

9. Золотокрылина Е.С. Постреанимационная болезнь // Анест. и реан.- 2000.- №6.- С. 51-56.
 10. Лукьянова Л.Д. Сигнальная функция митохондрий при гипоксии и адаптации // Патогенез.- 2008.- №3.- с.4-12.
 11. Шлаин Б.И., Булеза И.М. Проведение операций на лёгких при массивных и сверхмассивных кровопотерях // Український пульмонологічний журнал.- 2005.- №3.- С.44-47.
 12. Hernan M.A., Alonso A., Hernández-Díaz S. Tetanus vaccination and risk of multiple sclerosis // Neurology.- 2006; 67: p.212-215.

УДК: 616.381-002-089.168.1-06-085.27:615.849.19]-092.9

© Д.В. Срубилін, Д.А. Еникеев, В.А. Мышкин, М.А. Исакова, И.Д. Исаков, Л.Т. Идрисова, Д.М. Галимов, 2009

Д.В. Срубилін², Д.А. Еникеев², В.А. Мышкин¹, М.А. Исакова,
 И.Д. Исаков, Л.Т. Идрисова, Д.М. Галимов.

ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

² ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Росздрава, г. Уфа

¹ ФГУН Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека федеральной службы по надзору в
 среде защиты прав и благополучия человека, г. Уфа

Цель исследования – оценить влияние раздельного и комбинированного применения низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и комплексного соединения 5-окси-6-метилурацила с янтарной кислотой на состояние мембран эритроцитов при экспериментальном перитоните.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на крысах – самцах, у которых моделировали перитонит путем внутрибрюшинного введения каловой взвеси. В эксперименте оценивали устойчивость эритроцитов к гемолитическому действию соляной кислоты.

Результаты. При развитии воспалительного процесса в брюшной полости устойчивость эритроцитов к гемолитическому действию соляной кислоты прогрессивно снижается. НИЛИ имеет недостаточно выраженный мембранопротекторный эффект. Комплекс 5-окси-6-метилурацила с янтарной кислотой, примененный в режиме монотерапии, повышает кислотную резистентность эритроцитов. При применении комбинированной терапии отмечается наиболее мощный мембранопротекторный эффект.

Заключение. Данные эксперимента дают основание считать, что использование при перитоните комплекса янтарной кислоты с 5-окси-6-метилурацилом и НИЛИ патогенетически обосновано.

Ключевые слова: перитонит, низкоинтенсивное лазерное излучение, янтарная кислота, производные пиридина, эритроцит, мембрана.

D.V. Srubilin, D.A. Enikeev, V.A. Myshkin, M.A. Isakova, I.D. Isakov, L.T. Idrisova, D.M. Galimov
**INFLUENCE OF ANTIOXIDANTS AND LASER THERAPY ON THE CONDITION OF
 ERYTHROCYTIC MEMBRANES IN EXPERIMENTAL PERITONITIS**

Objective: to evaluate the influence of separate and combined application of low intensive laser radiation (LILR) and a complex compound of 5-hydroxy-6-methyluracil and succinic acid on the state of erythrocytic membranes in experimental peritonitis.

Materials and methods. Experiments were carried out on male rats in which peritonitis was simulated via intraperitoneal administration of fecal suspension. Erythrocytic stability to the action of hydrochloric acid was experimentally evaluated.

Results. With the development of an abdominal inflammatory process in the abdominal cavity, erythrocytic stability to the action of hydrochloric acid is progressively reduced. LILR has an insufficiently expressed membrane protection effect. The complex compound comprising 5-hydroxy-6-methyluracil and succinic acid used as monotherapy, raises acid erythrocytic stability. With combined therapy, the most powerful membrane protection effect is noted.

Conclusion. The experimental data suggest that the use of the complex compound containing succinic acid, 5-hydroxy-6-methyluracil and LILR is pathogenetically grounded.

Key words: peritonitis, low intensive laser radiation, succinic acid, pyrimidine derivatives, erythrocyte, a membrane.

Актуальной проблемой хирургии является оптимизация методов послеоперационной интенсивной терапии распространенного перитонита. Летальность при данной патологии достигает 24-30%, а при присоединении полиорганной недостаточности – 80%. Ведущими патогенетическими факторами являются нарушение микроциркуляции, эндотоксикоз, вторичный иммунодефицит и гипоксия [12].

В последнее время все больше внимания уделяется синдрому эндогенной интоксикации, выступающему в качестве ведущего звена в патогенезе многих заболеваний, в основе которых ле-

жит воспалительно-деструктивный процесс. В ряде исследований показана тесная взаимосвязь между прогрессированием синдрома эндогенной интоксикации и интенсификацией процессов перекисного окисления липидов, которые, наряду с активацией мембранных фосфолипаз, ведут к дестабилизации клеточной мембраны вследствие перестройки ее липидного бислоя. Состояние клеточных мембран может отражать степень эндотоксикоза как показатель суммарного влияния всех мембраноповреждающих факторов на клетку [4,11]. Именно нарушение структуры и функции мембран обуславливают все основные патофизиоло-

логические и клинические проявления эндотоксикоза. Следует отметить, что эндотоксикоз - это синдром, характеризующийся повреждением клеточных структур, который может прогрессировать и без высокого содержания токсичных субстратов [4]. В работах многих авторов установлена тесная корреляция между изменениями свойств мембран эритроцитов и клеточных мембран внутренних органов. Поэтому можно использовать эритроцитарные мембраны в качестве естественной модели для исследования общих характеристик всех биологических мембран [7,9].

Несмотря на успехи, достигнутые в лечении заболеваний органов брюшной полости, частота развития неблагоприятных исходов остается высокой. Многофакторность и поликомпонентность развития патофизиологических расстройств в организме и возникающие сложные морфофункциональные изменения со стороны отдельных органов и систем создают ряд трудностей в лечении перитонита [2,13]. В рамках проблемы эффективного лечения перитонита остается большое количество нерешенных научно-практических вопросов. В частности, не в полной мере изучены влияние и пути реализации таких перспективных на сегодняшний день направлений, как использование низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и антиоксидантной, антигипоксикантной терапии. Поэтому целью работы явилось изучение влияния раздельного и комбинированного применения лазерного излучения и комплекса янтарной кислоты (ЯК) с 5-окси-6-метилурацилом на состояние мембран эритроцитов при экспериментальном перитоните.

Материалы и методы

Работа выполнена на 31 крысе-самце массой 200-250 грамм. 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» и «Правила по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных».

За основу приняли модель перитонита, изложенную в работе [10], в нашей модификации. Экспериментальный перитонит воспроизводили у крыс путем внутрибрюшинного введения 7% каловой взвеси в дозе 0,6 мл на 100 г. массы. В течение эксперимента все группы животных при остром перитоните получали подкожно физиологический раствор в суточной дозе 40 мл/кг. Животные второй группы также получали 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 0,12 Дж/см²). В третьей группе дополнительно для фармакологической коррекции применяли комплексное соединение

янтарной кислоты с 5-окси-6-метилурацилом, синтезированное Институтом органической химии РАН (д.х.н. В.П. Кривоногов). Антиоксидант вводили внутрибрюшинно в режиме монотерапии в дозе 50 мг/кг ежедневно с интервалом 12 часов. В четвертой экспериментальной группе животные получали комбинированную терапию, включающую лазерное излучение и комплекс янтарной кислоты с 5-окси-6-метилурацилом. Тестирование осуществляли на 1-, 2-, 3- и 4-е сутки.

Состояние мембран эритроцитов оценивали по их стойкости к гемолитическому действию соляной кислоты. Для этого применяли метод кислотных эритрограмм, предложенный Гительзоном Н.Н. и Терсковым И.А. [3]. Суть метода заключается в следующем: 20 мкл крови из хвостовой вены крысы разбавлялось в физиологическом растворе до установления стандартной концентрации эритроцитов на спектрофотометре (оптическая плотность 0,7). К 1 мл эритроцитарной взвеси в термостатической кювете добавляли 1 мл 0,004 Н соляной кислоты, приготовленной на физиологическом растворе. Регистрация уменьшения оптической плотности проводилась при длине волны 650 нм каждые 30 секунд до установления стабильных показателей. Температура поддерживалась термостатом 24°С.

$$\% \text{Э}_1 \times t_1 + \% \text{Э}_2 \times t_2 + \dots + \% \text{Э}_k \times t_k$$

$$\% \text{Э}_{n1} \times t_{n1} + \% \text{Э}_{n2} \times t_{n2} + \dots + \% \text{Э}_k \times t_{nk}$$

Вычислялся индекс стойкости эритроцитов (I) по формуле, где:
% Э_n × t_n - произведение процента гемолизированных эритроцитов данной группы на время гемолиза, определяющее стойкость этой группы в нормальной крови;
% Э × t - произведение процента гемолизированных эритроцитов данной группы на время гемолиза в исследуемой крови.

Эритроциты также были распределены по группам стойкости. Принимали следующие условия: эритроциты распадающиеся в пределах

1,5-3 минуты являются пониженостойкими; в пределах 3,5-5 минут - среднестойкими; в пределах 5,5-8 - повышеностойкими; более 8 минут и менее 1 минуты - высокостойкими и низкостойкими соответственно.

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

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований, представленные в таблице и на рисунке, свидетельствуют о том, что в нелеченной группе крыс индекс стойкости, характеризующий суммарную резистентность эритроцитов, прогрессивно снижается, достигая 75 % от уровня исходного контроля к 3 суткам эксперимента. При определении стабильности клеток крови к действию водородных ионов выявляются скрытые повреждения эритро-

цитарных мембран. Часто действие того или иного фактора не проявляется сразу. Результат может проявиться лишь по истечении нескольких часов или суток после воздействия. Эритроцит в течение этого времени может сохранять свои основные функции, однако необратимые процессы возникают сразу после воздействия. Такие процессы называют скрытыми, замаскированными повреждениями мембран. Эти повреждения характерны тем, что на мембране возникают дополнительные дефекты. Но эти дефекты еще не развились настолько, чтобы нарушить функцию клетки, и только через определенный период эти повреждения проявятся на уровне клеточных и тканевых патологий [6].

В патогенезе эндогенной интоксикации ведущая роль принадлежит мембранодеструктивным процессам. Нарушение структурно-функциональной организации клеточных мембран определяет все основные патофизиологические и клинические проявления эндотоксикоза. Между изменениями свойств мембран эритроцитов и клеточных мембран внутренних органов существует высокая корреляционная связь. Поэтому, определяя кислотную резистентность эритроцитарных мембран, мы оцениваем степень повреждения главного объекта воздействия интоксикации – клетки, а также можем судить об эффективности антиоксидантной и лазерной терапии, их способности сохранять структуру и функцию клеточных мембран.

Во второй экспериментальной группе была изучена кислотная резистентность эритроцитов при включении в терапию перитонита НИЛИ. По сравнению с данными первой группы наблюдалась тенденция к повышению устойчивости эритроцитов к гемолитическому действию соляной кислоты. Специфическим свойством НИЛИ является возможность активировать внутри- и внеклеточные антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза, церулоплазмин), что способствует сохранению структуры и функции клеточных мембран и в свою очередь поддержанию приемлемого уровня естественных процессов в организме, включая дезинтоксикационные [1]. НИЛИ изменяет также липидный состав мембран эритроцитов. Это проявляется в том, что повышается содержание фосфолипидов при постоянстве содержания холестерина, что свидетельствует об уменьшении вязкости и жесткости мембран [5]. Недостаточно выраженный мембранопротекторный эффект ЛГТ в данных условиях эксперимента объясняется применением в режиме монотерапии и, по-видимому, отсутствием необходимого уровня запаса эндогенных (тканевых) антиоксидантов, реакция которых оказывается недостаточной для нормализации баланса про- и антиокислительной активности.

Недостаточность систем антиоксидантной защиты ведет к развитию «окислительного стресса», являющегося одним из основных механизмов

повреждения биологических мембран, затрагивающего как липидный бислой, так и мембранные белки, включая ферменты, участвующие в дыхательной цепи митохондрий. Вместо окислительного фосфорилирования активируется компенсаторный метаболический поток по сукцинатоксидазному пути окисления. Поэтому для коррекции клеточной гипоксии его активация должна достигаться повышением активности сукцинатдегидрогеназы и улучшением проникновения экзогенного и эндогенного сукцинатов в митохондрии клеток [8].

Терапия перитонита помимо специфических средств должна, по-видимому, включать препараты, ограничивающие активацию оксидантного стресса и оказывающие корригирующее влияние на метаболические процессы, компенсируя дефицит природных антиоксидантов. В этой связи несомненный интерес представляет комплексное соединение янтарной кислоты с 5-окси-6-метилурацилом. Ранее проведенные нами исследования установили, что данное соединение является ингибитором свободно-радикального окисления, а также обладает противогипоксической активностью, ограничивая развитие метаболического ацидоза. Следует отметить, что гипоксия является универсальным патологическим процессом, основной причиной нарушения метаболизма и функции жизненно важных органов при многих патологических состояниях, в том числе при гнойно-деструктивных заболеваниях органов брюшной полости. Комплекс янтарной кислоты с 5-окси-6-метилурацилом, примененный в третьей экспериментальной группе в режиме сопроводительной коррекции, повышал стабильность эритроцитарных мембран и увеличивал время жизни экспериментальных животных.

При применении комбинированной терапии у животных четвертой группы отмечался наиболее мощный мембранопротекторный эффект. Индекс стойкости эритроцитов не претерпевал существенных изменений в течение двух суток, постепенно снижаясь к 4-м суткам эксперимента. Следует отметить, что данный показатель был достоверно выше, чем у животных первой группы во все сроки наблюдения.

Анализ данных, представленных на рисунке, показывает, что при перитоните значительно увеличивается количество пониженностойких и низкостойких эритроцитов. Лечение крыс второй и третьей экспериментальных групп соответственно НИЛИ и комплексом янтарной кислоты с 5-окси-6-метилурацилом увеличивает долю среднестойких эритроцитов, при этом доля пониженностойких эритроцитов остается значительно выше контроля. Наиболее благоприятный мембранопротекторный эффект оказывает комбинированная терапия, включающая комплекс янтарной кислоты с 5-окси-6-метилурацилом и НИЛИ. При этом отмечается значительное снижение пониженностойких и увеличение повышенностойких эритроцитов.

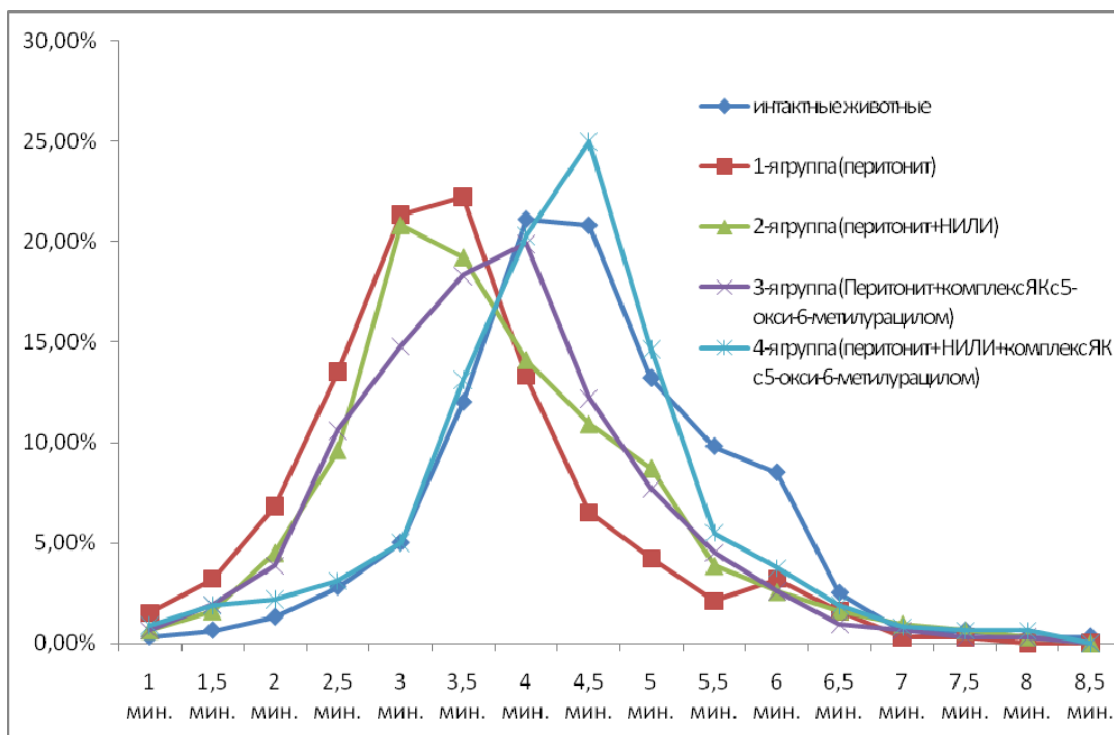


Рис Кислотные эритрограммы групп крыс при экспериментальном перитоните (3-и сутки)

Таблица

Индекс устойчивости эритроцитов к гемолитическому действию соляной кислоты у крыс при экспериментальном перитоните (M±m)

Группы животных	Количест. животных	Значение показателей на этапах исследования				
		0 сутки	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки	4-е сутки
1-я группа (перитонит)	6	1,0±0,08	0,92±0,08	0,81±0,04*	0,75±0,06*	-
2-я группа (перитонит+НИЛИ)	7	1,0±0,08	0,86±0,05	0,84±0,07*	0,8±0,08*	-
3-я группа (перитонит+комплекс ЯК с 5-окси-6-метилурацилом)	6	1,0±0,06	0,94±0,09	0,86±0,07*	0,83±0,04*	0,76±0,07*
4-я группа (перитонит+НИЛИ+ комплекс ЯК с 5-окси-6-метилурацилом)	7	1,0±0,07	0,98±0,09	0,95±0,07**	0,92±0,04**	0,88±0,1**

* - Достоверно (p<0,05) внутри одной группы по отношению к фону («нулевые сутки»).

** - Достоверно (p<0,05) по сравнению с первой группой на определенные сутки эксперимента.

В этой связи следует отметить, что комбинированная терапия увеличивала продолжительность жизни животных с перитонитом. По истечении 4-х дней с момента воспроизведения перитонита смертность среди животных, получавших комбинированную терапию, составила 35%, в то время как в первой группе погибли все животные. Данная терапия достоверно увеличивала продолжительность жизни крыс в среднем на 15-20 часов, что свидетельствует о перспективности применения комбинации исследуемого соединения, обладающего антиоксидантной и противогипоксической активностями, и НИЛИ в комплексном лечении перитонита.

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют об эффективности комбинированного применения низкоинтенсивного лазерного излучения в данных режимах и антиоксидантной, антигипоксикантной терапии в

сохранении структуры и функции клеточных мембран. Это определяет возможные направления дальнейших исследований по разработке и изучению вопросов рационального дифференцированного применения этих методов для лечения заболеваний, в развитии и прогрессировании которых важную роль играет эндотоксикоз.

Выводы

1. При развитии воспалительного процесса в брюшной полости устойчивость эритроцитов к гемолитическому действию соляной кислоты progressively снижается.

2. НИЛИ имеет недостаточно выраженный мембранопротекторный эффект. Комплекс 5-окси-6-метилурацила с янтарной кислотой, примененный в режиме монотерапии, повышает кислотно-резистентность эритроцитов. При применении комбинированной терапии отмечается наиболее мощный мембранопротекторный эффект.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А. Три гипотезы о механизме действия лазерного излучения на организм человека//Эфферентная медицина. - М.: Медицина, 1994. - С.51-56.
2. Гельфанд Е.Б., Гологорский В.А., Гельфанд Б.Р. Абдоминальный сепсис: интегральная оценка тяжести состояния больных и полиорганной дисфункции//Анестезиология и реаниматология. - 2000.-№ 3.-с. 29-33.
3. Гительзон Н.Н., Терсков И.А. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. - Красноярс, 1959. - 248с.

4. Ерюхин И.А., Насонкин О.С., Шашков Б.В., Лебедев В.Ф. Эндотоксикоз как проблема клинической хирургии//Вестник хирургии.- 1989.-№ 3.-с. 3-7.
5. Кожура В.Л., Дворецкий С.В., Новодержкина Н.С., Березина Т.Л. и др. Влияние внутрисосудистого гелий-неонового лазерного облучения крови на состояние компенсаторных процессов в остром периоде геморрагического шока и после реанимации//Анестезиология и реаниматология.- 1993.-№ 4.-с. 43-47.
6. Козлова Е.К., Черняев А.П., Черныш А.М., Алексеева П.Ю. Исследование воздействия гамма-излучения на эритроциты с помощью электропорации// Вестник Московского университета. Сер.3. Физика. Астрономия.- 2005.-№ 3.-с. 19-22.
7. Колмаков В.Н. Определение проницаемости эритроцитарных мембран в диагностике хронических заболеваний печени//Хронический гепатит и цирроз.- Л., 1983.- С. 26-28.
8. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии//Патологическая физиология и экспериментальная терапия.- 2004.-№ 2.-с. 2-11.
9. Михайлович В.А., Марусанов В.Е., Бичун А.Б., Доманская И.А. Проницаемость эритроцитарных мембран и сорбционная способность эритроцитов - оптимальные критерии тяжести эндогенной интоксикации// Анестезиология и реаниматология.- 1993.-№ 5.-с. 66-69.
10. Ременник С.С. К вопросу о создании экспериментальной модели перитонита//Здравоохранение Туркменистана.- 1965.-№ 7.-с. 21-29.
11. Самойлова К.А., Сиомов С.А., Оболенская К.Д. и др. Пусковые механизмы лечебных эффектов ауто-трансфузии УФ-облученной крови// Вестник хирургии.- 1989.-№ 12.-с. 51-54.
12. Саприн А.Н., Калинина Е.В. Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развития патологических процессов//Успехи биологической химии.- 1999.-№ 39.-с. 289-326.
13. Шуркалин Б.К., Фаллер А.П., Горский В.А., Глушков П.С. Послеоперационные осложнения у больных с перитонитом//Хирургия.- 2003.-№ 4.-с. 32-35.

618.11-089.87:577.175.823:612.621.31./82:616-092.9
© Л.А. Валеева, Г.И. Файзуллина, Э.М. Нурғалина, 2009

Л.А. Валеева, Г.И. Файзуллина, Э.М. Нурғалина
**ИЗМЕНЕНИЯ СЕРТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА
ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ОВАРИЭКТОМИИ И ДЕЙСТВИИ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ
ГОРМОНОВ**

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа.

Изучены серотониновые рецепторы мозга после хирургической овариэктомии и на фоне приема препаратов женских половых гормонов. Хирургическая овариэктомия изменяла плотность серотониновых рецепторов головного мозга крыс с неоднозначным влиянием на различные подтипы рецепторов, что свидетельствует о вовлечении серотонинергической системы в патогенез постменопаузального синдрома. Гормонозаместительная терапия неоднозначно влияла на различные подтипы серотониновых рецепторов и полностью не компенсировала те изменения серотонинергической системы головного мозга, которые вызывала хирургическая овариэктомия.

Ключевые слова: серотониновые рецепторы, мозг, женские половые гормоны, хирургическая овариэктомия.

L.A. Valeyeva, G.I. Faizullina, E.M. Nurgalina
**CHANGES IN THE BRAIN SEROTONIN RECEPTORS IN SURGICAL OVARIECTOMY
AND EFFECTS OF FEMALE SEXUAL HORMONES**

In the present study the brain serotonin receptors after surgical ovariectomy and administration of female sexual hormones have been examined. Surgical ovariectomy changed the density of the brain serotonin receptors in rats with uncertain impact on various subtypes of the receptors demonstrating the involvement of serotonin system in the pathogenesis of postmenopause syndrome. Hormone replacing therapy affected various subtypes of serotonin receptors and failed to compensate the changes in the brain serotonin system induced by surgical ovariectomy.

Key words: serotonin receptors, brain, female sexual hormones, surgical ovariectomy.

Климакс - это переходный период в жизни женщины от репродуктивной фазы с регулярными овуляторными циклами к состоянию постепенного снижения и «выключения» функций яичника, который определяется дефицитом половых стероидов (прежде всего эстрогенов). Клинически синдром недостатка эстрогенов характеризуется развитием нейровегетативных, эмоционально-психических и обменно-эндокринных нарушений. Это определяет патогенетически обоснованным

назначение препаратов, содержащих женские половые гормоны. Однако климактерический период - это естественный биологический процесс, когда происходит адаптация женского организма к новым условиям, и повышенный уровень эстрогенов в этот период жизни может быть фактором риска развития гиперпластических процессов в эндометрии и в молочных железах, а также при гормонозаместительной терапии наблюдается ряд побочных эффектов. Все это определяет необходимость