

защитных реакций организма / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление.– 2002. – №1. – С. 9–16.

13. Скоробогатая, Е.В. Выделение и идентификация фибробластов из периферической крови человека / Е.В. Скоробогатая, Н.В. Калмыкова, М.И. Блинова, Г.П. Пинаев // Цитология.– 2008.– Т. 50, №2.– С. 118–123.

14. Удовиченко, О.В. Диабетическая стопа / О.В.Удовиченко, Н.М. Грекова.– М.: Практическая медицина, 2010.– 272 с.

15. Connexins 26, 30, and 43: differences among spontaneous, chronic, and accelerated human wound healing / J.M. Brandner [et al] // J. Invest. Dermatol.– 2004.–122.– P. 1310–1320.

16. Bocci, V. Ozone acting on human blood yields a hermetic dose–response relationship / V. Bocci, I. Zanardi, V.Travagli // J. Translational Medicine.– 2011.– №9.– P. 66–77.

17. Defective extracellular matrix reorganization by chronic wound fibroblasts is associated with alterations in TIMP–1, TIMP–2, and MMP–2 activity / H. Cook [et al] // J. Invest. Dermatol.– 2000.– 115(2).– P. 225–33.

18. Eswarakumar, V.P. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors / V.P. Eswarakumar, I. Lax, J. Schlessinger // Cytokine & Growth Factor Reviews.– 2005.– 16.– P. 139–149.

19. Fachmy, Z. Ozone Therapy in rheumatic diseases. National Conference on Ozone Applications / Fachmy Z. // Havana.–1988.

20. Gibson, D.J. Chronic wound diagnostic for matrix metalloproteinase / D.J. Gibson., G. Schultzf // Wound healing Southern Africa.– 2009.– 2(2).– P 68–70

21. Gosain, A. Aging and wound healing / A. Gosain, L.A. DiPietro.// World Journal of Surgery.– 2004.– Vol. 28.– N3.– P. 321–26.

22. Harding, K.G. Healing chronic wounds / K.G.Harding, H.L. Morris, G.K. Patel // BMJ.– 2002.– Vol. 324.– P.160–163.

23. Venous ulcer fibroblasts compared with normal fibroblasts show differences in collagen but not fibronectin production under both normal and hypoxic conditions / S.E. Herrick [et al.] // J. Invest. Dermatol.– 1996.– 106(1).– P. 187–93.

24. Jude, E. B. Role of neuropathy and plasma nitric oxide in recurrent neuropathic and neuroischemic diabetic foot ulcers / E.B. Jude // Wound Repair Regen.– 2001.– 9(5).– P. 353–59.

25. Connexin levels regulate keratinocyte differentiation in epidermis / S. Langlois [et al.] // J. biological chemistry.– 2007.– 282(41).– P. 30171–80.

26. The proliferative capacity of neonatal skin fibroblasts is reduced after exposure to venous ulcer wound fluid: A potential mechanism for senescence in venous ulcers / M.V. Mendez [et al.] // J. Vasc. Surg.– 1998.– 30(4).– p. 734–743.

27. Mesëe, G. Gap Junctions: basic structure and function / G. Mesëe, G. Richard, T. W. White // Journal of Investigative Dermatology.– 2007.– 127.– P. 2516–2524.

28. Moore, K. T– lymphocytes and the lack of activated macrophages in wound margin biopsies from chronic leg ulcers / K. Moore, F. Ruge , K.G.Harding // Br. J. Dermatol.– 1997.– 137(2).– P. 188–94.

29. Ornitz, D.M. Fibroblast growth factors / D.M. Ornitz, N. Itoh // Biology.– 2001.– 2(3).– P. 3005.1–3005.12.

30. Raffetto, J.D. Changes in cellular motility and cytoskeletal actin in fibroblasts from patients with chronic venous insufficiency and in neonatal fibroblasts in the presence of chronic wound fluid / J.D. Raffetto // J. Vasc. Surg.– 2001.– 33(6).– P. 1233–1241.

31. Schultz, G.S. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. / G.S. Schultz, R.G., Sibbald, V. Falanga, E. A. Ayello // Wound Rep.reg.– 2003.– 11.– P.1–28.

32. Slavin, J. The role of cytokines in wound healing / J. Slavin // J. Pathol. 1996.– 178(1).– P.5–10.

33. Richard, G. Connexins: a connection with the skin / G. Richard // Exp. Dermatol.– 2000.– 9.– P. 77–96.

34. Abnormal connexin expression underlies delayed wound healing in diabetic skin C.M. Wang [et al] // Diabetes.– 2007.– Vol. 56.– p. 2809–2817.

35. Wei, C.J. Connexins and cell signaling in development and disease / C.J. Wei, X. Xu., C.W. Lo // Annu. Rev. Cell Dev. Biol.– 2004.– 20.– P. 811–838.

36. Fibroblast Growth Factors: Biology, Function, and Application for Tissue Regeneration Ye-Rang Yun [et al.] // J. of tissue Engineering.– 2010.– Vol 18.– P. 1–18.

PROCESS IN PATIENTS WITH THE DIABETES MELLITUS.

Yu.S. VINNIK, A.B. SALMINA, A.I. DROBUSHEVSKAYA, O.V. TEPLAKOVA, L.A.SHESTAKOVA, A.K.KIRICHENKO

Krasnoyarsk State Medical University named in honour of professor V.F.Vojno-Yasenetskiy

In the review are presented modern molecular process of neogenesis acute purulent and chronic healing wounds in patients with diabetes mellitus. Efficiency and influence of medical ozone on treatment of an infection of a skin and soft tissues patients with diabetes mellitus are surveyed.

Key words: Ozonotherapy, chronic wounds, connexins, fibroblasts, fibroblast growth factors.

УДК 612.111.4:615.9:547.412.4:615.849.19:577.352.38]-092.9

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ И ИХ КОРРЕКЦИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ДИХЛОРЕТАНОМ

Д.В. СРУБИЛИН, Д.А.ЕНИКЕЕВ, И.ДИСАКОВ*

Цель работы состояла в исследовании интенсивности перекисного окисления липидов и состоянии мембран эритроцитов при интоксикации дихлорэтаном до и после коррекции лазерным излучением. Эксперименты проведены на крысах-самцах, у которых моделировали субхроническую интоксикацию путем внутрижелудочного введения дихлорэтанола в дозе 0,01 LD₅₀ в течение 60 суток. Использовали импульсное низкоинтенсивное лазерное излучение аппаратом АЛТ «Матрикс» на область проекции печени и хвостовой вены. При многократном введении дихлорэтанола происходило накопление продуктов перекисного окисления липидов, снижалась активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и содержание глутатона, нарушалось соотношение холестерин / фосфолипиды, вызывая понижение проницаемости и сорбционных свойств эритроцитарных мембран. Использование низкоинтенсивного лазерного излучения уменьшало содержание продуктов перекисного окисления липидов, нормализовало показатели антиоксидантной системы и проницаемость мембран эритроцитов. Данные эксперимента дают основание считать, что использование при интоксикации дихлорэтаном низкоинтенсивного лазерного излучения патогенетически обосновано.

Ключевые слова: дихлорэтан, мембрана, перекисное окисление липидов, лазерное излучение.

Хлорированные углеводороды, в частности *дихлорэтан* (ДХЭ), являются одними из наиболее токсичных веществ, широко используемые в быту и промышленности. Обмен ДХЭ происходит по схеме летального синтеза с образованием более токсичных продуктов, которые в основном фиксируются в тканях богатых липидами [7]. При сохраняющейся высокой летальности от острых интоксикаций ДХЭ, основную массу составляют патологические состояния, наблюдаемые при длительном поступлении токсиканта в организм, когда явной клинической симптоматики может и не возникнуть. Патогенетические изменения, нарушающие гомеостаз происходящие в эти сроки, изучены далеко не полно. Одним из важных патогенетических факторов в данном аспекте выступает активация процессов свободнорадикального окисления. *Свободнорадикальное окисление* (СРО), являясь одним из общих типовых механизмов дезорганизации плазматических мембран, играет роль триггерного механизма, обеспечивающего доступность липидно-белковых комплексов мембраны соответственно для фосфолипаз и протеаз [1,12].

В настоящее время уделяется большое внимание изучению структурно-метаболического и функционального статуса эритроцитов, являющихся «клеточным дозиметром» действия факультативных и облигатных экзо- и эндогенных факторов, выступающих причиной различных заболеваний. Известно, что существует связь между изменениями свойств клеточных мембран внутренних органов и мембраной эритроцитов, которой присущи общие принципы строения и функционирования биологических мембран всего организма, а отсутствие органоидов делает ее удобной моделью для изучения влияния различных повреждающих факторов непосредственно на клетку. Поэтому можно использовать мембраны эритроцитов в качестве естественной модели для исследования общих характеристик всех биологических мембран [3,9,16].

В рамках проблемы коррекции при хронической интоксикации ДХЭ остаются нерешенные научно-практические вопросы. Определенный интерес представляет метод лазерной терапии с

* ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, ул. Ленина, 3, г.Уфа, 450000

использованием низкоэнергетических источников облучения. Лазерная терапия – высокоэффективный метод лечения, который вот уже более 30 лет успешно развивается как вполне самостоятельное направление современной медицины [8]. В основе эффекта *низкоинтенсивного лазерного излучения* (НИЛИ) лежит комплексное неспецифическое действие на организм, когда местные изменения вызывают смену уровня функционирования биосистем за счет формирования защитно-адаптивной реакции. Несмотря на широкое применение НИЛИ, многое в механизмах его действия остается неясным.

Цель исследования – изучение интенсивности перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и состояния мембран эритроцитов у крыс при субхронической интоксикации ДХЭ до и после коррекции лазерным излучением.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 36 здоровых половозрелых неинбредных белых крысах-самцах массой 180-220 г, разделенных на 3 группы: 1 – контрольная (n=11), 2 – животные с моделированной интоксикацией дихлорэтаном (n=13), 3 – животные, получавшие ДХЭ и НИЛИ (n=12). Эксперименты проводились в соответствии с требованиями приказов №1179 МЗ СССР от 10.10.83 г., № 267 МЗ РФ от 19.06.03 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Правила по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных».

Субхроническая интоксикация дихлорэтаном достигалась ежедневным энтеральным введением токсиканта в дозе 5 мг/кг (0,01 LD₅₀) в течение 60 суток. Опытная группа крыс получала курс сочетанного воздействия импульсного НИЛИ с длиной волны 0,63 и 0,89 мкм. Использовался аппарат АЛТ «Матрикс» с зеркальной насадкой для воздействия в области печени контактной методикой (0,89 мкм, импульсная мощность 7 Вт, частота 80 Гц, доза – 0,01 Дж/см²) и акупунктурной насадкой для надвенозного облучения крови в области хвостовой вены (0,63 мкм, импульсная мощность 5 Вт, частота 80 Гц, доза 0,012 Дж/см²). Курс лазеротерапии начинали с 4 недели и продолжали 14 дней. Объектом исследования служили эритроциты и плазма крови. Тестирование осуществляли на 15, 30 и 60 сутки.

Состояние *перекисного окисления липидов* (ПОЛ) оценивали по концентрации диеновых конъюгатов и малонового альдегида. Содержание *диеновых конъюгатов* (ДК) определяли методом прямой спектрофотометрии. Принцип метода заключается в выделении нативных жирных кислот путем экстракции смесью равных объемов гептана и изопропанола с последующим измерением оптической плотности проб гептановой фазы липидного экстракта. Поглощение при длине волны 232 нм отражает содержание диеновых конъюгатов [2]. Для определения *малонового диальдегида* (МДА) использовали метод M.Mihara, заключающийся в образовании окрашенного комплекса при взаимодействии продуктов ПОЛ с тиобарбитуровой кислотой, с помощью стандартного набора фирмы Агат-Мед (Россия).

Одновременно с процессами ПОЛ регистрировали активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [15], определяли содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах, учитывая его способность реагировать с избытком аллоксана с образованием соединения, имеющего максимум поглощения при длине волны 305 нм [11], а также исследовали общую антиоксидентную активность плазмы крови по величине торможения перекисления суспензии желточных липопroteидов [5].

Проницаемость мембран исследовали, определяя степень мочевинового гемолиза эритроцитов по методу, предложенному В.Н. Колмаковым [14]. Для определения *проницаемости эритроцитарных мембран* (ПЭМ) 100 мкл взвеси эритроцитов добавляли в 7 пробирок, содержащих по 5 мл рабочих смесей 1,8% раствора мочевины и физиологического раствора в следующих соотношениях: 1-ая пробирка (ПЭМ1) – 40:60, 2-ая (ПЭМ2) – 45:55, 3-ая (ПЭМ3) – 50:50, 4-ая (ПЭМ4) 55:45, 5-ая (ПЭМ5) 60:40, 6-я (ПЭМ6) 65:35, 7-ая (ПЭМ7) содержала чистый раствор мочевины – эталон 100% гемолиза. После инкубации в течение 3 минут при комнатной температуре и центрифугирования определяли осмотическую стойкость всех растворов при λ=400 нм, пересчитывая этот показатель в процентах от эталона. *Сорбционную емкость эритроцитов* (СЕЭ) оценивали по интенсивности сорбции мембраной эритроцитов метиленового синего, изменение количества, которого регистрировали при длине волны 630 нм [6]. Для определения фосфолипидов использовали их способность образовывать гидрофобные комплексы с ферроцианидом аммония [10].

Холестерин определяли по реакции с хлорным железом после экстракции изопропанолом [13].

Обработку полученных результатов проводили с применением методов вариационной статистики. После проверки нормальности распределения изучаемых параметров в сравниваемых группах определяли средние величины (M), ошибку средних величин (m). Оценку достоверности проводили по критерию Стьюдента (t). Минимальный уровень статистической значимости различий верифицировали при p<0,05. Математическую обработку выполняли на компьютере с применением программного обеспечения Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. Результаты наших исследований представлены в табл. 1, из которой видно, что ДХЭ, введенный по указанной схеме, повышает активность свободнорадикального окисления. Уровень ДК к 60 суткам эксперимента увеличивается на 87,9% (p<0,001), а МДА на 51,1% (p<0,001) от контрольных значений. В системе неферментативного звена антиоксидантной защиты клетки важная роль принадлежит восстановленному глутатиону. Соотношение окисленных и восстановленных форм глутатиона зависит от скорости реакций пентозного цикла, ключевым ферментом которого является *глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа* (Г6ФДГ). В проведенном исследовании к 60 суткам установлено снижение активности Г6ФДГ на 15,6% (p<0,001), а также содержание восстановленного глутатиона на 32,1% (p<0,01). Глутатион участвует как в индуцированной глутатионпероксидазной реакции, так и в поддержании в восстановленном состоянии сульфгидрильных групп белковых молекул, редокс-статуса клетки в целом. Выявленные изменения со стороны глутатион опосредованной детоксикации значительно снижают резистентность клеток к цитоповеждающему действию продуктов ПОЛ, свободных радикалов.

Таблица 1

Влияние НИЛИ на ПОЛ, на активность антиоксидентной системы и содержание общих фосфолипидов и холестерина в крови крыс при субхронической интоксикации дихлорэтаном

Показатель	Статистические показатели	Животные 1-й группы (n=11)	Животные 2-й группы (n=13)	Животные 3-й группы (n=12)
ДК, (λ=232нм) усл. ед. на 1мл крови	M±m p* p**	1,81±0,06	3,42±0,21 <0,001	2,19±0,16 <0,05 <0,001
МДА, мкмоль на литр	M±m p* p**	3,13 ±0,11	4,73±0,28 <0,001	3,47±0,33 >0,05 <0,05
Г6ФДГ, нмоль в мин на 1мг гемоглобина	M±m p* p**	14,52±0,42	12,26±0,41 <0,001	15,71±0,43 >0,05 <0,001
Глутатион восстановленный, мг-%	M±m p* p**	78,32±5,12	53,15±3,13 <0,01	72,14±4,23 >0,05 <0,01
Антиоксидентная активность%	M±m p* p**	23,41±3,75	53,33±5,21 <0,001	59,29±4,55 <0,001 >0,05
Общие ФЛ, мг/100 мл эритроцитарной массы	M±m p* p**	308,29±4,23	299,21±5,12 >0,05	335,24±6,32 <0,01 <0,001
Общий холестерин мг на 100 мл эритроцитарной массы	M±m p* p**	142,25±3,42	231,31±4,75 <0,001	199,64±6,13 <0,001 <0,01
ХС/ФЛ, коэффициент	M±m p* p**	0,46±0,02	0,77±0,03 <0,001	0,59±0,03 <0,01 <0,001

Примечание: p* – достоверность по сравнению с первой группой; p** – достоверность 3 группы по сравнению со 2

Избыточное образование свободных радикалов, накопление первичных и вторичных продуктов липидной перекисидации ослабляет гидрофобные связи клеточных мембран. Понижение гидрофобности мембран клеток связано с увеличением содержания гидрофильных углеводородных хвостов, что, в свою очередь, ведет к вытеснению последних из толщи мембраны к ее поверхности и вызывает появление в мембране своеобразных пор. На следующем этапе исследовали проницаемость эритроцитарных мембран для мочевины. Как показали проведенные исследования, представленные в табл. 2, во всех растворах мочевины наблюдались достоверные различия между группами животных. Полученные результаты свидетельствуют о том, что эритроциты крыс на 15 сутки интоксикации ДХЭ характеризуются меньшей резистентностью к гемолитическому воздействию мочевины и повышенной проницаемостью. Существенные различия показателей выявлены в III, IV, V разведениях мочевины. На 30 сутки интоксикации ДХЭ проницаемость эритроцитарных мембран досто-

верно ниже нормы. По мере углубления тяжести интоксикации на 60 сутки эксперимента наблюдается дальнейшее снижение ПЭМ в III, IV, V и VI разведениях мочевины, что свидетельствует о глубоких структурных изменениях клеточных мембран – барьеру от их высокой проницаемости к патологическому уплотнению.

Таблица 2

Проницаемость мембран и сорбционная емкость эритроцитов у крыс при субхронической интоксикации дихлорэтаном

Показатель	Статистические показатели	Животные 1-й группы (n=12)	Длительность интоксикации дихлорэтаном у животных 2-й группы (n=12)		
			15 суток	30 суток	60 суток
СЕЭ, %	M±m P	57,5±1,5	66,7±2,7 <0,05	57,9±2,1 >0,05	49,0±1,9 <0,01
ПЭМ 1, %	M±m P	3,1±0,1	3,3±0,2 >0,05	0,8±0,1 <0,001	1,3±0,2 <0,001
ПЭМ 2, %	M±m P	3,9±0,2	4,5±0,2 >0,05	1,1±0,1 <0,001	1,8±0,1 <0,001
ПЭМ 3, %	M±m P	7,6±0,5	10,3±0,7 <0,01	2,8±0,4 <0,001	4,6±0,2 <0,01
ПЭМ 4, %	M±m P	15,4±1,9	28,1±3,2 <0,01	10,1±1,6 >0,05	6,5±0,4 <0,001
ПЭМ 5, %	M±m P	50,6±4,2	73,2±4,5 <0,01	35,6±2,7 <0,05	23,3±3,3 <0,001
ПЭМ 6, %	M±m P	83,3±1,1	93,1±1,4 <0,001	66,2±2,3 <0,001	56,1±2,1 <0,001
ПЭМ 7, %	M±m	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0

Примечание: p – достоверность 2 группы по сравнению с первой

Такие изменения этого показателя объясняются, по-видимому, интенсификацией свободнорадикального окисления. Поскольку основным субстратом ПОЛ являются *полиненасыщенные жирные кислоты* (ПНЖК), вследствие продолжительного периода ПОЛ происходит нарушения в соотношении холестерина / фосфолипиды. При субхронической интоксикации ДХЭ на 60 сутки эксперимента в эритроцитах возрастает содержание *холестерина* (ХС) и незначительно снижается количество общих *фосфолипидов* (ФЛ). Содержание холестерина в мембранах эритроцитов увеличивается на 62,7% (p<0,001), а степень снижения общих фосфолипидов составила 3,1% по сравнению с данными контрольной группы. Значение коэффициента ХС/ФЛ при интоксикации ДХЭ возрастает на 67,4% (p<0,001) по сравнению с группой интактных животных. Повышение содержания холестерина в мембранных липидах приводит к увеличению вязкости мембранного бислоя путем ограничения подвижности жирнокислотных цепей в связи с его кластеризацией, а также повышает степень упаковки фосфолипидов. Все это ведет к уплотнению мембраны. Кроме того, малоновый диальдегид обладает способностью связывать липиды и белки мембран клеток, снижая тем самым ПЭМ [14].

В проведенном исследовании на 60 сутки интоксикации ДХЭ, на фоне стимуляции процессов ПОЛ, количество фосфолипидов практически не снизилось. Данные результаты можно объяснить тем, что изменение липидного состава тесно взаимосвязано с изменением *антиокислительной активности* (АОА) [4]. АОА плазмы крови обусловлена наличием в ней антиокислителей, ферментных систем обезвреживания перекисей и свободных радикалов, SH соединений, стероидных гормонов, токоферола, церулоплазмينا, трансферина и др. [5]. Полученные данные свидетельствуют об увеличении антиокислительной активности плазмы крови крыс при интоксикации ДХЭ на 29,8% (p<0,001) по сравнению с контролем. При повышении антиокислительной активности липиды обогащаются легкоокисляемыми фракциями, что является одним из механизмов регуляции процессов ПОЛ. Полученные результаты о содержании ДК, фосфолипидов и антиокислительной активности свидетельствуют о нарушении регуляции стационарности режима ПОЛ.

Интересным является факт различия в динамике СЕЭ в зависимости от длительности интоксикации ДХЭ. Данные о СЕЭ у крыс при субхронической интоксикации ДХЭ представлены в табл. 2. При этом обнаружены разнонаправленные изменения СЕЭ, обусловленные, очевидно, различным функциональным состоянием клеточных мембран. На 15 сутки интоксикации ДХЭ сорбционная емкость эритроцитов повышается на 16,1% (p<0,05). При углублении интоксикации к 60 суткам эксперимента наблюдается снижение СЕЭ на 14,8% (p<0,05) от контрольных значений. Данные результаты объясняются повышением процессов ПОЛ и изменениями в липидном спектре эритроцитарной мембраны. Это приводит к некоторой потере периферических низкомолекулярных

мембранных белков и относительно повышению количества гликопротеидов, что, по-видимому, и повышает сорбционную емкость эритроцитов. При достижении некоторого критического уровня белково-липидного соотношения в эритроцитарной мембране происходит уже потеря частично интегрированных белков, что приводит к снижению общей сорбционной емкости эритроцитов [3]. Известно, что нормальный физиологический ответ клетки на интоксикацию вызывает компенсаторное повышение сорбционных свойств клеточных мембран, а при увеличении токсической нагрузки на клеточную мембрану СЕЭ снижается [6].

Таким образом, полученные нами данные позволяют считать, что клеточные мембраны при субхронической интоксикации ДХЭ претерпевают изменения. В результате структурных нарушений мембран клеток могут изменяться их функциональные свойства, что, в конечном счете, может привести к значительным метаболическим расстройствам. Выявленные нарушения клеточных мембран являются важным звеном в патогенезе токсического действия ДХЭ.

В основе клинического эффекта НИЛИ лежит ее способность стимулировать разнообразные процессы защиты, адаптации, компенсации и репарации, т.е. механизмы саногенеза. Электромагнитная природа НИЛИ предполагает возможность его взаимодействия с множеством регуляторных механизмов в живых системах. Важнейшей регуляторной системой организма является система свободнорадикальных процессов, с которой связаны многие биологические явления, в том числе механизмы регуляции мембранной проницаемости. Курсовое применение НИЛИ, проведенное у животных 3-й экспериментальной группы, оказало антиоксидантный, противоперекисный и мембраностабилизирующий эффекты. Уровень ДК уменьшился на 36,0% (p<0,001) и МДА на 26,6% (p<0,05) по сравнению с данными 2 группы. Важно отметить статистически достоверную тенденцию к нормализации содержания восстановленного глутатиона и активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы после проведения курса НИЛИ. Г6ФДГ является ключевым ферментом пентозного цикла, в ходе которого генерируется НАДФН. Данное соединение предохраняет ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав клеточной мембраны, от аномальных взаимодействий с кислородом, поддерживает нормальную степень окисления атомов железа гемоглобина, является субстратом для глутатионредуктазы.

Результаты исследования, представленные на рисунке, демонстрируют достоверное увеличение проницаемости мембран эритроцитов в IV, V и VI разведениях мочевины у животных, получавших в качестве коррекции НИЛИ, по сравнению с животными 2 группы. Улучшение проницаемости мембран под действием лазерного излучения связано с изменениями в их липидном составе, которые характеризуются уменьшением содержания общего холестерина в мембранах, при этом содержания общих фосфолипидов возрастает. Показатель коэффициента ХС/ФЛ, во многом определяющий структуру и функцию мембран, приближается к контрольным значениям. Нормализация СЕЭ у животных 3 группы может свидетельствовать об очищении мембран от фиксированных на их поверхности токсических веществ.

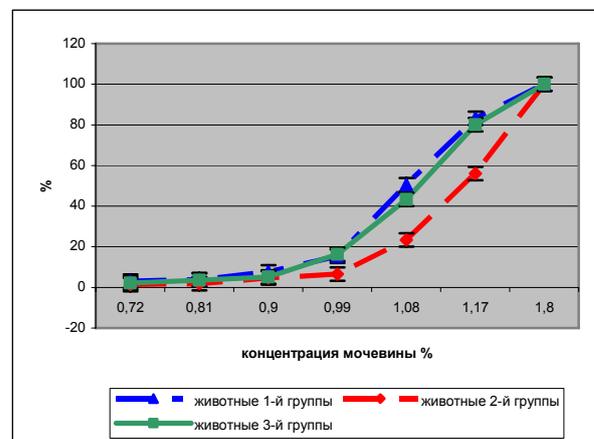


Рис. Сравнение величин ПЭМ у крыс на 60 сутки интоксикации ДХЭ

Таким образом, НИЛИ оказывает упорядочивающее воз-

действие на жидкокристаллическую структуру липидного бислоя, которая накладывает ограничения на протекание процессов ПОЛ. Мембрана обогащается фракциями фосфолипидов с более низкой температурой фазового перехода, благодаря чему повышается ее антиокислительная активность. В этой связи следует отметить, что, воздействуя низкоинтенсивным лазерным излучением, мы не вносим в организм ничего чужеродного, а лишь корректируем систему саморегулирования и поддержания гомеостаза. Действие НИЛИ на процессы, происходящие в организме, может не проявляться на фоне оптимального функционирования физиологической или биохимической системы, но может быть выражено при сдвигах функционального состояния этих систем.

Выводы:

1. При субхронической интоксикации ДХЭ происходит накопление продуктов ПОЛ, снижается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и содержание глутатиона, нарушается соотношение холестерина / фосфолипиды, вызывая понижение проницаемости и сорбционных свойств эритроцитарных мембран.

2. Использование курса лазеротерапии уменьшает содержание продуктов ПОЛ, нормализует показатели антиоксидантной системы, а также проницаемость и сорбционную емкость мембран эритроцитов. Данные эксперимента дают основание считать, что использование при интоксикации ДХЭ НИЛИ патогенетически обосновано.

Литература

1. Владимирова, Ю.А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов / Ю.А. Владимирова // Патол. физиология и эксперим. терапия.– 1989.– № 4.– С. 7–19.
2. Волчегорский, И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И.А. Волчегорский, А.Г.Нахимов, Б.Г. Яровинский, Р.И. Лифшиц // Вопросы медицинской химии.– 1989.– № 1.– С. 127–130.
3. Гаврилюк, В.П. Структурно-функциональные нарушения эритроцитов и их коррекция у больных с легкими и тяжелым течением острого панкреатита / В.П. Гаврилюк, П.М. Назаренко, А.И. Конопля // Курский научно-практический вестник “Человек и его здоровье”.– 2007.– № 3.– С. 29–36.
4. Дудник, Л.Б. Перекисное окисление липидов и его связь с изменением состава и антиокислительных свойств липидов при коматогенных формах острого вирусного гепатита В / Л.Б. Дудник, Л.М.Виксна, А.Я. Майоре // Вопросы медицинской химии.– 2000.– Т.46.– № 6.– С. 597–609.
5. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротендов / Г.И. Клебанов [и др.] // Лаб. дело.– 1988.– № 5.– С. 59–62.
6. Копытова, Т.В. Исследование сорбционной емкости мембран эритроцитов для оценки характера эндогенной интоксикации при дерматозах / Т.В. Копытова // Клиническая лабораторная диагностика.– 2006.– № 1.– С. 18–19.
7. Меркулов, В.И. Дихлорэтан. Токсические свойства и отравления / В.И. Меркулов.– М., 1986.– 19 с.
8. Москвин, С.В. Эффективность лазерной терапии / С.В. Москвин.– М.: НИПЦ «Техника», 2003.– 254 с.
9. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы / В.В. Новицкий [и др.] // Бюллетень сибирской медицины.– 2006.– № 2.– С. 62–69.
10. Пентюк, А.А. Определение фосфолипидов по образованию гидрофобного комплекса с ферротрицианатом аммония / А.А. Пентюк, В.И. Гуцол, О.А. Яковлева // Лаб. дело.– 1987.– № 6.– С. 457–459.
11. Путилина, Е.Ф. Определение восстановленного глутатиона в тканях / Е.Ф. Путилина // В сб.: Методы биохимических исследований.– Л.: Медицина, 1982.– С. 183–186.
12. Рязанцева, Н.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Успехи физиологических наук.– 2004.– Т.35.– № 1.– С. 53–65.
13. Сентебова, Н.А. Предложение по унификации методов определения свободного и этерифицированного холестерина в сыворотке крови / Н.А. Сентебова // Лаб. дело.– 1976.– № 6.– С. 375–380.
14. Субботина, Т. Н. Перекисное окисление липидов и

проницаемость мембран эритроцитов у детей и подростков с сахарным диабетом типа 1 / Т.Н. Субботина, Н.М. Титова, А.А. Савченко // Клиническая лабораторная диагностика.– 2004.– № 5.– С. 33–35.

15. Glock, G. Further studies on the properties and assay of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver / G. Glock, P. McLean // Biochem.– 1953.– Vol.55, № 3.– P. 400–408.

16. Kamani, G. HPLC determination of cefazolin in plasma, urine and dialysis fluid / G. Kamani, C.L. Low, T.T.H. Valerie, W.K. Chui // Pharm. Pharmacol.– 1998.– № 50.– P. 118.

THE STRUCTURAL-FUNCTIONAL DAMAGES OF ERYTHROCYTES AND THEIR CORRECTION BY LOW INTENSIVE LASER RADIATION IN SUBCHRONIC INTOXICATION WITH DICHLORETHANE

D.V. SRUBILIN, D.A. ENIKHEYEV, I.D. ISAKOV

Bashkirian State Medical University

The purpose of this investigation was to study intensity of lipid peroxidation (LPO) and state of erythrocyte membranes intoxicated with dichlorethane (DCE) before and after correction by laser radiation. Experimentally, male rats were used to model subchronic intoxication by intragastric administration of DCE at a dose of 0,01 LD₅₀ for 60 days. Impulse low intensive laser radiation (LILR) was applied on the projected site of the liver and tail vein using the “Matrix” device. With repeated DCE administration, accumulation of LPO products occurred. There was a reduction in gluco-6-phosphate dehydrogenase activity and glutation content. Cholesterol/phospholipids correlation was damaged. This caused a decrease in permeability and sorption characteristics of erythrocyte membranes. LILR application reduced the content of LPO products. Antioxidant system indicators and erythrocyte membrane permeability were within normal limits. Experimental data obtained allow to conclude that with DCE intoxication, the use of LILR is based on pathogenetic grounds.

Key words: dichlorethane, membrane, lipid peroxidation, laser radiation.

УДК 796:615.272.4

ВЛИЯНИЕ ДИОСМИНА НА СКОРОСТЬ ВОССТАНОВЛЕНИЯ РАБОТОСПОСОБНОСТИ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЙ СТАТУС ЖИВОТНЫХ НА ФОНЕ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ НАГРУЗОК.

А.В. ВОРОНКОВ, И.Н. ТЮРЕНКОВ, А.А. СЛИЕЦАНС, Н.А. МУРАВЬЕВА*

Для изучения влияния диосмина в дозе 100 мг/кг per os на работоспособность и переносимость интенсивной физической и психоэмоциональной нагрузки были сформированы 3 группы животных: 1) животные, подвергавшиеся интенсивной физической нагрузке, получавшие диосмин; 2) животные, подвергавшиеся интенсивной физической нагрузке, не получавшие вещества; 3) животные, не подвергавшиеся интенсивной физической нагрузке. Интенсивную физическую нагрузку моделировали плаванием мышей с грузом, равным 15% от массы тела животного в течение 7 дней. Физическую работоспособность оценивали по длительности плавания, поведенческую активность – по результатам теста «открытое поле». Применение диосмина сохраняло работоспособность и восстанавливало поведенческие реакции животных на фоне интенсивной физической и психоэмоциональной нагрузки по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: физическая нагрузка, психоэмоциональная нагрузка, работоспособность, флавоноиды, диосмин.

Высококвалифицированные спортсмены в процессе тренировочной и соревновательной деятельности испытывают интенсивные физические и психоэмоциональные нагрузки, превышающие адаптационные возможности организма и приводящие к функциональным нарушениям в организме спортсменов с последующим развитием утомления и снижением спортивных результатов [4,7]. Одну из этиологически значимых ролей в формировании дезадаптации и развитии переутомления играет активация свободнорадикальных процессов и ослабление антиоксидантной защиты организма. Учитывая значение окислительного стресса в развитии дезадаптации при интенсивных физических и психоэмоциональных перегрузках, целесообразно предположить, что перспективным подходом для коррекции функциональных нарушений, ассоциированных с переутомлением, является применение

* Волгоградский государственный медицинский университет, ул. Пугачевская, 3, Волгоград