

Вплив лапаратомії та ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді на метаболічні розлади в організмі щурів

О.В. Таран, Н.В. Соловйова, В.О. Костенко

Полтавський державний медичний університет; e-mail: ptphysiology@pdmu.edu.ua

*Досліджували вплив абдомінальної хірургічної травми (лапаратомії) на маркери хірургічного стресу та гострофазової відповіді, вуглеводний і ліпідний обмін за умов ліпополісахарид (ЛПС)-індукованої системної запальної відповіді (СЗВ). Щури-самці лінії Вістар були розподілені на 4 групи: 1-ша (контрольна) – «хибнооперовані» тварини (процедура включала наркоз, епіляцію, фіксацію тварин, стиснення шкіри живота затискачем Мікуліча на одне клацання); 2-га – щурам перед виконанням «хибної операції» вводили ЛПС *Salmonella typhi* (0,4 мкг/кг 3 рази протягом 1-го тижня та одноразово щотижнево впродовж наступних 7 тиж); 3-тя – після виконання лапаратомії; 4-та – після лапаратомії, виконаної на тлі ЛПС-індукованої СЗВ. Дослідження проводили через 7 діб після часу «хибної» операції або лапаратомії. Виявлено, що поєднаний вплив операції лапаратомії та ЛПС-індукованої СЗВ супроводжувався суттєвим збільшенням маркера хірургічного стресу – концентрації кортизолу в плазмі крові, яка значно перевищувала значення 2-ї та 3-ї груп – на 61,8 та 25,1% відповідно. Проте вміст білка гострофазової відповіді церулоплазмину в сироватці крові не відрізнявся від результату 2-ї групи, а концентрація холестерину ліпопротеїнів дуже низької щільності та тригліцеридів значно перевищувала їх. Поєднаний вплив хірургічної травми та ЛПС-індукованої СЗВ ще більшою мірою зменшував активність конститутивних ізоформ NO-синтази, яка була достовірно меншою за значення 2-ї групи – на 41,7% та 3-ї групи – на 41,7%. Водночас загальна активність цього ферменту та активність його індукційної ізоформи збігалися зі значеннями 2-ї групи. Це супроводжувалося розвитком декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів (з істотним зменшенням антиоксидантного потенціалу крові).*

Ключові слова: хірургічна травма; лапаратомія; ліпополісахаридіндукована системна запальна відповідь; вуглеводний і ліпідний обмін; NO-синтазна активність; пероксидне окиснення ліпідів.

ВСТУП

Щороку в усьому світі виконується понад 310 млн великих операцій: приблизно від 40 до 50 млн у США та 20 млн у Європі. За оцінками експертів, від 1 до 4% прооперованих осіб помирає, до 15% пацієнтів має серйозні післяопераційні захворювання, а 5–15% повторно госпіталізуються протягом 30 днів. Щорічна глобальна смертність, що становить близько 8 млн осіб, висуває хірургічні втручання на рівень, близький до провідних причин смерті – серцево-судинних захворювань та інсульту, злоякісних пухлин та травм [1]. Хірургічна травма розглядається як гостра реакція на

© О.В. Таран, Н.В. Соловйова, В.О. Костенко

одне або кілька порушень бар'єрних функцій організму, пов'язаних з керованою ятрогенною механічною травмою. Показана роль ранового процесу, інфекційних чинників (транслокації кишкової мікробіоти та/або їх ендотоксинів, післяопераційної ранової інфекції), психоемоційного стресу, болю, патологічних рефлексів невольового характеру, крововтрати, вибору засобів анестезії та шовного матеріалу як складових хірургічної травми [1, 2].

В основі патогенезу хірургічної травми, на думку дослідників, знаходиться системна запальна відповідь (СЗВ), яка у тяжких випадках призводить до розвитку синдрому,

відомому як SIRS (від англ. Systemic inflammatory response syndrome) [3]. У деяких сприйнятливих осіб це може викликати розвиток синдрому поліорганної недостатності та смерть. Навіть одинична лапаротомія здатна забезпечувати виникнення прозапального фенотипу, що включає нейроендокринний стрес, кіркову збудливість, імунну активацію, метаболічні зміни та коагулопатію [4]. Примітно, що такі складові патогенезу хірургічної травми, як психоемоційний стрес, ноцицептивні механізми, побічна дія анестетиків, крововтрата, разом з рановим процесом сприяють розвитку СЗВ [3]. Остання також є загальною реакцією організму при хронічному дифузному запаленні слабкої інтенсивності та може виявлятися за відсутності інших клінічних ознак [5]. Саме низькоступеневе запалення лежить в основі метаболічного синдрому та хронічної неінфекційної патології (ожиріння, цукрового діабету 2-го типу, серцево-судинних і нейродегенеративних захворювань, пародонтиту, стеатогепатиту, артритів тощо). Клінічні дослідження свідчать про більш тяжкий характер післяопераційної системної запальної реакції при наявності ознак передопераційної СЗВ [6].

Важливою медико-біологічною проблемою є порушення системного метаболізму, зокрема, післяопераційна інсулінорезистентність та пов'язана з нею гіперглікемія [7], а також зміни ліпідного спектра крові [8]. Ці метаболічні порушення, на думку авторів, можуть позначатися як на близьких і віддалених результатах операційного втручання, так і на розвитку інших захворювань. Ми припускаємо, що навіть малоінвазивні хірургічні втручання у хворих за наявності передопераційних ознак СЗВ унаслідок хірургічної або іншої патології значно погіршують метаболічні процеси в організмі, що потребує додаткового експериментального з'ясування.

Метою нашої роботи було вивчення впливу абдомінальної хірургічної травми (лапаротомії) на маркери хірургічного стресу та гострофазової відповіді, вуглеводний

і ліпідний обмін за умов ліпополісахарид (ЛПС)-індукованої СЗВ.

МЕТОДИКА

Дослідження були проведені на 28 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 220–250 г, розподілених на 4 групи: 1-ша (контрольна) – «хибнооперовані» тварини; 2-га – щурам перед виконанням «хибної операції» вводили ЛПС *Salmonella typhi*; 3-тя – після лапаротомії; 4-та – після лапаротомії, виконаної на тлі ЛПС-індукованої СЗВ. У приміщеннях для утримання тварин контролювали температуру повітря ($21 \pm 1^\circ\text{C}$), вологість ($50 \pm 20\%$) та світловий цикл – 12 год світло/12 год темрява. Щури мали необмежений доступ до стандартного повнораціонного комбікорму та водопровідної води. Тварин відлучали від корму за 12 год до введення у наркоз.

Процедура «хибної» операції включала наркоз, епіляцію, фіксацію тварин, стиснення шкіри живота затискачем Мікуліча на одне клацання, без нанесення хірургічної рани. Оперативне втручання (лапаротомію) проводили під внутрішньоочеревинним кетаміновим наркозом (7 мг/кг). Щурам після гоління операційного поля та обробки шкіри антисептичним розчином проводили лінійний розріз довжиною 1 см у ділянці гіпогастрію. Далі розсікали м'язи, фасції, очеревину, в рану виводили петлю тонкої кишки, яку протягом 10 с подразнювали масажними рухами вказівного та великого пальців [9]. Після цього кишку опускали в черевну порожнину, рану пошарово ушивали полігліколідною ниткою «мефіл» з атравматичною голкою (НВО «Біополімер», Україна) та обробляли антисептиком.

Для відтворення СЗВ використовували ЛПС *S. typhi* (пірогенал, «Медгамал», РФ), який вводили із розрахунку 4 мінімальних пірогенних доз (по 0,4 мкг/кг) тричі протягом 1-го тижня та одноразово щотижнево впродовж наступних 7 тиж [10]. Тварин декапітували через 7 діб після часу «хибної»

операції або лапаротомії під ефірним наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Маркером хірургічного стресу в плазмі крові була концентрація кортизолу, яку визначали за допомогою спектрофотометра Ulab 101 (Китай) за утворенням у реакції з нітросинім тетразолієм у метанолі при наявності тетраметилгідроксидпентагідрату амонію хромогену червоно-помаранчевого кольору з максимальним світлопоглинанням на довжині хвилі 510 нм [11]. Для оцінки гострофазової відповіді за умов СЗВ визначали у сироватці крові вміст церулоплазміну за методом, що базується на окисненні п-фенілендіаміну [12]. Концентрацію глюкози, загального холестерину, тригліцеридів та холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ЛВЩ) визначали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро, Україна). Вміст холестерину ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності (ЛНЩ і ЛДНЩ) розраховували за формулою Фридвальда: ЛНЩ холестерин = Загальний холестерин – (холестерин ЛВЩ + тригліцериди/2,2); холестерин ЛДНЩ = тригліцериди/2,2.

Активність NO-синтази (NOS) у сироватці крові визначали за різницею концентрації нітритів до та після її інкубації [13]. До зразків крові зі стабілізатором (цитратом натрію) додавали розчин, що осаджує гемоглобін (суміш 96%-го етанолу та хлороформу), після чого проби добре перемішували та центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хв. Надосад використовували для подальшого дослідження. Концентрацію нітритів визначали у реакції з сульфаниловою кислотою й α -нафтиламіном (реактивом Гріса-Ілосвая) діазосполук, інтенсивність забарвлення яких пропорційна концентрації нітритів. Для оцінки активності конститутивних ізоформ NOS (cNOS) до розчину, відібраного для первинної оцінки нітритів, додавали селективний інгібітор індукційного ізоферменту (iNOS) –

1%-й розчин гідрохлориду аміногуанідину (“Sigma-Aldrich, Inc.”, США) [14]. Активність iNOS розраховували відніманням активності cNOS від значення загальної активності NOS. Активність NOS та її ізоформ виражали у мікромолях (NO_2^-) за 1 хв на 1 г білка. Концентрацію білка визначали біуретовим методом. Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у крові досліджували за утворенням забарвленого триметинового комплексу в реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами до та після 1,5-годинної інкубації. Антиоксидантний потенціал оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних сполук за час інкубації крові в залізоаскорбатному буферному розчині [12].

Отримані результати статистично обробляли з використанням пакету програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics 2019 з використанням тесту Шапіро-Уїлка для перевірки нормальності дисперсій. Оскільки всі вибірки мали нормальний розподіл використовували параметричний метод дисперсійного аналізу ANOVA з наступним попарним порівнянням груп за критерієм t Стьюдента для незалежних вибірок та аналізом за Tukey’s HSD (Honestly Significant Difference) процедурою. Для уникнення феномену множинних порівнянь була використана поправка за Dunn–Šidák. Різницю вважали вірогідною при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У «хибнооперованих» тварин концентрація кортизолу в плазмі крові сягала $19,61 \pm 1,51$ нмоль/л (рис. 1). Цей показник характеризує ступінь хірургічного стресу, що виникає внаслідок оперативного втручання [1]. Введення щурам ЛПС S. typhi також вірогідно не змінювало концентрацію кортизолу в плазмі крові, яка становила $23,71 \pm 2,27$ нмоль/л. Водночас після лапаротомії вміст цього гормону суттєво підвищувався до $30,67 \pm 0,95$ нмоль/л, тобто на 56,4% порівняно з результатом 1-ї групи. Поєднаний вплив лапаротомії

та індуктора СЗВ (ЛПС *S. typhi*) збільшував концентрацію кортизолу до $38,36 \pm 0,67$ нмоль/л, яка значно перевищувала значення 1-ї групи на 95,6%, 2-ї групи – на 61,8% та 3-ї групи – на 25,1%.

Як маркер розвитку СЗВ досліджували вміст у сироватці крові білка гострофазової відповіді церулоплазміну. Введення ЛПС *S. typhi* «хибнооперованим» щурам дійсно значно підвищувало концентрацію церулоплазміну в сироватці крові (рис. 2) до $403,6 \pm 17,3$ мг/л, що на 40,6% перевищувало результат 1-ї групи ($287,1 \pm 14,3$ мг/л).

Найбільш інформативними маркерами СЗВ разом зі збільшенням вмісту церулоплазміну вважається зростання у сироватці крові певних про- і протизапальних цитокінів – інтерлейкінів (ІЛ) 6 і 10, фактора некрозу пухлини (ФНП) α , а також іншого білка гострої фази – С-реактивного протеїну. Саме ці зміни відмічаються дослідниками при застосуванні ЛПС *S. typhi* за зазначеною схемою, що підтверджує адекватність моделі [15].

Водночас виконання лапаротомії вірогідно не змінювало концентрацію церулоплазміну в сироватці крові ($343,1 \pm 21,8$ мг/л). При поєднаному впливі хірургічної травми

та СЗВ вона збільшувалася до $431,9 \pm 19,8$ мг/л, що було вищим за значення 1-ї групи на 50,4% та 3-ї групи – на 25,9%, але істотно не відрізнялося від значення 2-ї групи.

Одержані результати свідчать, що хірургічна травма викликає системну стресову реакцію з активацією осі гіпоталамус–гіпофіз–надниркові залози та збільшенням концентрації кортизолу в плазмі крові. Це вважається важливою ознакою скоординованої фізіологічної відповіді на хірургічне ушкодження [16]. При цьому вміст кортизолу залежить від обсягу такого втручання: мінімально інвазивні процедури можуть взагалі не впливати на нього в післяопераційному періоді, тоді як більш інвазивні операції викликають зростання цього показника передусім у літніх суб'єктів, жінок та пацієнтів, які перенесли відкриту операцію та загальну анестезію [17].

Поєднаний вплив хірургічної травми та ЛПС-індукованої СЗВ супроводжувався, за нашими результатами, нетиповим перебігом стресорної реакції та СЗВ: одночасним підвищенням концентрації кортизолу та маркера СЗВ – церулоплазміну. Ці спостереження свідчать, що протизапальний потенціал кортизолу за таких умов не здатний протидіяти механізмам СЗВ, яка проявляє себе як

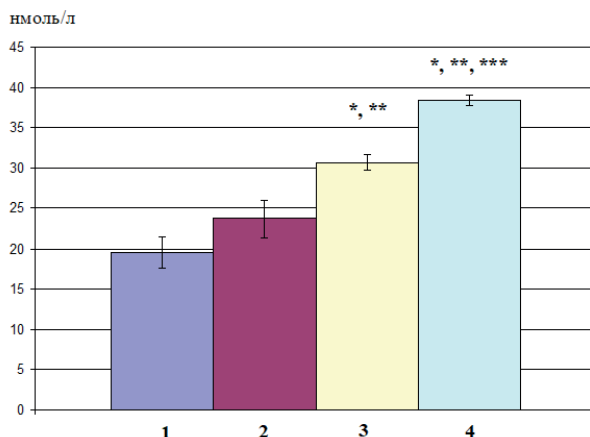


Рис. 1. Концентрація кортизолу в плазмі крові «хибнооперованих» тварин (1); після введення їм ліпополісахариду *S. typhi* (2); після лапаротомії (3); після лапаротомії та введення ліпополісахариду *S. typhi* (4). $P < 0,05$, *порівняно зі значеннями 1-ї групи; **порівняно зі значеннями 2-ї групи; ***порівняно зі значеннями 3-ї групи

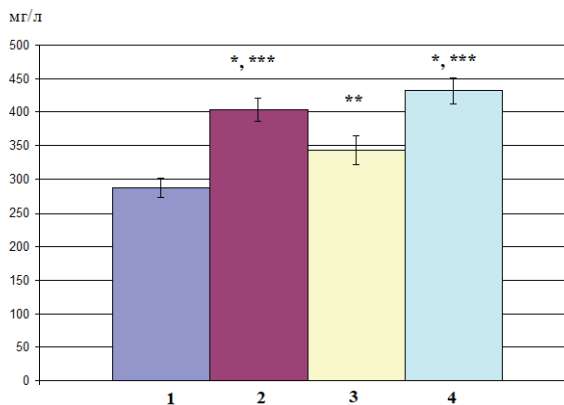


Рис. 2. Концентрація церулоплазміну в сироватці крові «хибнооперованих» тварин (1); після введення їм ліпополісахариду *S. typhi* (2); після лапаротомії (3); після лапаротомії та введення ліпополісахариду *S. typhi* (4). $P < 0,05$, *порівняно зі значеннями 1-ї групи; **порівняно зі значеннями 2-ї групи; ***порівняно зі значеннями 3-ї групи

провідний елемент патологічної системи, що позбавлена протективної для організму основи. Наслідком цього є саморозвиток СЗВ із вторинним поліорганним ушкодженням, що у тяжких випадках визначає високу летальність [3]. У клінічних умовах високоінвазивна хірургічна травма дійсно супроводжується підвищенням вмісту кортизолу на тлі зростання вмісту низки маркерів СЗВ – С-реактивного білка, ФНП-α, ІЛ-1β, ІЛ-6, ІЛ-10 та ІЛ-13 [18].

Введення ЛПС *S. typhi* «хибнооперованим» щурам супроводжувалося помірним збільшенням концентрації глюкози в сироватці крові (рис. 3) до $6,72 \pm 0,26$ ммоль/л, що на 45,1% перевищувало значення 1-ї групи ($4,63 \pm 0,22$ ммоль/л). Водночас виконання лапаротомії вірогідно не змінювало цей показник, який становив $4,84 \pm 0,19$ ммоль/л. Поєднана дія хірургічної травми та СЗВ збільшувала концентрацію глюкози в сироватці крові до $6,47 \pm 0,23$ ммоль/л, яка істотно перевищувала значення 1-ї групи на 39,7% та 3-ї групи – на 33,7%, але не відрізнялася від значення 2-ї групи.

Відомо, що гіперглікемія часто спостерігається під час бактеріальної інфекції і є маркером негативного клінічного результату у важкохворих пацієнтів [19]. При дослідженні

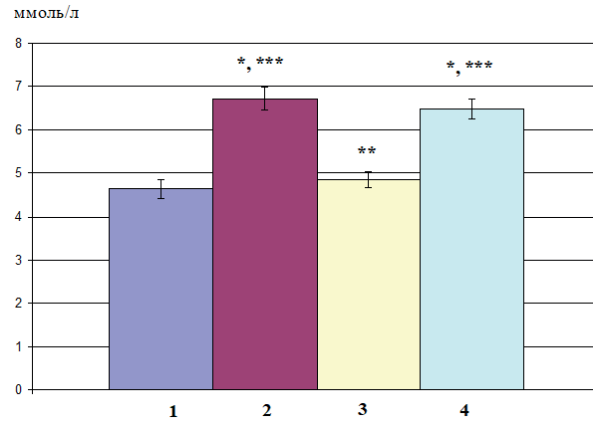


Рис. 3. Концентрація глюкози в сироватці крові «хибнооперованих» тварин (1); після введення їм ліпополісахариду *S. typhi* (2); після лапаротомії (3); після лапаротомії та введення ліпополісахариду *S. typhi* (4). $P < 0,05$, *порівняно зі значеннями 1-ї групи; **порівняно зі значеннями 2-ї групи; ***порівняно зі значеннями 3-ї групи

ліпідного спектра крові за умов експерименту (табл. 1) слід відмітити при введенні ЛПС *S. typhi* зменшення концентрації в сироватці крові холестерину ЛВЩ – на 19,1% порівняно з контролем. При цьому вміст холестерину ЛДНЩ та тригліцеридів, навпаки, суттєво збільшувався – в 2,44 та 2,47 рази відповідно. Концентрація цих ліпідів також виявляла вірогідне зростання після лапаротомії – на 44,8 та 46,0% відповідно.

Таблиця 1. Показники ліпідного спектра крові щурів (ммоль/л) після відтворення абдомінальної хірургічної травми за умов ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді (M ± m)

Умови досліджу	Холестерин				Тригліцериди
	загальний	ліпопротеїнів високої щільності	ліпопротеїнів низької щільності	ліпопротеїнів дуже низької щільності	
Хибна операція	2,80 ± 0,34	0,94 ± 0,05	1,58 ± 0,32	0,29 ± 0,02	0,63 ± 0,05
Введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i>	2,95 ± 0,40	0,76 ± 0,03*	1,48 ± 0,40	0,71 ± 0,04*	1,56 ± 0,10*
Лапаротомія	2,83 ± 0,30	1,00 ± 0,03	1,42 ± 0,26	0,42 ± 0,04*	0,92 ± 0,09*
Лапаротомія та введення ліпополісахариду		0,78 ±			
<i>S. typhi</i>	3,11 ± 0,35	0,05*,***	1,40 ± 0,32	0,93 ± 0,04*,**,***	2,06 ± 0,10*,**,***

Примітка: тут і в табл. 2, 3: * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями 1-ї групи; ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями 2-ї групи; *** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями 3-ї групи

При поєднаному впливі лапаротомії та ЛПС *S. typhi* вміст холестерину ЛВЩ був вірогідно меншим за значення 1-ї групи – на 17,0% та 3-ї групи – на 22,0%, але істотно не відрізнявся від результату 2-ї групи. Концентрація холестерину ЛДНЩ та тригліцеридів за цих умов значно збільшилася та перевищувала відповідні значення 1-ї групи у 3,2 та 3,3 раза; 2-ї групи – на 31,0 та 32,1%; 3-ї групи – в 2,21 та 2,23 раза.

Надходження ЛПС у плазму крові, зокрема, при структурних порушеннях кишкового епітелію у відповідь на дію аліментарних чинників (метаболічна ендотоксемія), внаслідок активації Toll-подібних рецепторів 4-го типу (TLR4) призводить до вироблення численних прозапальних цитокінів та інших маркерів СЗВ [20]. ФНП- α , ІЛ-6 та протеїнкіназа С здатні викликати розвиток гіперглікемії через пригнічення сприйняття інсулінового сигналу, що забезпечується фосфорилуванням субстрату інсулінового рецептора 1 (IRS-1) [21].

ЛПС-індукована СЗВ, модельована за умов помірної хірургічної травми (лапаротомії), значно погіршує ліпідний спектр крові. Причому характер порушень (переважне зростання концентрації ЛДНЩ і тригліцеридів) відповідає такому при хворобах, що супроводжується хронічним дифузним запаленням слабкої інтенсивності та асоціюються з підвищеним ризиком серцево-судинних захворювань [22]. За цих умов підвищення вмісту тригліцеридів у сироватці крові пояснюється як збільшенням продукції та секреції

ЛДНЩ печінкою, так і зниженням кліренсу ліпопротеїнів, багатих на тригліцериди. Механізми, за допомогою яких запалення та інфекція знижують концентрацію ЛВЩ, усе ще залишаються нез'ясованими. Вміст ЛНЩ інколи навіть знижується, але поширеність малих щільних ЛНЩ може збільшуватися через обмін тригліцеридів (від багатих на них ліпопротеїнів) на ЛНЩ, що опосередковується білком-переносником ефірів холестерину CETP (від англ. Cholesterol Ester Transfer Protein), з подальшим гідролізом тригліцеридів. Окрім впливу на концентрацію ліпідів у сироватці, СЗВ також негативно діє на функцію ліпопротеїнів. ЛНЩ легше окиснюються, оскільки здатність ЛВЩ протидіяти цьому процесу значно зменшується [22].

Дійсно, як при відтворенні ЛПС-індукованої СЗВ «хибнооперованим» щурам, так і після виконання лапаротомії створювалися умови для утворення цитотоксичних концентрацій оксиду азоту завдяки його індукційному синтезу. За цих умов значно підвищувалася загальна активність NOS у сироватці крові (табл. 2) вдвічі та 1,7 раза, активність іNOS у 2,2 та 1,8 раза відповідно порівняно з контролем. При поєднаному впливі лапаротомії та ЛПС *S. typhi* загальна активність NOS вірогідно перевищувала значення 1-ї групи в 2,4 раза та 3-ї групи – в 1,4 раза, а активність іNOS була вищою за відповідний результат 1-ї групи – в 2,6 раза та 3-ї групи – в 1,5 раза. Проте ці показники істотно не відрізнялися від значення 2-ї групи.

Введення ЛПС *S. typhi* «хибноопера-

Таблиця 2. Показники системи оксиду азоту в сироватці крові щурів після відтворення абдомінальної хірургічної травми за умов ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді (M \pm m)

Умови досліджу	Активність NO-синтаз		
	загальна	конститутивних	індуцибельної
Хибна операція	2,49 \pm 0,26	0,24 \pm 0,01	2,25 \pm 0,26
Введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i>	5,06 \pm 0,25*	0,12 \pm 0,01 *	4,94 \pm 0,26*
Лапаротомія	4,21 \pm 0,32*	0,12 \pm 0,02 *	4,08 \pm 0,32*
Лапаротомія та введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i>	5,97 \pm 0,36*,***	0,07 \pm 0,01*,**,***	5,90 \pm 0,36*,***

ним» тваринам та операція лапаротомії двічі знижували активність сNOS у сироватці крові порівняно з контролем. Поєднаний вплив хірургічної травми та ЛПС-індукованої СЗВ ще більшою мірою зменшував активність сNOS, яка була достовірно меншою за значення 1-ї групи на 70,8%, 2-ї групи – на 41,7% та 3-ї групи – на 41,7%.

Якщо зростання активності іNOS у сироватці крові, вочевидь, супроводжує процес диференціювання моноцитів у макрофаги M1 у відповідь на дію ЛПС та прозапальних цитокінів [23], то активність сNOS імовірно зменшується внаслідок ендотеліальної дисфункції, що може викликатися цими самими чинниками [24]. Ураження ендотелію за умов хірургічної травми сприяє як механічне ушкодження тканин, так і гіперперфузія, ішемія/реперфузія, підвищення напруження зсуву, гіповолемія, гіперглікемія, оксидативний стрес, СЗВ та коагулопатія [1]. За умов оперативного втручання це призводить до подальшого ураження міокарда та потенційно збільшує 30-денну смертність [25]. Контакт ендотелію з ЛПС викликає вироблення низки прозапальних медіаторів через послідовну активацію рецепторного комплексу, що складається з TLR4, CD14 і MD2, ядерного фактора каппа В (NF-κB) і мітогенактивованих протеїнкіназ, що, загалом, призводить до пошкодження самих ендотеліоцитів [26].

Наслідком активації NF-κB та інших прозапальних чинників є збільшення експресії крім іNOS також низки інших прооксидант-

них білків (НАДФН-оксидази 2, ксантиноксидоредуктази, мікросомальних монооксигеназ Сур7b, Сур2Е1, Сур2С11, циклооксигенази 2, 5-ліпоксигенази та ін.) [27]. Дійсно, ми виявили вірогідне зростання концентрації вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-реактантів до та після інкубації крові в прооксидантному залізо-аскорбатному буферному розчині (табл. 3): при відтворенні ЛПС-індукованої СЗВ у «хибнооперованих» щурів на 86,9 та 51,7%, а після виконання лапаротомії на 39,6 та 45,4% порівняно з контролем. При поєднаному впливі хірургічної травми та ЛПС *S. typhi* значення цих показників були вищі за відповідні результати 1-ї групи в 2,1 та 1,9 раза, 2-ї групи – на 12,4 та 25,4%, 3-ї групи – на 50,5 та 30,8%. При цьому збільшувався приріст концентрації ТБК-реактантів за час інкубації, що відображає виснаження антиоксидантного потенціалу крові. Цей показник вірогідно перевищував значення 1-ї групи на 75,0%, 3-ї групи – на 40,1%, але істотно не відрізнялася від результату 3-ї групи.

Таким чином, ЛПС-індукована СЗВ як основа патології, що супроводжує наслідки оперативного втручання, може бути важливим чинником посилення метаболічних розладів, що виникають у результаті хірургічної травми.

ВИСНОВКИ

1. Поєднаний вплив операції лапаротомії та ЛПС-індукованої системної запальної відпо-

Таблиця 3. Вміст вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові щурів після відтворення абдомінальної хірургічної травми за умов ліпополісахаридіндукованої системної запальної відповіді (M ± m)

Умови досліджу	Концентрація сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, мкмоль/кг		
	до інкубації	після інкубації	приріст за час інкубації
Хибна операція	12,40 ± 0,95	28,78 ± 2,25	16,38 ± 2,56
Введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i>	23,18 ± 0,70*	43,65 ± 2,62*	20,47 ± 2,97
Лпаротомія	17,31 ± 0,54*	41,86 ± 2,33*	24,55 ± 2,18*
Лапаротомія та введення ліпополісахариду <i>S. typhi</i>	26,06 ± 0,63*,**,***	54,74 ± 2,37*,**,***	28,67 ± 2,18*,**

віді супроводжується суттєвим збільшенням маркера хірургічного стресу – концентрації кортизолу в плазмі крові порівняно з окремою дією названих чинників, проте вміст білка гострофазової відповіді церулоплазміну в сироватці крові не відрізняється від результату групи з окремим застосуванням ЛПС *S. typhi*.

2. При відтворенні хірургічної травми на тлі ЛПС-індукованої системної запальної відповіді істотно збільшується рівень таких системних метаболічних розладів, як гіпер-пре- β -ліпопротеїнемія та гіпертригліцеридемія, порівняно з окремою дією названих чинників, проте рівень гіперглікемії та гіпо- α -ліпопротеїнемії залишається на рівні групи з окремим застосуванням ліпополісахариду *S. typhi*.

3. Поєднаний вплив операції лапаратомії та ЛПС-індукованої системної запальної відповіді супроводжується суттєвим зменшенням активності конститутивних ізоформ NO-синтази в сироватці крові порівняно з окремою дією названих чинників, проте загальна активність цього ферменту та активність його індукційної ізоформи не відрізняються від результатів групи з окремим застосуванням ЛПС *S. typhi*.

4. При відтворенні хірургічної травми на тлі ЛПС-індукованої системної запальної відповіді у крові виявляється декомпенсоване пероксидне окиснення ліпідів (з істотним зменшенням антиоксидантного потенціалу крові), інтенсивність якого відповідає результатам групи з окремим відтворенням експериментальної хірургічної травми (лапаротомією).

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

O.V. Taran, N.V. Solovyova, V.O. Kostenko

EFFECT OF LAPARATOMY AND LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE ON METABOLIC DISORDERS IN RATS

Poltava State Medical University, Ukraine;
e-mail: ptpphysiology@pdmu.edu.ua

This investigation is aimed at studying the effect of abdominal surgical trauma (laparotomy) on markers of surgical stress and acute phase response as well as markers of carbohydrate and lipid metabolism under lipopolysaccharide (LPS) -induced systemic inflammatory response (SIR). Male Wistar rats were divided into 4 groups: 1st (control) group included “pseudo-operated” animals (the procedure included the administration of anesthesia, epilation, fixation of animals, compression of the skin of the abdomen with Mikulicz’s clamp by one click); the 2nd group included the rats, which were injected Salmonella typhi (in a dose of 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight 3 times during the 1st week and once a week for the next 7 weeks) before performing the “false operation”; the 3rd group was made up of the rats after laparotomy; and the 4th group involved the rats after laparotomy performed under LPS-induced SIR. The markers were assessed in 7 days following the “pseudo-operation” or laparotomy. The results obtained have demonstrated the combined effect of laparotomy and LPS-induced SIR was accompanied by a significant increase in the marker of surgical stress, the concentration of cortisol in blood plasma, which significantly exceeded the values of the groups 2 and 3 – by 61.8 and 25.1%, respectively. However, the content of acute-phase protein ceruloplasmin, an acute phase reactant, in the serum remained at the level of the 2nd group. Under these conditions, the concentration of very low-density lipoprotein cholesterol and triglycerides significantly exceeded the relevant values in the 2nd and 3rd groups. The combined effect of surgical trauma and LPS-induced SIR considerably reduced the activity of constitutive isoforms of NO-synthase, which was significantly lower, by 41.7%, than the value in the group 2, and by 41.7% lower than in the group 3. At the same time, the total activity of this enzyme and the activity of its inducible isoform were consistent with the values of the 2nd group. This was accompanied by the development of decompensated lipid peroxidation (with a considerable decrease in the blood antioxidant potential).

Key words: surgical trauma; laparotomy; lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response; carbohydrate and lipid metabolism; NO-synthase activity; lipid peroxidation.

REFERENCES

1. Dobson GP. Trauma of major surgery: A global problem that is not going away. *Int J Surg.* 2020 Sep;81:47-54.
2. Dikhtenko TH, Levkov AA, Kostenko VO. Impact of L-arginin immobilized on surgical suture material on the oxidation metabolism in the periwound tissues of

- the operated small bowel. *Klin Khir.* 2013 Sep;(9):66-9. [Ukrainian].
3. Smajic J, Tupkovic LR, Husic S, Avdagic SS, Hodzic S, Imamovic S. Systemic inflammatory response syndrome in surgical patients. *Med Arch.* 2018;72(2):116-9.
 4. Dobson GP, Morris JL, Biro E, Davenport LM, Letson HL. Major surgery leads to a proinflammatory phenotype: Differential gene expression following a laparotomy. *Ann Med Surg (Lond).* 2021 Oct 21;71:102970.
 5. Chen Y, Liu S, Leng SX. Chronic Low-grade Inflammatory Phenotype (CLIP) and senescent immune dysregulation. *Clin Ther.* 2019 Mar;41(3):400-9.
 6. Peng C, Li J, Xu G, Jin J, Chen J, Pan S. Significance of preoperative systemic immune-inflammation (SII) in predicting postoperative systemic inflammatory response syndrome after percutaneous nephrolithotomy. *Urolithiasis.* 2021 Dec;49(6):513-9.
 7. Vogel TR, Smith JB, Kruse RL. The association of postoperative glycemic control and lower extremity procedure outcomes. *J Vascul Surg.* 2017 Oct;66(4):1123-32.
 8. He T, Wang Z, Wu Y, Zhang X, Li X, Li J, Du L, Chen J, Lv Q. Lipid changes during the perioperative period in patients with early breast cancer: a real-world retrospective analysis. *BMC Surg.* 2021 Nov 12;21(1):396.
 9. Belozertseva IV, Dravolina OA, Krivov VO, Tur MA, Polushin YuS. Experimental simulation of postoperative cognitive disorders in rats. *Vest Anest Rean.* 2016;13(5):37-49. [Russian].
 10. Yelins'ka AM, Shvaykovs'ka OO, Kostenko VO. Epigallocatechin-3-gallate prevents disruption of connective tissue in periodontium and salivary glands of rats during systemic inflammation. *Wiad Lek.* 2018;71(4):869-73.
 11. Tu E, Pearlmutter P, Tiangco M, Derose G, Begdache L, Koh A. Comparison of colorimetric analyses to determine cortisol in human sweat. *ACS Omega.* 2020;5(14):8211-8.
 12. Kaidashev IP, editor. *Methods of clinical and experimental research in medicine.* Poltava. 2003. [Ukrainian].
 13. Akimov OYe, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *Ukr Biochem J.* 2016;88(6):70-5.
 14. Yelins'ka AM, Akimov OYe, Kostenko VO. Role of AP-1 transcriptional factor in development of oxidative and nitrosative stress in periodontal tissues during systemic inflammatory response. *Ukr Biochim J.* 2019;91(1):80-5.
 15. Kozaeva RS, Klymenko MO, Kostenko VO. Lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response enhances the development of oxidative-nitrosative stress in salivary glands of rats under alcohol damage. *Fiziol Zh.* 2021;67(6):60-7. [Ukrainian].
 16. Manou-Stathopoulou V, Korbonits M, Ackland GL. Redefining the perioperative stress response: a narrative review. *Br J Anaesth.* 2019 Nov;123(5):570-83.
 17. Prete A, Yan Q, Al-Tarrah K, Akturk HK, Prokop LJ, Alahdab F, et al. The cortisol stress response induced by surgery: A systematic review and meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2018 Nov;89(5):554-67.
 18. Milone M, Desiderio A, Velotti N, Manigrasso M, Vertaldi S, Bracale U, et al. Surgical stress and metabolic response after totally laparoscopic right colectomy. *Sci Rep.* 2021 May 6;11(1):9652.
 19. Nguyen AT, Mandard S, Dray C, Deckert V, Valet P, Besnard P, et al. Lipopolysaccharides-mediated increase in glucose-stimulated insulin secretion: involvement of the GLP-1 pathway. *Diabetes.* 2014 Feb;63(2):471-82.
 20. Mohammad S, Thiernemann C. Role of Metabolic Endotoxemia in Systemic Inflammation and Potential Interventions. *Front Immunol.* 2021 Jan 11;11:594150.
 21. Kaidashev IP. NF- κ B Activation as a molecular basis of pathological process by metabolic syndrome. *Fiziol Zh.* 2012;58(1):93-101. [Ukrainian].
 22. Feingold KR, Grunfeld C. The effect of inflammation and infection on lipids and lipoproteins. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326741/>
 23. Orekhov AN, Orekhova VA, Nikiforov NG, Myasoedova VA, Grechko AV, Romanenko EB, et al. Monocyte differentiation and macrophage polarization. *Vessel Plus.* 2019;3:10.
 24. Baek N, Sim S, Heo K-S. LPS-stimulated macrophage activation affects endothelial dysfunction. *J Bacteriol Virol.* 2018 Mar;48(1):23-30.
 25. Ekeloef S, Larsen MH, Schou-Pedersen AM, Lykkesfeldt J, Rosenberg J, Gögenür I. Endothelial dysfunction in the early postoperative period after major colon cancer surgery. *Br J Anaesth.* 2017 Feb;118(2):200-6.
 26. Dauphinee SM, Karsan A. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells. *Lab Invest.* 2006 Jan;86(1):9-22.
 27. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Res.* 2011 Jan;21(1):103-15.

*Матеріал надійшов
до редакції 07.02.2022*