

*На правах рукописи*



**ЦЫМБАЛЮК Игорь Юрьевич**

**КОРРЕКЦИЯ ПАТОБИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ  
ПРИ ВАСКУЛЯРНОЙ ЭКСКЛЮЗИИ ПЕЧЕНИ  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДИХЛОРАЦЕТАТА НАТРИЯ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.17 – хирургия  
03.01.04 – биохимия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России).

**Научные руководители:** доктор медицинских наук, профессор  
**Мануйлов Александр Михайлович,**

доктор медицинских наук, доцент  
**Басов Александр Александрович.**

**Официальные оппоненты:**

**Горский Виктор Александрович,** доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра экспериментальной и клинической хирургии медико-биологического факультета, заведующий кафедрой;

**Коханов Александр Владимирович,** доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии, профессор кафедры.

**Ведущая организация:**

федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна».

Защита состоится 22 июня 2018 года в 14.00 на заседании диссертационного совета Д 208.038.01 на базе ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (350063, Краснодар, ул. Седина, 4, тел. (861) 262-50-18).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 208.038.01

доктор медицинских наук,

профессор



Гуменюк Сергей Евгеньевич

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Одной из важнейших проблем хирургической гепатологии остается проблема гемостаза. Ввиду особенностей топографических взаимоотношений сосудистых структур печени и развитой ее васкуляризации риск массивных интраоперационных кровотечений при хирургических вмешательствах на органах гепатопанкреатодуоденальной зоны достаточно высок (М.Ф. Заривчацкий и соавт., 2013). Для снижения кровопотери используется современное хирургическое оборудование (С.А. Maurer et al., 2016), позволяющее осуществлять электролигирование сосудов технологией LigaSure, ультразвуковую кавитационную хирургическую аспирацию, водоструйную диссекцию, аргоновую коагуляцию, радиочастотную абляцию (В.В. Бойко и соавт., 2012).

Техники васкулярной эксклюзии в различных ее вариантах обеспечивают возможность агрессивного и безопасного подхода к большинству очаговых образований печени (L.T. Hoekstra et al., 2012) и используются при протезировании воротной или верхней брыжеечной вен, а также общей печеночной артерии при инвазии опухоли в сосудистую стенку, при операциях по поводу холангиоцеллюлярного рака (опухоли Клацкина), удалении объемных образований печени (В.А. Вишневский и соавт., 2010).

Однако вследствие ишемии и последующей реперфузии органа запускается каскад метаболических, иммунологических и морфологических изменений (M. Donadon et al., 2016), получивших название ишемически-реперфузионного синдрома (ИРС), который потенциально может привести к развитию печеночной недостаточности в раннем послеоперационном периоде, что особенно опасно для пациентов с хроническим гепатитом и циррозом печени (М.Э. Писецкая, 2014).

Помимо этого, имеются данные (J.D.W. van der Bilt et al., 2005) об ускорении роста колоректальных микрометастазов при длительном ишемическом повреждении печени в условиях сосудистой окклюзии. Кроме того, ИРС трансплантата разной степени выраженности присутствует при каждой трансплантации печени и вносит значительный вклад в раннюю послеоперационную его дисфункцию (R.F. Saidi, S.K.H. Kenari, 2014).

Большинство процессов, направленных на поддержание функций органа, являются энергозависимыми. Снижение содержания АТФ в ишемизированной ткани печени приводит к активации анаэробного окисления глюкозы, что ведет к увеличению образования лактата и ионов водорода и, как следствие, развитию метаболического ацидоза (М.Н. Ходосовский, 2016). 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 (L. Cao et al., 2016).

**Степень разработанности темы.** С целью метаболической коррекции последствий ишемически-реперфузионного повреждения при васкулярной эксклюзии печени ранее исследовались препараты самых различных фармакологи-

ческих групп: антиоксиданты, ингибиторы АПФ, ингибиторы ГМГ-Ко-А-редуктазы, блокаторы кальциевых каналов, стероидные гормоны, витамины, факторы роста и даже цитостатики (С. Peralta, M.B. Jiménez-Castro, J. Gracia-Sancho, 2013). Однако ни один из препаратов представленных групп не обладает подтвержденной возможностью активации ферментных систем аэробного пути дыхания в клетке, которые в условиях тканевой гипоперфузии представляются потенциальной точкой коррекции.

В продолжение поиска в этом направлении вполне обоснованным можно считать применение при сосудистой изоляции печени в качестве митохондриального цитопротектора дихлорацетата натрия (ДХА), известного в литературе почти пятьдесят лет (P.W. Stacpoole, 1969). Имеется опыт его применения при врожденном лактоацидозе у детей (P.W. Stacpoole et al., 2008), сахарном диабете, гиперлипотеинемии (P.W. Stacpoole, G.W. Moore, D.M. Kornhauser, 1978), церебральной ишемии (W.G. Barsan, 1986), хронической обструктивной болезни легких (L.D. Calvert et al., 2008), хронической сердечной недостаточности (J.F. Lewis et al., 1998) и в онкологии (H. Sun et al., 2017; L. Sun et al., 2017).

Точкой приложения натриевой соли дихлоруксусной кислоты является один из ключевых ферментов клеточного дыхания – киназа пируватдегидрогеназы, которая ингибирует фосфорилирование пируватдегидрогеназы. Дихлорацетат-ион, ингибируя этот фермент, приводит к активации мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса, что делает возможным превращение пирувата в ацетил-Ко-А с дальнейшим его окислением в цитратном цикле в митохондриях (Y. Sun et al., 2016).

Исходя из вышеизложенного, следует рассматривать вопрос об актуальности изучения ДХА как тканевого протектора при превентивной сосудистой изоляции печени.

**Цель исследования:** улучшение результатов оперативных вмешательств на печени при проведении ее васкулярной эксклюзии путем разработки алгоритма метаболической коррекции ишемически-реперфузионных нарушений.

**Задачи исследования:**

1. Разработать способ метаболической коррекции ишемически-реперфузионных нарушений при васкулярной эксклюзии печени.
2. Определить состояние прооксидантно-антиоксидантной системы на местном (в печени) и системном (в крови) уровнях при моделировании васкулярной эксклюзии печени различной продолжительности.
3. Изучить влияние дихлорацетата натрия на состояние прооксидантно-антиоксидантной системы при васкулярной эксклюзии печени различной продолжительности на местном (в печени) и системном (в крови) уровнях в эксперименте.
4. Оценить состояние системы функциональной детоксикации, а также влияние дихлорацетата натрия на выраженность эндогенной интоксикации на моделях васкулярной эксклюзии печени различной продолжительности.
5. Оценить гепатопротекторную эффективность дихлорацетата натрия при васкулярной эксклюзии печени различной продолжительности на фоне интраперитонеального его введения.

### **Научная новизна исследования:**

1. Обобщены данные экспериментальных исследований ишемически-реперфузионного повреждения печени: развития биохимических синдромов ее поражения, а также процессов свободнорадикального окисления и эндотоксикоза при васкулярной эксклюзии печени в результате применения маневра Прингла.

2. Изучены биохимические изменения на местном (в печени) и системном (в крови) уровнях при использовании маневра Прингла на фоне интраперитонеального введения дихлорацетата натрия.

3. Экспериментально доказана возможность эффективного применения дихлорацетата натрия с целью коррекции патобиохимических изменений, возникающих при васкулярной эксклюзии печени, и предложен способ снижения гепатоцитолита в условиях частичной сосудистой изоляции печени в эксперименте (патент РФ на изобретение № 2644305).

4. Впервые показано, что применение ингибитора киназы пируватдегидрогеназы дихлорацетата натрия в дозировке 300 мг/кг вызывает выраженный гепатопротекторный эффект при васкулярной эксклюзии печени продолжительностью 10-15 минут.

**Теоретическая и практическая значимость исследования.** В результате проведенного исследования были расширены представления о патогенезе ишемически-реперфузионного повреждения печени, роли в нем антиоксидантно-прооксидантной системы и системы функциональной детоксикации.

Факты, полученные в результате данного исследования, расширили представления о биологических эффектах дихлорацетата натрия, связанных с воздействием на энергетический метаболизм гепатоцитов в условиях тканевой гипоперфузии при васкулярной эксклюзии печени.

Доказана и обоснована возможность применения активатора процессов клеточного дыхания дихлорацетата натрия с целью коррекции ишемически-реперфузионных нарушений, возникающих в результате вынужденного выключения печени из системного кровообращения. Разработан способ снижения гепатоцитолита в условиях частичной сосудистой изоляции печени в эксперименте (патент РФ на изобретение № 2644305).

Анализ полученного материала может быть использован для научно обоснованного поиска и рационального отбора новых тканевых протекторов, в том числе с целью совершенствования методов гемостаза в хирургии гепатопанкреатодуоденальной зоны.

**Методология и методы исследования.** Сбор данных и обработка полученных результатов проводились в соответствии с разработанным диссертантом дизайном исследования, в котором были использованы адекватные поставленным задачам современные экспериментальные, лабораторные биохимические и биофизические, а также статистические методы.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Экспериментальная васкулярная эксклюзия печени приводит к патобиохимическим изменениям на местном (в печени) и системном (в крови) уровнях, проявляющимся в виде развития цитолитического синдрома, интен-

сификации свободнорадикального окисления и эндогенной интоксикации, степень выраженности которых зависит от продолжительности эпизода ишемии.

2. Активатор клеточного дыхания дихлорацетат натрия в условиях экспериментальной васкулярной эксклюзии печени уменьшает выраженность патобиохимических проявлений ишемически-реперфузионного синдрома, в частности, цитолиза гепатоцитов, процессов свободнорадикального окисления и эндотоксикоза на местном (в печени) и системном (в крови) уровнях.

3. Интраперитонеальное введение дихлорацетата натрия при моделировании васкулярной эксклюзии печени позволяет продлить безопасные сроки пережатия аналога печеночно-двенадцатиперстной связки (ПДС) путем метаболической коррекции ишемически-реперфузионных нарушений.

**Степень достоверности и апробация работы.** О достоверности результатов и выводов проведенного исследования свидетельствует достаточное количество наблюдений (n=292) и объем экспериментально-лабораторных данных, наличие контрольной группы и групп сравнения, проведение экспериментов с использованием современных методов диагностики и обработка полученных результатов с помощью общепринятых методов статистического анализа.

Материалы диссертационного исследования представлены на XIV научно-практической конференции молодых ученых и студентов Юга России «Медицинская наука и здравоохранение» (Краснодар, 2016), V Съезде биохимиков России (Сочи-Дагомыс, 2016) и на Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Технологический форсайт 2.0» (Краснодар, 2016).

Диссертация выполнена в рамках комплексных тем НИР кафедр хирургии № 2 факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов («Оптимизация хирургического лечения заболеваний билиопанкреатодуоденальной зоны (экспериментально-клиническое исследование)», номер государственной регистрации АААА-А17-117052510085-7) и фундаментальной и клинической биохимии («Изучение молекулярных механизмов и разработка инновационных биохимических подходов диагностики, мониторинга и коррекции адаптационного потенциала у лиц, работающих в экстремальных условиях, при высоких физических нагрузках и различных патологических состояниях», номер государственной регистрации АААА-А17-117060610055-4) в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Основные научные положения диссертации соответствуют п. 4 «Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику» паспорта специальности 14.01.17 – хирургия; п. 5 «Анализ и синтез биологически активных веществ, выяснение их физиологического действия и возможностей применения полученных веществ в медицине и других отраслях народного хозяйства» и п. 10 «Теоретические и прикладные проблемы природы и закономерностей химических превращений в живых организмах, молекулярных механизмов интеграции клеточного метаболизма, связей биохимических процессов с деятельностью органов и тканей, с жизнедеятельностью организма для решения задач сохранения здоровья человека, животных и растений, выяснения причин различных болезней и изыскания путей их эффек-

тивного лечения. Развитие методов генодиагностики, энзимодиагностики и научных принципов генотерапии и энзимотерапии» паспорта специальности 03.01.04 – биохимия.

**Реализация результатов исследования.** Основные результаты работы внедрены в практику Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и клиническо-ветеринарного отделения ФГБНУ «НИИ МП». Научные положения диссертационного исследования используются в лекциях и практических занятиях, проводимых на кафедрах хирургии № 2 факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, а также фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

На основании данных диссертационного исследования запланировано проведение дальнейших целенаправленных доклинических исследований ингибитора киназы пируватдегидрогеназы дихлорацетата натрия, а также его комбинаций с препаратами, использующимися в стандартной коррекции ишемически-реперфузионного синдрома в гепатопанкреатобилиарной хирургии.

**Публикации.** Всего по материалам диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 – в журналах, включенных ВАК при Минобрнауки России в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, 2 – в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систему цитирования Scopus, получен 1 патент на изобретение.

**Личный вклад автора в исследование.** Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, постановке цели и поиске путей ее достижения. Проанализированы отечественные и зарубежные источники по теме диссертации, на основании чего выдвинуты научные гипотезы о возможных фармакотерапевтических стратегиях и экспериментальных моделях для исследования метаболической протекторной эффективности выбранного вещества. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования. Доля личного участия 92%.

В опубликованных работах, выполненных в соавторстве, соискателем лично проведена разработка дизайна и протокола исследования, определены ключевые критерии оценки патобиохимических изменений при моделировании исследуемой патологии и эффективности их коррекции при введении тестируемого вещества. При непосредственном участии автора проводилось выведение животных из эксперимента с регистрацией физиологических показателей, забор крови и органов для лабораторных биохимических и биофизических исследований, статистическая обработка данных, научное обоснование, обобщение и представление полученных результатов.

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы, включающего 163 источника, из которых 49 отечественных и 114 зарубежных авторов. Диссертация изложе-

на на 124 страницах машинописного текста, содержит таблиц – 11, рисунков и графических диаграмм – 13.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Экспериментальное исследование проведено на 292 беспородных крысах-самцах массой 225-265 г, содержащихся в условиях вивария ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Все исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных» (Р.У. Хабриев, 2005) и приказе МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Проведение экспериментальных работ одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 51 от 23.05.2017 г.). Все манипуляции проводились под общим обезболиванием Зоветилом 100 («Virbac», Франция) в дозировке 15 мг/кг внутримышечно.

Перед началом исследования проводилась оценка возможности использования различных дозировок и способов введения ДХА животным с целью метаболической профилактики ИРС при васкулярной эксклюзии печени. Для этого было сформировано 16 групп белых крыс-самцов массой 225-260 г. Лабораторным животным вводили ДХА перорально в дозировке 50 мг/кг массы тела однократно в день эксперимента или шестикратно в течение недели до эксперимента; внутрибрюшинно в дозировках 80 или 300 мг/кг массы тела однократно непосредственно перед экспериментом. По результатам этого этапа исследования и была выбрана оптимальная схема введения ДХА (интраперитонеально в дозировке 300 мг на 1 кг массы тела животного, предварительно разведенный в 0,5 мл изотонического раствора NaCl, непосредственно в момент выключения печени из системного кровообращения), которая использовалась в основной части эксперимента.

После выбора оптимальной схемы введения ДХА с целью оценки ее безопасности были исследованы основные биохимические показатели крови животных через 1, 5 и 15 суток после введения ДХА (300 мг на 1 кг массы тела) без проведения васкулярной эксклюзии печени (всего 60 животных).

Основной раздел эксперимента проведен на 142 белых нелинейных крысах-самцах массой 230-260 г, разделенных на 7 групп. Дизайн основного раздела эксперимента представлен в таблице 1. Васкулярную эксклюзию печени воспроизводили путем наложения сосудистого зажима типа «Бульдог» на аналог ПДС крыс (M. Mendes-Braz et al., 2012) на 10, 15 и 20 минут с последующим 15-минутным периодом реперфузии и выведением животного из эксперимента в результате забора крови и печени. Кровь отбирали из каудальной полой вены, в качестве антикоагулянта применялся гепарин. Печень подвергали гомогенизации (в среде 0,25 М сахарозы, трис-HCl, pH 7,4) в соотношении 1 г ткани + 9,0 мл среды на гомогенизаторе (IKA ULTRA-TURRAX® T 18 digital, Германия). Гомогенат с целью удаления неразрушенных элементов ткани центрифугировался при 3000 об/мин в течение 10 минут, для дальнейших исследований отбирался супернатант.



**Таблица 1 – Дизайн экспериментальной части исследования**

Задействованные в эксперименте лабораторные животные – белые нелинейные крысы-самцы массой 230-260 г		
Контрольная группа	<b>I</b>	ложнооперированные крысы (n=22), которым проводилась только лапаротомия и интраперитонеальное введение 0,5 мл физиологического раствора
Группы сравнения	<b>II</b>	крысы (n=19), которым производилась лапаротомия, интраперитонеальное введение 0,5 мл физиологического раствора, сосудистая эксклюзия печени в течение 10 минут с последующим 15-минутным эпизодом реперфузии без коррекции ИРС
	<b>III</b>	крысы (n=21), которым производилась лапаротомия, интраперитонеальное введение 0,5 мл физиологического раствора, сосудистая эксклюзия печени в течение 15 минут с последующим 15-минутным эпизодом реперфузии без коррекции ИРС
	<b>IV</b>	крысы (n=20), которым производилась лапаротомия, интраперитонеальное введение 0,5 мл физиологического раствора, сосудистая эксклюзия печени в течение 20 минут с последующим 15-минутным эпизодом реперфузии без коррекции ИРС
Опытные группы	<b>V</b>	крысы (n=19), которым проводили лапаротомию, интраперитонеальное введение ДХА 300 мг/кг массы тела и сосудистую эксклюзию печени на 10 минут с последующим 15-минутным периодом реперфузии
	<b>VI</b>	крысы (n=21), которым проводили лапаротомию, интраперитонеальное введение ДХА 300 мг/кг массы тела и сосудистую эксклюзию печени на 15 минут с последующим 15-минутным периодом реперфузии
	<b>VII</b>	крысы (n=20), которым проводили лапаротомию, интраперитонеальное введение ДХА 300 мг/кг массы тела и сосудистую эксклюзию печени на 20 минут с последующим 15-минутным периодом реперфузии

Для изучения биохимических изменений, происходящих при сосудистой эксклюзии печени, а также для оценки эффективности их метаболической коррекции с использованием ДХА проводили определение маркеров цитолиза, показателей состояния прооксидантно-антиоксидантной системы и эндогенной интоксикации в плазме крови, эритроцитарной массе и гомогенате печени (таблица 2).

Активность АЛТ, АСТ и ЛДГ плазмы крови определяли с помощью наборов реагентов («Витал Девелопмент Корпорэйшн», Санкт-Петербург, Россия).

Изучение активности ферментативного звена антиоксидантной системы (АОС) (каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы) проводили у животных в эритроцитарной взвеси и гомогенате печени. Функциональное состояние неферментативного звена АОС оценивалось по содержанию восстановленного глутатиона в эритроцитарной взвеси и гомогенате печени, а также тиоловых групп плазмы крови.

**Таблица 2 – Дизайн лабораторной части исследования**

Лабораторные исследования	
Маркеры цитолиза	✓ активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ);
Показатели состояния про-/антиоксидантной системы	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ активность ферментов антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР);</li> <li>✓ концентрация восстановленного глутатиона (GSH);</li> <li>✓ содержание тиоловых групп плазмы крови;</li> <li>✓ максимум вспышки хемилюминесценции (МВХЛ);</li> <li>✓ площадь вспышки хемилюминесценции (ПХЛ);</li> <li>✓ тиобарбитуровое число (ТБЧ);</li> </ul>
Показатели состояния системы функциональной детоксикации	✓ содержание веществ со средней и низкой молекулярными массами (ВСиНММ).

Интенсивность свободнорадикальных процессов (СРП) оценивали по содержанию продуктов, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивных продуктов, ТБК-РП), к которым, прежде всего, относятся малоновый диальдегид и диеновые конъюгаты – продукты перекисного окисления липидов. Также изучали параметры хемилюминесценции (МВХЛ и ПХЛ) в плазме крови и гомогенате печени, суммарно отражающие активность окислительных процессов в биосреде.

С целью оценки уровня эндогенной интоксикации определяли содержание ВСиНММ в плазме крови и эритроцитарной взвеси по методике М.Я. Малаховой (М.Я. Малахова, О.В. Зубаткина, В.В. Слепышева, 2011). Кроме того, были рассчитаны соотношения активности КАТ и СОД эритроцитарной взвеси и гомогената печени, а также коэффициенты массы печени.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали методами вариационной статистики (R.A. Fisher, 2006) с помощью программного обеспечения. Перед началом процедур статистической обработки массивы данных подвергались проверке нормальности распределения с помощью W-критерия Shapiro-Wilk. Учитывая характер распределения, отличный от нормального, данные были представлены в виде медианы (Me) и квартилей (p0,25/p0,75). В связи с особенностями дизайна исследования для выявления статистических различий между группами применялся непараметрический U-критерий Mann-Whitney (для независимых групп). Достоверными считались различия, при которых уровень доверительного интервала (p) составлял более 95% (p<0,05).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате предварительных исследований была выбрана схема метаболической профилактики ИРС, предусматривающая интраперитонеальное введение ДХА в дозировке 300 мг/кг непосредственно перед выполнением перерезания ПДС, в связи с наиболее выраженным снижением активности амина-

трансфераз в плазме крови крыс с васкулярной эксклюзией печени и возможностью выполнения данной манипуляции экстренно. Исследование потенциальной токсичности предложенной схемы введения ДХА показало ее безопасность.

В ходе проведенных исследований было показано, что использование ДХА в дозировке 300 мг/кг при пережатии ПДС ведет к существенному снижению уровня цитолиза гепатоцитов. Эффективность применения ДХА в качестве цитопротектора в условиях сосудистой изоляции печени была подтверждена определением активности АЛТ и АСТ в плазме крови (таблица 3).

**Таблица 3** – Влияние дихлорацетата натрия на активность аминотрансфераз и лактатдегидрогеназы при васкулярной эксклюзии печени (Me (p0,25/p0,75))

Группы	ЛДГ, ед/л	АСТ, ед/л	АЛТ, ед/л
I (К)	152,34 (99,24/167,47)	44,64 (42,89/51,93)	23,51 (18,41/25,52)
II (10')	622,4 (560,25/700,34) <sup>1</sup>	89,77 (79,59/95,98) <sup>1</sup>	54,29 (48,91/59,79) <sup>1</sup>
III (15')	1856,82 (1365,92/1956,12) <sup>1</sup>	133,07 (118,46/139,97) <sup>1</sup>	104,08 (99,29/118,39) <sup>1</sup>
IV (20')	1429,94 (1198,25/1588,76) <sup>1</sup>	115,68 (108,42/128,05) <sup>1</sup>	65,37 (60,77/78,15) <sup>1</sup>
V (10'ДХА)	445,43 (398,67/476,6) <sup>1,2</sup>	59,36 (53,42/64,83) <sup>1,2</sup>	31,16 (29,01/41,12) <sup>1,2</sup>
VI (15'ДХА)	583,64 (499,4/611,88) <sup>1,3</sup>	87,99 (84,02/90,74) <sup>1,3</sup>	49,88 (37,66/76,73) <sup>1,3</sup>
VII (20'ДХА)	702,66 (636,72/888,54) <sup>1,4</sup>	126,97 (111,24/144,76) <sup>1</sup>	110,64 (102,38/117,74) <sup>1,4</sup>

Примечание: <sup>1</sup> – p<0,05 по отношению к группе I, <sup>2</sup> – p<0,05 по отношению к группе II, <sup>3</sup> – p<0,05 по отношению к группе III, <sup>4</sup> – p<0,05 по отношению к группе IV.

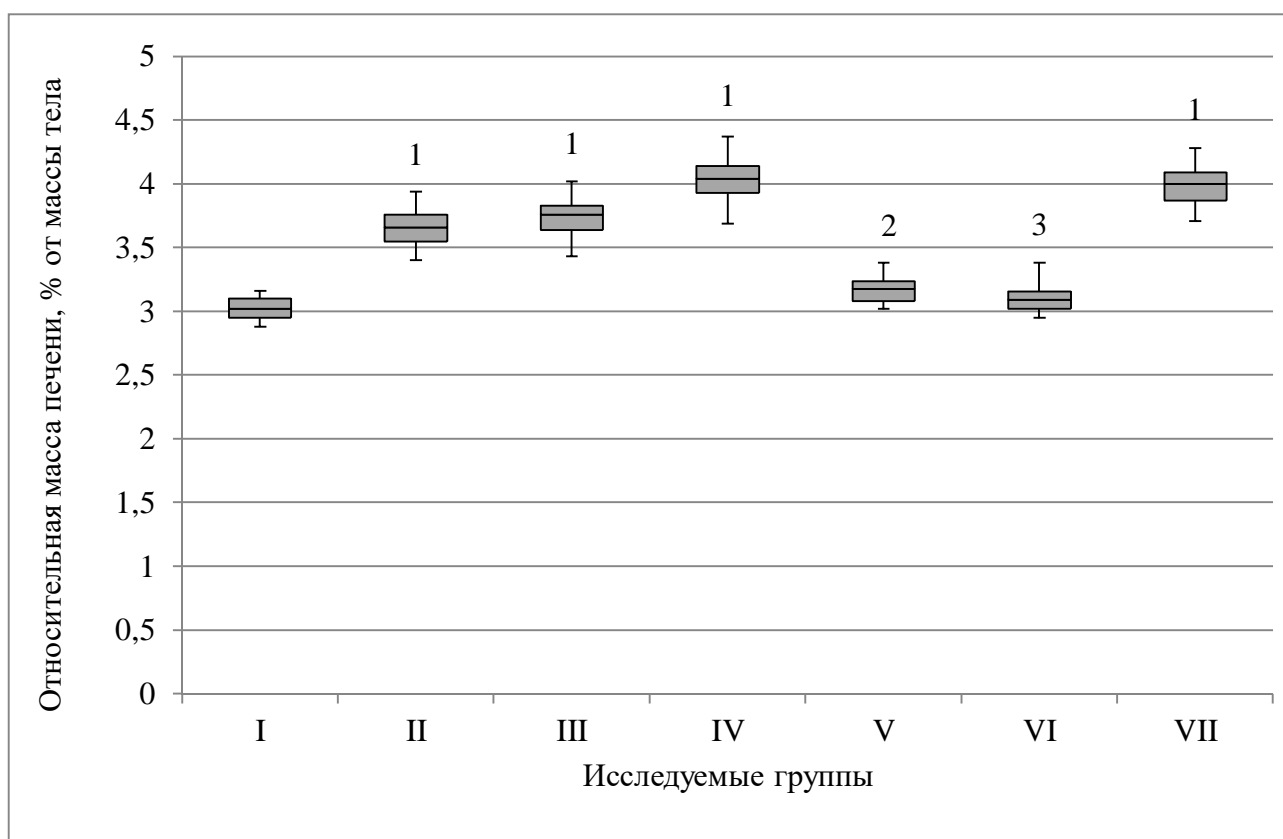
Активность АЛТ возрастала в плазме крови животных, подвергавшихся 10-минутной васкулярной эксклюзии и введению ДХА, на 32,5% по сравнению с контролем, но была ниже соответствующей группы сравнения на 42,6%. Активность АСТ на фоне 10-минутного пережатия ПДС при введении ДХА увеличивалась по сравнению с контрольной группой на 33,0% и была ниже показателя группы, соответствующей по продолжительности сосудистой изоляции печени без проведения метаболической коррекции, на 33,9%. Увеличение длительности васкулярной эксклюзии печени до 15 минут сопровождалось дальнейшим ростом активности АЛТ и АСТ по сравнению с контролем в 2,1 и 2,0 раза соответственно. Однако данные показатели группы VI были все же ниже, чем у не получавших коррекции животных III-й группы сравнения, на 52,1% и 33,9% соответственно.

Плазма крови животных, которым вводили ДХА на фоне 20-минутной сосудистой изоляции печени, характеризовалась повышенной активностью АЛТ и АСТ по сравнению с контролем в 4,7 и 2,8 раза соответственно. Прослеживая изменение ферментов-маркеров цитолитического синдрома, можно заметить,

что его развитие при введении животным ДХА запаздывает на 5 минут. Таким образом, ДХА замедляет повреждение печени в результате развития ИРС, что может позволить продлить продолжительность относительно безопасной сосудистой изоляции печени при применении маневра Прингла у крыс на 5 минут.

Исследование активности ЛДГ в плазме крови при введении крысам ДХА показало, что он, вероятно, является ее ингибитором (таблица 3). В связи с этим определение активности ЛДГ при введении животным ДХА в качестве маркера цитолитического синдрома использоваться не может, так как в этом случае регистрируются заниженные значения показателя, которые никак не согласуются с данными определения активности печеночных трансаминаз.

Также было установлено, что при использовании ДХА для метаболической профилактики ишемически-реперфузионных нарушений в группах животных с 10- и 15-минутными эпизодами васкулярной эксклюзии значения относительной массы печени были близки к таковым в контрольной группе и ниже соответствующих показателей в группах сравнения в 1,2 раза (рисунок 1).

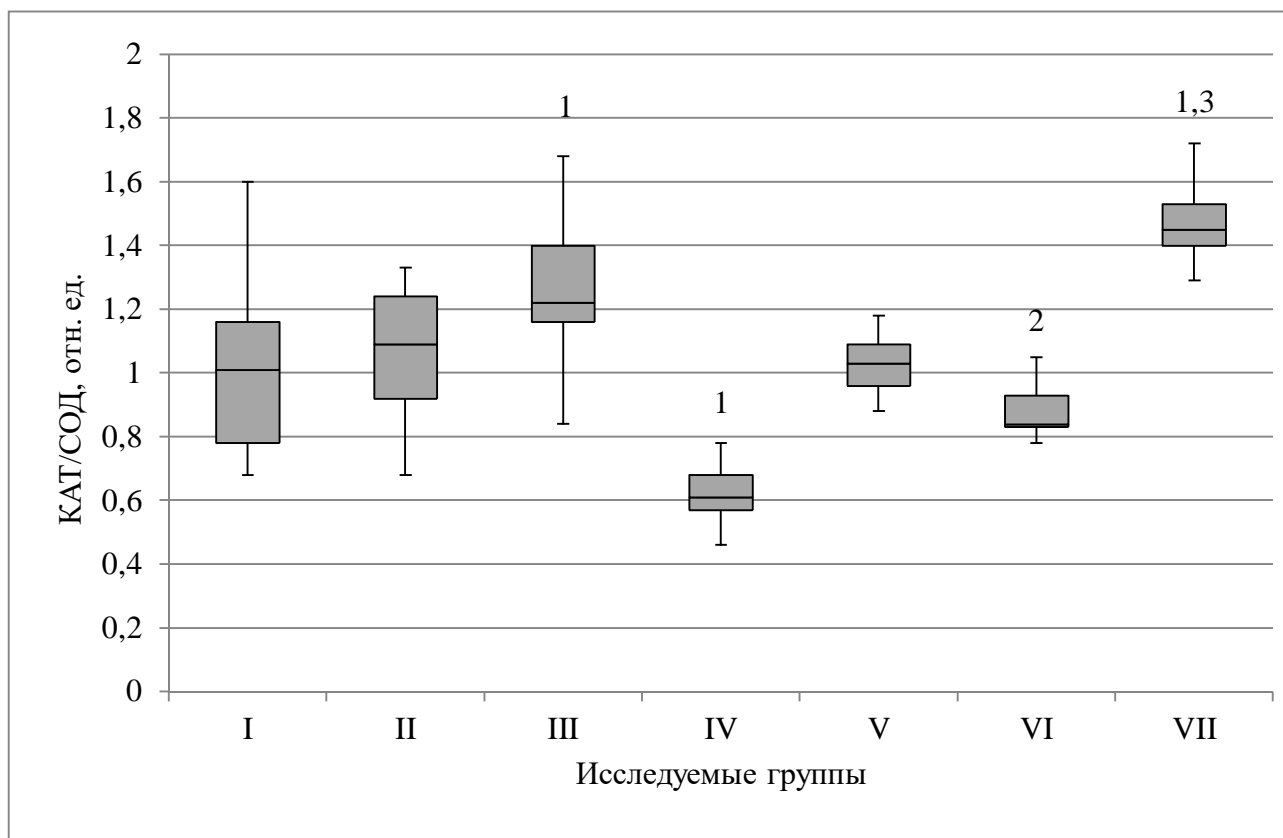


**Рисунок 1** – Изменение относительной массы печени при коррекции ишемически-реперфузионных нарушений в условиях васкулярной эксклюзии печени (min; p0,25; Me; p0,75; max)

*Примечание:* <sup>1</sup> –  $p < 0,05$  по отношению к группе I, <sup>2</sup> –  $p < 0,05$  по отношению к группе II, <sup>3</sup> –  $p < 0,05$  по отношению к группе III.

Полученные результаты можно объяснить развитием менее выраженных застойных явлений, а также внутриклеточного и интерстициального отека печени при применении метаболической коррекции, что также подтверждает наличие выявленных протекторных свойств ДХА.

С целью раскрытия механизмов воздействия ДХА на клеточный метаболизм в условиях развития ишемически-реперфузионного повреждения печени было изучено функциональное состояние прооксидантно-антиоксидантной системы. Для оценки изменений первых двух линий ферментного звена АОС проводили определение активности СОД и КАТ в эритроцитах и гомогенате печени. В эритроцитах животных групп сравнения активность КАТ имела тенденцию к снижению. Применение ДХА, наоборот, способствовало увеличению активности КАТ на 22,7% и 62,9% в V-й и VII-й группах соответственно. Активность СОД в эритроцитах имела ту же тенденцию – снижение в группах II и III на 16,7% и 27,2%, но возрастание в группах V и VI, животным которых вводился ДХА, на 19,1% и 24,9%. Анализ же соотношения КАТ/СОД эритроцитов (рисунок 2) показал, что при 10-15-минутном пережатии аналога ПДС у крыс на фоне введения ДХА баланс ферментов первых двух линий антиоксидантной защиты сохраняется, и лишь при 20-минутной сосудистой изоляции печени отмечается его смещение в сторону небольшой относительной недостаточности СОД (КАТ/СОД в среднем составил 1,5).



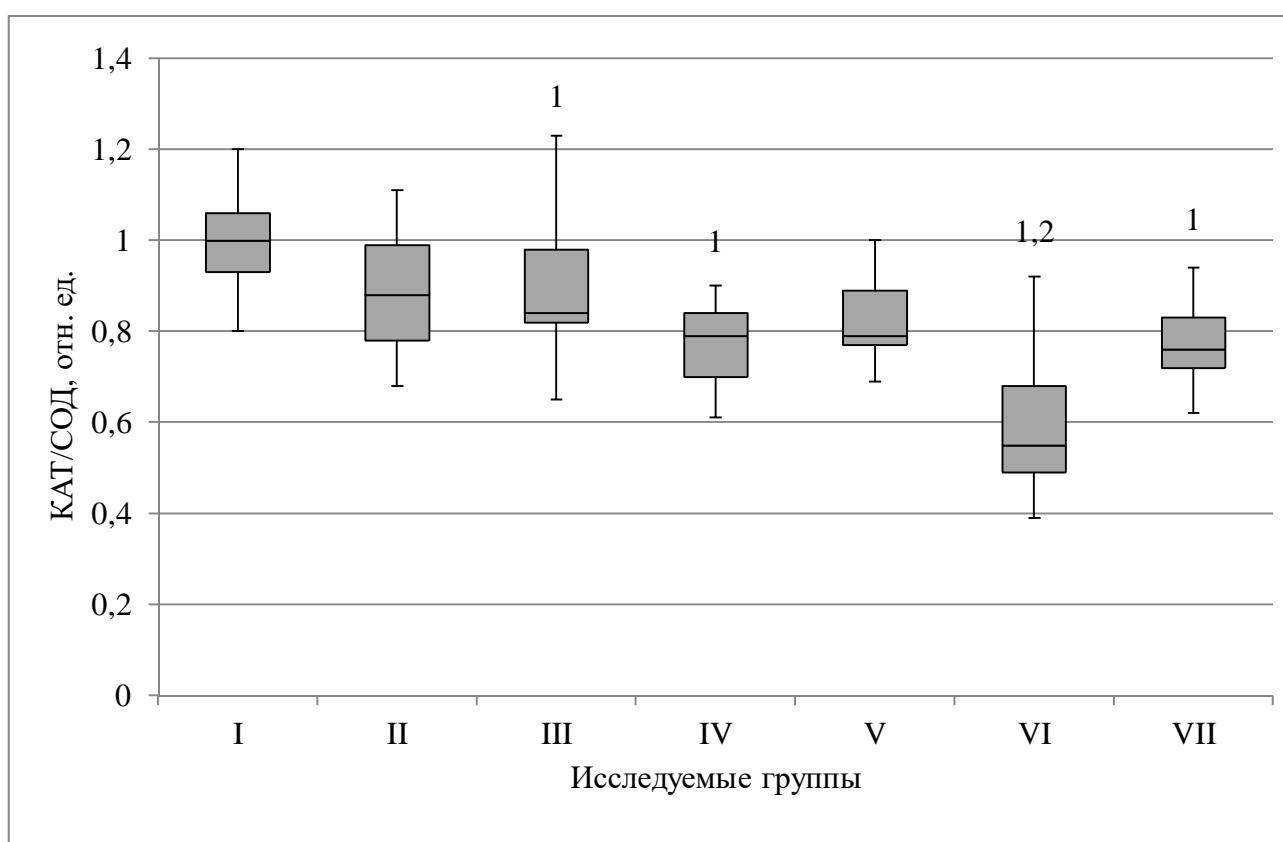
**Рисунок 2** – Соотношение активности каталазы и супероксиддисмутазы в эритроцитах крыс при васкулярной эксклюзии печени  
(min; p0,25; Me; p0,75; max)

Примечание: <sup>1</sup> – p<0,05 по отношению к группе I, <sup>2</sup> – p<0,05 по отношению к группе III, <sup>3</sup> – p<0,05 по отношению к группе IV.

Это не так критично, как недостаточность КАТ эритроцитов у животных с такой же продолжительностью васкулярной эксклюзии печени без применения ДХА, тем более учитывая, что активность этих ферментов в эритроцитар-

ной взвеси животных VII-й группы существенно превышает контрольные значения.

В гомогенате печени активность КАТ снижалась как в группах сравнения, так и в основных опытных группах с коррекцией ДХА. Однако если в группах II-IV это происходило уже при 10-минутной васкулярной эксклюзии печени, то в группах V-VII снижение наблюдалось, начиная только с 15 минут ишемии. В то же время следует отметить, что расчет коэффициента КАТ/СОД показал, как и в группах без коррекции, наличие относительной недостаточности КАТ при 10-15-минутной сосудистой изоляции печени (рисунок 3). В целом полученные данные отражают усиление компенсаторных возможностей ферментов АОС крови и печени при воздействии ДХА, что может являться одним из механизмов его цитопротективного эффекта.



**Рисунок 3** – Соотношение активности каталазы и супероксиддисмутазы в гомогенате печени крыс при ее васкулярной эксклюзии (min; p0,25; Me; p0,75; max)

*Примечание:* <sup>1</sup> – p<0,05 по отношению к группе I, <sup>2</sup> – p<0,05 по отношению к группе III.

Исследование метаболизма глутатиона при ишемически-реперфузионном повреждении гепатодуоденальной зоны на фоне коррекции ДХА также показало усиление этого звена системы неспецифической резистентности (таблица 4). В группах без использования ДХА в качестве метаболического корректора активность ГПО и ГР изменялась однонаправленно. К 10 минуте сосудистой изоляции печени в эритроцитах происходило увеличение активности обоих ферментов с последующим уменьшением в группе III до контрольных значений, а в

группе IV ниже их. Концентрация восстановленного глутатиона поддерживалась на исходном уровне до 10 минут частичной сосудистой изоляции печени с последующим снижением в 1,5 раза к 15-20 минутам. В ткани печени крыс, подвергшихся моделированию васкулярной эксклюзии без метаболической коррекции, наблюдали похожие изменения активности ферментов тиолового метаболизма и содержания GSH.

**Таблица 4** – Влияние дихлорацетата натрия на систему глутатиона при васкулярной эксклюзии печени (Me (p0,25/p0,75))

Группы	Биоматериал	ГПО, мкмоль/(мин·л)	ГР, мкмоль/(мин·л)	GSH, мкмоль/мл
I (К)	эритроциты	49,68 (43,95/56,49)	742,23 (600,36/802,34)	2,76 (2,66/2,85)
	гомогенат	15,48 (13,47/17,41)	4169,2 (4031,2/4429,8)	3,37 (2,99/3,48)
II (10')	эритроциты	86,45 (78,4/91,45) <sup>1</sup>	854,8 (800,11/966,12) <sup>1</sup>	2,76 (2,61/2,85)
	гомогенат	20,55 (19,8/20,99) <sup>1</sup>	5172,1 (4871,4/5498,3) <sup>1</sup>	3,24 (2,97/3,34)
III (15')	эритроциты	44,07 (40,33/45,66)	702,56 (608,49/750,01)	1,97 (1,91/2,08) <sup>1</sup>
	гомогенат	19,03 (18,23/21,34) <sup>1</sup>	3225,04 (3130,22/3346,16) <sup>1</sup>	2,38 (2,32/2,45) <sup>1</sup>
IV (20')	эритроциты	34,27 (31,11/40,41) <sup>1</sup>	408,95 (324,28/453,11) <sup>1</sup>	1,82 (1,75/1,93) <sup>1</sup>
	гомогенат	15,19 (14,04/15,76)	3398,6 (3150,77/3502,96) <sup>1</sup>	2,64 (2,56/2,75) <sup>1</sup>
V (10'ДХА)	эритроциты	38,84 (36,24/44,56) <sup>1,2</sup>	818,42 (794,87/844,89)	2,75 (2,66/2,99)
	гомогенат	33,91 (26,63/37,84) <sup>1,2</sup>	3417,33 (3362,19/3580,87) <sup>1,2</sup>	2,36 (2,29/2,43) <sup>1,2</sup>
VI (15'ДХА)	эритроциты	42,22 (38,5/48,94) <sup>1</sup>	686,58 (616,34/723,97)	2,71 (2,53/2,83) <sup>3</sup>
	гомогенат	43,75 (39,7/46,22) <sup>1,3</sup>	2817,48 (2201,33/3499,94) <sup>1</sup>	2,46 (2,39/2,58) <sup>1</sup>
VII (20'ДХА)	эритроциты	37,71 (36,43/38,47) <sup>1</sup>	797,19 (708,46/880,89) <sup>4</sup>	3,01 (2,87/3,21) <sup>4</sup>
	гомогенат	26,19 (21,67/27,13) <sup>1,4</sup>	4909,17 (4761,29/5156,45) <sup>1,4</sup>	2,25 (2,18/2,41) <sup>1,4</sup>

Примечание: <sup>1</sup> – p<0,05 по отношению к группе I, <sup>2</sup> – p<0,05 по отношению к группе II, <sup>3</sup> – p<0,05 по отношению к группе III, <sup>4</sup> – p<0,05 по отношению к группе IV.

Введение крысам ДХА перед пережатием аналога ПДС способствовало поддержанию адекватного функционирования изученных показателей метаболизма глутатиона. Активность ГР эритроцитарной взвеси в группах V и VII существенно не изменялась, а ГПО немного снижалась в группах V-VII – на 15-24% в сравнении с контрольной группой. Содержание восстановленного глута-

тиона в эритроцитах поддерживалось на нормальном уровне у крыс всех опытных групп, при этом было выше значений групп сравнения, животные которых подвергались 15-20-минутным пережатиям ПДС. Изменения обмена GSH в крови и печени, кроме того, говорят о локализации метаболических нарушений с сохранным потенциалом низкомолекулярного тиолового звена АОС на системном уровне, что в перспективе должно позволить восстановить функции органа.

Содержание общих тиоловых групп в плазме крови снижалось по сравнению с контрольными значениями во всех изученных группах. Причем в соответствующих по длительности ишемии опытных и группах сравнения наблюдались похожие изменения, кроме групп с 20-минутной васкулярной эксклюзией печени. Так, в группах II и V отмечалось снижение уровня тиоловых групп плазмы крови на 28,3-30,3%, в группах III и VI – на 32,3-38,1% по сравнению с контрольной группой. В группе IV наблюдалось дальнейшее снижение содержания SH-групп на 51,5% по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы, тогда как при использовании ДХА в группе VII снижение на 24,5% соответствовало уровню 10-15-минутной ишемии.

Введение ДХА существенно замедляло интенсификацию СРП в крови при частичной сосудистой изоляции печени. По данным хемилюминесцентного анализа, наблюдалось постепенное увеличение МВХЛ и ПХЛ плазмы крови, но значительно меньшее, чем в соответствующих группах сравнения (таблица 5).

**Таблица 5** – Показатели интенсивности свободнорадикальных процессов в крови при васкулярной эксклюзии печени (Me (p0,25/p0,75))

Группы	ТБЧ <sub>эр</sub> , усл. ед.	МВХЛ <sub>пл</sub> , усл. ед.	ПХЛ <sub>пл</sub> , усл. ед. пл.
I (К)	13,2 (12,2/14,1)	0,27 (0,19/0,34)	1,08 (0,7/1,37)
II (10')	15,22 (14,75/15,74) <sup>1</sup>	0,57 (0,51/0,62) <sup>1</sup>	2,92 (2,55/3,26) <sup>1</sup>
III (15')	19,27 (18,29/20,05) <sup>1</sup>	0,48 (0,45/0,53) <sup>1</sup>	3,36 (2,9/3,92) <sup>1</sup>
IV (20')	18,6 (17,75/19,5) <sup>1</sup>	0,86 (0,81/0,90) <sup>1</sup>	3,49 (2,99/3,92) <sup>1</sup>
V (10'ДХА)	13,68 (13,07/14,49)	0,37 (0,31/0,44) <sup>1,2</sup>	2,12 (1,5/2,83) <sup>1,2</sup>
VI (15'ДХА)	14,03 (13,2/14,73) <sup>3</sup>	0,43 (0,34/0,5) <sup>1</sup>	2,37 (1,82/3,12) <sup>1,3</sup>
VII (20'ДХА)	15,26 (14,53/15,56) <sup>1,4</sup>	0,66 (0,6/0,73) <sup>1,4</sup>	3,07 (2,64/3,52) <sup>1</sup>

Примечание: <sup>1</sup> – p<0,05 по отношению к группе I, <sup>2</sup> – p<0,05 по отношению к группе II, <sup>3</sup> – p<0,05 по отношению к группе III, <sup>4</sup> – p<0,05 по отношению к группе IV; эр – в эритроцитах, пл – в плазме крови.

Так, МВХЛ при 10-минутной васкулярной эксклюзии печени с введением ДХА был ниже значений группы II на 35,1%, при 15-минутном пережатии аналога ПДС с введением ДХА – ниже показателя III-й группы на 10,4% и при 20-минутной ишемии с введением ДХА – ниже группы IV на 23,3%. ПХЛ плазмы крови, которая в группах сравнения возрастала уже к 10 минуте сосудистой изоляции печени и в дальнейшем существенных изменений не претерпевала, при использовании ДХА с целью метаболической коррекции увеличивалась более плавно. В V-й группе ПХЛ увеличивалась в 2,0 раза по сравнению с контрольной группой, при этом была ниже значения аналогичного показателя II-й группы на 27,4%; в VI-й группе – в 2,2 раза выше контроля и в VII-й группе – в



2,8 раза соответственно. Таким образом, только к 20 минуте пережатия ПДС при интраперитонеальном введении ДХА интенсивность окислительных процессов в плазме крови, по данным ПХЛ, достигала значений 10-минутной васкулярной эксклюзии печени без метаболической коррекции.

Активное функционирование АОС, очевидно, сдерживает прогрессирующие окислительные повреждения биомолекул при применении ДХА в условиях васкулярной эксклюзии печени, что отражается в замедленном накоплении ТБК-РП в эритроцитарной взвеси, повышенное содержание которых регистрируется только у крыс, подвергавшихся 20-минутной сосудистой изоляции с введением ДХА. Значения ТБЧ эритроцитов в этой группе были близки к показателю крыс с 10-минутным пережатием аналога ПДС без проведения метаболической коррекции ишемически-реперфузионных нарушений. Таким образом, одним из вероятных механизмов действия ДХА является активация компенсаторных возможностей системы неспецифической резистентности, в том числе АОС, ввиду развития окислительного стресса как ведущего повреждающего фактора при реперфузии.

На местном уровне (в печени) также развиваются выраженные нарушения окислительного метаболизма, которые быстро распространяются на системный уровень и вызывают более значительные изменения, регистрирующиеся в крови. Использование ДХА позволяет эффективно подавить выявленные нарушения окислительного метаболизма. Так же как и в крови, при сосудистой изоляции печени с интраперитонеальным введением ДХА рост содержания ТБК-РП в гомогенате печени (на 25%) наблюдается только лишь при 20-минутном пережатии аналога ПДС у крыс.

Выраженность патобиохимических изменений также оценивали по уровню эндогенной интоксикации. Исследование содержания ВСиНММ продемонстрировало поэтапное развитие эндотоксикоза у лабораторных животных изученных групп по мере увеличения продолжительности васкулярной эксклюзии печени (таблица 6).

**Таблица 6** – Показатели уровня эндогенной интоксикации при васкулярной эксклюзии печени (Ме (p0,25/p0,75))

Группы	ВСиНММ <sub>пл</sub> , отн. ед.	ВСиНММ <sub>эр</sub> , отн. ед.
I (К)	8,65 (7,9/9,77)	12,08 (11,29/13,13)
II (10')	11,26 (10,51/11,86) <sup>1</sup>	20,61 (19,93/21,22) <sup>1</sup>
III (15')	15,79 (15,4/16,14) <sup>1</sup>	20,29 (19,85/20,84) <sup>1</sup>
IV (20')	15,99 (15,5/16,82) <sup>1</sup>	15,8 (14,93/16,69) <sup>1</sup>
V (10'ДХА)	9,35 (8,52/10,03) <sup>2</sup>	19,15 (18,46/19,56) <sup>1</sup>
VI (15'ДХА)	11,87 (11,28/12,39) <sup>1,3</sup>	19,08 (18,54/19,67) <sup>1</sup>
VII (20'ДХА)	14,66 (13,66/14,93) <sup>1</sup>	18,44 (17,99/19,22) <sup>1,4</sup>

*Примечание:* <sup>1</sup> – p<0,05 по отношению к группе I, <sup>2</sup> – p<0,05 по отношению к группе II, <sup>3</sup> – p<0,05 по отношению к группе III, <sup>4</sup> – p<0,05 по отношению к группе IV; пл – в плазме крови, эр – в эритроцитах.

В группе II наблюдалось увеличение содержания ВСиНММ в плазме крови на 30% и в эритроцитах на 71%, что соответствует фазе накопления эндотоксинов из очага повреждения по М.Я. Малаховой (М.Я. Малахова, О.В. Зубаткина, В.В. Слепышева, 2011). В то же время в группе V, животные которой подвергались также 10-минутной сосудистой изоляции печени, но с предварительным введением ДХА, отмечался рост только эритроцитарной фракции ВСиНММ на 59%, что, вероятнее всего, соответствует начальной фазе эндотоксикоза. При 15-минутной васкулярной эксклюзии печени в группе III наблюдалось дальнейшее увеличение содержания ВСиНММ плазмы крови – на 83% в сравнении с контрольной группой, содержание же эритроцитарной фракции сохранялось на уровне 10-минутной ишемии, что соответствует фазе обратимой декомпенсации системы функциональной детоксикации. При этом в группе VI при введении ДХА тоже наблюдался рост плазменной фракции ВСиНММ – на 37% при сравнении с группой I, эритроцитарная фракция стабилизировалась, что позволяет аналогично отнести эту группу к фазе обратимой декомпенсации. В группе IV в результате 20-минутной васкулярной эксклюзии печени без метаболической коррекции наблюдалось уже падение содержания ВСиНММ в эритроцитах на 22% по сравнению с III-й группой при сохранном уровне их в плазме крови, что может говорить о развитии фазы необратимой декомпенсации системы детоксикации. При этом у животных VII-й группы уровень эритроцитарной фракции продолжал оставаться стабильным, а плазменная фракция возросла на 69%. Таким образом, также было зафиксировано отставание повреждения печеночной паренхимы и развития интоксикации на 5 минут при использовании ДХА по сравнению с группами без применения метаболической коррекции.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Представленные данные демонстрируют цитопротективные свойства дихлорацетата натрия, активатора мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса, на модели сосудистой изоляции печени (маневра Прингла) и могут быть использованы в дальнейших исследованиях на клинических моделях, а также рекомендованы с целью уменьшения ишемически-реперфузионного повреждения. Показано, что дихлорацетат натрия реализует свои эффекты через усиление компенсаторных возможностей антиоксидантной системы, в первую очередь ее тиолового звена, что ведет к существенному снижению уровня свободнорадикальных процессов и эндогенной интоксикации. На основании полученных данных предложен способ снижения гепатоцитолита в условиях частичной сосудистой изоляции печени в эксперименте (патент РФ на изобретение № 2644305). Применение данного метаболического протектора при васкулярной эксклюзии печени представляется перспективным при введении его даже в большой дозе, но однократно или небольшим курсом, так как действие развивается очень быстро, а для появления побочных эффектов этого, как правило, недостаточно.

## **ВЫВОДЫ**

1. Разработан способ метаболической коррекции ишемически-реперфузионных нарушений при использовании превентивной васкулярной эксклюзии печени в ходе оперативного вмешательства, предусматривающий интраоперационное интраперитонеальное введение дихлорацетата натрия в дозировке 300 мг/кг массы тела.

2. Установлено, что при васкулярной эксклюзии печени продолжительностью 10 минут поддерживается адекватное функционирование антиоксидантной системы: увеличение активности глутатионпероксидазы эритроцитов на 74%, поддержание концентрации восстановленного глутатиона эритроцитов и печени на физиологическом уровне, несмотря на существенное нарастание интенсивности свободнорадикальных процессов. При увеличении времени сосудистой изоляции печени до 15 минут уже на фоне снижения активности ферментов антирадикальной защиты до уровня контрольной группы или несколько ниже нарастает дисбаланс прооксидантно-антиоксидантной системы. После 20 минут пережатия печеночно-двенадцатиперстной связки наблюдается срыв компенсаторных возможностей антиоксидантной системы, сопровождающийся снижением активности ферментов антирадикальной защиты и в эритроцитах, и в печени, а также еще большим нарастанием интенсивности окислительных процессов (в 3-3,2 раза).

3. Применение дихлорацетата натрия с целью метаболической коррекции ишемически-реперфузионного повреждения печени при хирургическом моделировании ее васкулярной эксклюзии позволяет добиться увеличения потенциала ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы как на местном, так и на системном уровнях, а также приводит к существенному замедлению интенсификации свободнорадикальных процессов.

4. Доказана возможность снижения уровня эндогенной интоксикации при васкулярной эксклюзии печени с использованием интраоперационно дихлорацетата натрия, что подтверждается меньшими значениями (на 10-25%) плазменной и эритроцитарной фракций веществ со средней и низкой молекулярными массами.

5. Выявлена максимальная гепатопротекторная эффективность дихлорацетата натрия при васкулярной эксклюзии печени продолжительностью 10-15 минут, что подтверждается достоверным уменьшением цитолиза гепатоцитов при сравнении с оперированными животными без метаболической коррекции (по данным активности в плазме крови, АЛТ на 43-52% и АСТ на 34%). Сравнивая показатели активности трансаминаз в плазме крови крыс, подвергавшихся сосудистой изоляции печени с и без метаболической коррекции, можно заключить, что использование дихлорацетата натрия в дозировке 300 мг/кг массы тела достоверно замедляет развитие цитолитического синдрома на 5 минут.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Рекомендовать использование дихлорацетата натрия для повышения эффективности коррекции патобиохимических изменений, сопровождающих васкулярную эксклюзию печени в эксперименте.

2. Использование дихлорацетата натрия в дозировке 300 мг/кг массы тела перед пережатием печеночно-двенадцатиперстной связки позволяет продлить относительно безопасные сроки экспериментальной васкулярной эксклюзии печени, улучшая переносимость ее ишемии в течение 10-15 минут, за счет снижения цитолиза гепатоцитов.

3. Для оценки выраженности ишемически-реперфузионного синдрома при васкулярной эксклюзии печени в экспериментальной хирургии целесообразно использование разработанной констелляции лабораторных показателей (АСТ, АЛТ, ЛДГ, ГПО, ГР и GSH).

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Полученные данные позволяют рекомендовать дихлорацетат натрия для проведения целенаправленных доклинических исследований возможностей коррекции ишемически-реперфузионных нарушений при превентивной сосудистой изоляции печени в ходе ее резекций и хирургии внутрипеченочных сосудистых магистралей. Результаты исследования особенностей окислительного метаболизма у лабораторных животных на фоне развития ишемически-реперфузионного синдрома при проведении метаболической коррекции позволяют говорить о перспективе разработки схем комбинированной терапии с использованием дихлорацетата натрия и средств антиоксидантной направленности, в том числе супероксиддисмутазы.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **\*Изменения в системе глутатиона при интраоперационной ишемии печени у крыс / И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов, К.И. Мелконян [и др.] // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – Электрон. журн. – 2015. – № 5. – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21775> (дата обращения: 15.04.2018).**

2. **Цымбалюк, И.Ю.** Интенсивность свободнорадикального окисления при сосудистой изоляции печени у крыс / **И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов** // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 11-1. – С. 127-128.

3. **Цымбалюк, И.Ю.** Состояние системы функциональной детоксикации при сосудистой изоляции печени у крыс / **И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов, А.А. Веревкин** // Медицинская наука и здравоохранение: материалы XIV научно-практической конференции молодых ученых и студентов Юга России, Краснодар, 28-29 марта 2016 г. / под ред. Редько А.Н., Компаниец О.Г., Басова А.А. – Краснодар, 2016. – С. 33-34.

4. **Цымбалюк, И.Ю.** Изменение маркеров цитолиза и основных двухвалентных катионов в условиях сосудистой изоляции печени у крыс / **И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов, А.С. Шевченко** // Медицинская наука и здравоохранение: материалы XIV научно-практической конференции молодых

ученых и студентов Юга России, Краснодар, 28-29 марта 2016 г. / под ред. Редько А.Н., Компаниец О.Г., Басова А.А. – Краснодар, 2016. – С. 34-36.

**5. \*Динамика метаболических показателей при частичной сосудистой изоляции печени у крыс / И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов, Е.Е. Есауленко [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 3 (158). – С. 137-144.**

**6. Метаболическая коррекция повреждения печени крыс при частичной сосудистой изоляции / К.А. Попов, И.Ю. Цымбалюк, И.М. Быков [и др.] // Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V Съезда биохимиков России, Конференции ADFLIM, Сочи-Дагомыс, 4-8 октября 2016 г. / под ред. А.И. Григорьева, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили, А.Г. Габиева, В.Т. Иванова, А.П. Савицкого. – АСТА NATURAE, 2016. – Т. 2. – С. 61-62.**

**7. Развитие окислительного стресса при ишемическом и реперфузионном повреждении печени / И.Ю. Цымбалюк, А.А. Веревкин, В.В. Малышко [и др.] // Технологический форсайт 2.0: сборник статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Краснодар, 19-21 октября 2016 г. / отв. ред. В.А. Бордовский. – Краснодар: Кубанский гос. ун-т; Вика-Принт, 2016. – С. 128-130.**

**8. \*Биологическая активность дихлорацетата натрия: концепции и механизмы (обзор литературы) / А.М. Мануйлов, К.А. Попов, И.Ю. Цымбалюк [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 6 (161). – С. 156-163.**

**9. \*Биологическая активность дихлорацетата натрия: эффективность в экспериментально-клинических исследованиях / И.Ю. Цымбалюк, А.М. Мануйлов, К.А. Попов [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – № 2 (163). – С. 151-162.**

**10. \*Метаболическая коррекция ишемически-реперфузионного повреждения печени при ее васкулярной эксклюзии в эксперименте / И.Ю. Цымбалюк, А.М. Мануйлов, К.А. Попов [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2017. – Т. 10, № 2 (35). – С. 130-136.**

**11. Цымбалюк, И.Ю. Влияние дихлорацетата натрия на интенсивность свободнорадикального окисления при васкулярной эксклюзии печени в эксперименте / И.Ю. Цымбалюк // Национальное здоровье. – 2017. – № 1-2. – С. 128-134.**

**12. \*Временная зависимость метаболических показателей при частичной сосудистой изоляции печени в эксперименте / А.М. Мануйлов, И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – № 9 (145). – С. 82-86.**

**13. \*Метаболическая коррекция дихлорацетатом натрия ишемически-реперфузионного повреждения при сосудистой изоляции печени в эксперименте / И.Ю. Цымбалюк, А.М. Мануйлов, К.А. Попов [и др.] // Новости хирургии. – 2017. – Т. 25, № 5. – С. 447-453.**

**14. \*Пат. 2644305 Российская Федерация, МПК G09B 23/28, A61K 31/185, A61P 1/16. Способ снижения гепатоцитолита в условиях частичной сосудистой изоляции печени в эксперименте / И.Ю. Цымбалюк, А.М. Мануйлов, А.А. Басов, К.А. Попов, Ф.У. Хубиева; заявители и патентообладатели ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, И.Ю. Цымбалюк, А.М. Мануйлов, А.А. Басов, К.А. Попов, Ф.У. Хубиева. – № 2017101902; заявл. 20.01.2017; опубл. 08.02.2018, Бюл. № 4. – 9 с.**

**\* – работа опубликована в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к ним.**

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

<b>АЛТ</b>	– аланинаминотрансфераза
<b>АОС</b>	– антиоксидантная система
<b>АСТ</b>	– аспартатаминотрансфераза
<b>ВСиНММ</b>	– вещества со средней и низкой молекулярными массами
<b>ГПО</b>	– глутатионпероксидаза
<b>ГР</b>	– глутатионредуктаза
<b>ДХА</b>	– дихлорацетат натрия
<b>ИРС</b>	– ишемически-реперфузионный синдром
<b>КАТ</b>	– каталаза
<b>ЛДГ</b>	– лактатдегидрогеназа
<b>МВХЛ</b>	– максимум вспышки хемилюминесценции
<b>ПДС</b>	– печеночно-двенадцатиперстная связка
<b>ПХЛ</b>	– площадь вспышки хемилюминесценции
<b>СОД</b>	– супероксиддисмутаза
<b>СРП</b>	– свободнорадикальные процессы
<b>ТБК-РП</b>	– вторичные продукты перекисного окисления липидов, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой
<b>ТБЧ</b>	– тиобарбитуровое число
<b>GSH</b>	– восстановленный глутатион