активности (табл. 1). Так, содержание ТБК-РП в эритроцитах постепенно возрастало, к 15-20 минутам ишемии достигая величин, в 1,5 раза превышающих контрольные значения. Показатели МВХЛ плазмы крови резко возрастали к 10 и 20 минутам васкулярной эксклюзии, ПХЛ увеличивалась к 10 минуте почти в 3 раза, но дальнейший рост был не таким значительным.

 Таблица 1

**Показатели интенсивности свободнорадикальных процессов в крови при васкулярной эксклюзии печени (М±σ)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Группы | ТБК-РПэр, мкмоль/л | МВХЛпл, усл. ед. | ПХЛпл, усл. ед. площади |
| 1(К) | 13,18±1,61 | 0,2653±0,0457 | 1,0788±0,1788 |
| 2(10'ДХА) | 13,67±1,98 | 0,3720±0,05111,2 | 2,1197±0,26531,2 |
| 3(15'ДХА) | 14,02±2,093 | 0,4255±0,06371 | 2,3680±0,31871,3 |
| 4(20'ДХА) | 15,25±2,201,4 | 0,6614±0,10851,4 | 3,0750±0,43181 |
| 5(10') | 15,23±2,031 | 0,5728±0,09341 | 2,9222±0,48421 |
| 6(15') | 19,28±3,051 | 0,4848±0,08831 | 3,3649±0,50441 |
| 7(20') | 18,61±3,381 | 0,8579±0,14491 | 3,4945±0,62241 |

**Примечание:** 1 – p<0,05 по отношению к группе 1, 2 – p<0,05 по отношению к группе 5, 3 – p<0,05 по отношению к группе 6, 4 – p<0,05 по отношению к группе 7; эр – в эритроцитах, пл – в плазме крови.

Введение ДХА существенно замедляло интенсификацию СРП. По данным хемилюминесцентного анализа, наблюдалось постепенное увеличение МВХЛ и ПХЛ, но значительно меньшее, чем в соответствующих группах сравнения. Так, МВХЛ при 10-минутной васкулярной эксклюзии печени с введением ДХА был ниже значений группы 5 на 35,1%, при 15-минутной ишемии с введением ДХА ниже группы 6 на 12,2% и при 20-минутной ишемии с введением ДХА ниже группы 7 на 22,9%. ПХЛ, которая в группах сравнения резко возрастала уже к 10 минуте сосудистой изоляции печени и в дальнейшем существенных изменений не претерпевала, при использовании ДХА с целью метаболической коррекции возрастала более плавно. Во 2 группе ПХЛ увеличивалась в 2,0 раза по сравнению с контрольной группой, в 3 группе – в 2,2 раза и в 4 группе – в 2,9 раза. Таким образом, только к 20 минуте сосудистой изоляции печени при коррекции с использованием ДХА интенсивность окислительных процессов, по данным ПХЛ, достигала значений 10-минутной васкулярной эксклюзии без коррекции. Что касается накопления продуктов окислительных модификаций биомолекул – ТБК-РП, то при 10-15-минутной сосудистой изоляции печени их избыточное накопление не регистрировалось. Однако при пережатии ПДС на протяжении 20 минут определялось достоверное увеличение содержания ТБК-РП на 13,7%, что было ниже соответствующей группы сравнения на 18,1%.

В гомогенате печени не отмечалось существенных изменений показателей МВХЛ и ПХЛ, что, возможно, связано с быстрым затуханием СРП после 15-минутной реперфузии (табл. 2). Однако в печеночной паренхиме успевали накапливаться ТБК-РП в группах без коррекции на 29,2-51,0% выше концентрации их в контрольной группе.

 Таблица 2

**Показатели интенсивности свободнорадикальных процессов в печени при ее васкулярной эксклюзии (М±σ)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Группы | ТБК-РП, мкмоль/л | МВХЛ, усл. ед. | ПХЛ, усл. ед. площади |
| 1(К) | 6,30±0,95 | 0,8433±0,1388 | 0,3869±0,0554 |
| 2(10'ДХА) | 6,41±0,762 | 0,8124±0,1196 | 0,4094±0,0603 |
| 3(15'ДХА) | 6,92±0,843 | 0,8615±0,1237 | 0,4241±0,06813 |
| 4(20'ДХА) | 7,95±1,021 | 0,7523±0,1065 | 0,4285±0,0760 |
| 5(10') | 8,78±1,431 | 0,6819±0,12011 | 0,4469±0,05971 |
| 6(15') | 9,51±1,431 | 0,8099±0,1355 | 0,6795±0,13081 |
| 7(20') | 8,14±1,431 | 0,6297±0,12111 | 0,3469±0,0803 |

**Примечание:** 1 – p<0,05 по отношению к группе 1, 2 – p<0,05 по отношению к группе 5, 3 – p<0,05 по отношению к группе 6.

При использовании ДХА во 2 и 3 группах не определялось достоверного увеличения содержания ТБК-РП; и только в группе 4, подвергшейся 20-минутной сосудистой изоляции, их концентрация возрастала на 26,2%.

**Заключение**

Полученные результаты демонстрируют менее выраженное, но постепенное усиление СРП на системном уровне (в крови) у крыс с сосудистой изоляцией печени при условии коррекции метаболических нарушений с использованием ДХА. Однако деятельность антиоксидантной системы, очевидно, сдерживает в таких условиях прогрессирующие окислительные повреждения биомолекул, что отражается в замедленном накоплении ТБК-РП. На местном уровне (в печени) также развиваются выраженные нарушения окислительного метаболизма, которые быстро распространяются на системном уровне и вызывают более значительные нарушения, регистрирующиеся в крови. Использование ДХА позволяет эффективно подавить выявленные нарушения окислительного метаболизма.

***Литература:***

1. *Басов А.А., Павлюченко И.И., Плаксин А.М., Федосов С.Р. Использование аналогово-цифрового преобразователя в составе системы сбора и обработки информации с хемилюминитестером LT-01 // Вестник новых медицинских технологий. – 2003. – Т. 10, № 4. – С. 67-68.*
2. *Писецкая М.Э. Применение методов васкулярной эксклюзии печени при ее резекциях // Международный медицинский журнал. – 2014. – №3. – C. 67-71.*
3. *Basov A.A., Akopova V.A., Bykov I.M. Changing the parameters of prooxidant-antioxidant system in blood and oral fluid of patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus // International Journal on Immunorehabilitation. – 2013. – Vol. 15, №2. – P. 84-86.*
4. *Bykov M.I., Basov A.A. Change of parameters in prooxidant-antioxidant bile system in patients with the obstruction of bile-excreting ducts // Medical news of North Caucasus. – 2015. – Vol. 10, Iss. 2. – P. 131-135.*
5. *Bykova N.I., Basov A.A., Melkonyan K.I., Alekseenko E.A., Popov K.A., Bykov I.M. Non-invasive monitoring for local immune and antioxidant resistance in patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes // Medical news of North Caucasus. – 2016. – Vol. 11, Iss. 2. – P. 147-149.*
6. *Cao L., Quan X.B., Zeng W.J., Yang X.O., Wang M.J. Mechanism of hepatocyte apoptosis // Journal of Cell Death. – 2016. – Vol. 9. – P. 19-29.*

# *Donadon M., Molinari A.F., Corazzi F., Rocchi L., Zito P., Cimino M., Costa G., Raimondi F., Torzilli G. Pharmacological modulation of ischemic-reperfusion injury during Pringle maneuver in hepatic surgery. A prospective randomized pilot study // World Journal of Surgery. – 2016. – Vol. 40, Iss. 9. – P. 2202-2212.*

1. *Li J., Li R.J., Lv G.Y., Liu H.Q. The mechanisms and strategies to protect from hepatic ischemia-reperfusion injury // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2015. – Vol. 19, №11. – P. 2036-2047.*
2. *Saidi R.F., Kenari S.K.H. Liver ischemia/reperfusion injury: an overview // Journal of Investigative Surgery. – 2014. – Vol. 27, Iss. 6. – P. 366-379.*
3. *Salamon S., Podbregar E., Kubatka P., Büsselberg D., Caprnda M., Opatrilova R., Valentova V., Adamek M., Kruzliak P., Podbregar M. Glucose metabolism in cancer and ischemia: possible therapeutic consequences of the Warburg effect // Nutrition and Cancer. – 2017. – Vol. 69, Iss. 2. – P. 177-183.*

***Literature:***

1. *Basov A.A., Pavlyuchenko I.I., Plaxin A.M., Fedosov S.R. Using the analog-to-digital converter in the system for collecting and processing data from chemiluminitester LT-01 // Bulletin of New Medical Technologies. – 2003. – Vol. 10, №4. – P. 67-68.*
2. *Pisetska M.E. Application of vascular liver exclusion during liver resection // International medical journal. – 2014. – №3. – P. 67-71.*
3. *Basov A.A., Akopova V.A., Bykov I.M. Changing the parameters of prooxidant-antioxidant system in blood and oral fluid of patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus // International Journal on Immunorehabilitation. – 2013. – Vol. 15, №2. – P. 84-86.*
4. *Bykov M.I., Basov A.A. Change of parameters in prooxidant-antioxidant bile system in patients with the obstruction of bile-excreting ducts // Medical news of North Caucasus. – 2015. – Vol. 10, Iss. 2. – P. 131-135.*
5. *Bykova N.I., Basov A.A., Melkonyan K.I., Alekseenko E.A., Popov K.A., Bykov I.M. Non-invasive monitoring for local immune and antioxidant resistance in patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes // Medical news of North Caucasus. – 2016. – Vol. 11, Iss. 2. – P. 147-149.*
6. *Cao L., Quan X.B., Zeng W.J., Yang X.O., Wang M.J. Mechanism of hepatocyte apoptosis // Journal of Cell Death. – 2016. – Vol. 9. – P. 19-29.*

# *Donadon M., Molinari A.F., Corazzi F., Rocchi L., Zito P., Cimino M., Costa G., Raimondi F., Torzilli G. Pharmacological modulation of ischemic-reperfusion injury during Pringle maneuver in hepatic surgery. A prospective randomized pilot study // World Journal of Surgery. – 2016. – Vol. 40, Iss. 9. – P. 2202-2212.*

1. *Li J., Li R.J., Lv G.Y., Liu H.Q. The mechanisms and strategies to protect from hepatic ischemia-reperfusion injury // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2015. – Vol. 19, №11. – P. 2036-2047.*
2. *Saidi R.F., Kenari S.K.H. Liver ischemia/reperfusion injury: an overview // Journal of Investigative Surgery. – 2014. – Vol. 27, Iss. 6. – P. 366-379.*
3. *Salamon S., Podbregar E., Kubatka P., Büsselberg D., Caprnda M., Opatrilova R., Valentova V., Adamek M., Kruzliak P., Podbregar M. Glucose metabolism in cancer and ischemia: possible therapeutic consequences of the Warburg effect // Nutrition and Cancer. – 2017. – Vol. 69, Iss. 2. – P. 177-183.*