

6. *Фадеев В.В.* // ТИРОНЕТ. – 2002. – № 3. <http://thyronet.rusmedserv.com>
 7. *Furmanchuk A.W., Roussak N., Ruchti C.* // УДК 616-001.3-092.9:616.12:541.515

Histopathology. – 1993. – Vol. 23. – P. 319–325.
 8. *Tan G.H., Gharib H.* // *Ann. Intern. Med.* – 1997. – Vol. 126 – P. 226–231.

РОЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ИЗМЕНЕНИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

В.В. Русаков, В.Т. Долгих
Омская государственная медицинская академия

В статье анализируется состояние свободнорадикальных процессов в остром периоде черепно-мозговой травмы, влияющее на сократимость миокарда экспериментальных животных. Применение антиоксиданта карнозина приводит к угнетению процессов перекисного окисления липидов, что способствовало восстановлению нарушенной сократимости сердца.

Ключевые слова: свободнорадикальные процессы, нарушение сократимости, посттравматическое нарушение сократимости, карнозин.

ROLE OF FREE RADICAL PROCESSES IN CONTRACTILITY HEART CHANGES OF RAT WITH A SEVERE CRANIOCEREBRAL INJURY

V.V. Rusakov, V.T. Dolgikh

Abstract. Activation of free radical processes in the acute period of craniocerebral injury is combined with a disorder of contractile function of isolated rat hearts. Inhibition of lipid peroxidation processes with the help of antioxidant carnosin confirms the importance of this pathogenetic factor in formation of posttraumatic depression of myocardium contractility.

Key words: free radical processes, contractility changes, posttraumatic depression, carnosin.

Процессы свободнорадикального окисления, постоянно протекающие во всех клетках, являются необходимым звеном их нормального функционирования и метаболической регуляции [6]. Вместе с тем при избыточном образовании свободных радикалов они оказывают повреждающее воздействие на различные структуры клетки от фосфолипидов мембран до ДНК [7]. Неконтролируемая генерация активных форм кислорода также вызывает окислительную модификацию клеточных белков, приводящую в итоге к утрате их биологической активности [6]. Имеются данные о формировании окислительного стресса при многих критических состояниях, в том числе при тяжелой изолированной и сочетанной черепно-мозговой травме (ЧМТ) [1–3, 10, 11].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить роль свободнорадикальных процессов в изменении сократимости миокарда крыс в остром периоде тяжелой ЧМТ.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 65 белых беспородных крысах-самцах массой 160–250 г. Контрольная группа включала 10 интактных животных. На 55 наркотизированных эфиром крысах моделировали тяжелую ЧМТ посредством удара по средней линии теменной области головы свободно падающим грузом индивидуально рассчи-

танной массы. Через 1 ч после травмы под нембуталовым наркозом (25 мг/кг) у животных извлекали сердце и изучали его сократительную функцию на модели изолированного изоволюмически сокращающегося сердца по E.T. Fallen et al. [9]. Проточную нормоксическую перфузию сердца осуществляли насыщенным карбогеном раствором Кребса–Хензелейта при температуре 37 °С и pH = 7,4. Через 30 мин стабилизации работы сердца и на последующих этапах эксперимента записывали кривую давления в левом желудочке, по которой рассчитывали диастолическое, систолическое и развиваемое левым желудочком давления, скорости сокращения и расслабления миокарда. Функциональные резервы сердца исследовали, используя следующие пробы: 1) нагрузку ритмом высокой частоты, когда частоту стимуляции сердца внезапно увеличивали с 240 до 300, 400 и 500 мин⁻¹; 2) 10-минутную гипоксическую перфузию без глюкозы с последующей 20-минутной реоксигенацией. Активность процессов свободнорадикального окисления в сыворотке крови через 1 ч после ЧМТ оценивали методом хемилюминесценции при добавлении сернокислого железа на хемилюминометре “ХЛ-003” [8]. Регистрировали амплитуду быстрой вспышки, характеризующую концентрацию предсуществующих гидроперекисей липидов, образовавшихся в системе до введения Fe²⁺, а также интенсивность медленного свечения (светосумму) как

показатель интенсивности свободнорадикальных реакций, протекающих в гидрофобной фазе мембран или липопротеинов, и способности ингибиторов к перехвату липидных радикалов. Общую антиоксидантную способность сыворотки крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-системы, произведенной компанией "Labor Diagnostika Nord GmbH and Co. KG". Для расчетов использовали компьютерную программу для иммуноферментного анализа "Genesis". Биохимические исследования выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории ОмГМА (руководитель – профессор Т.И. Долгих). В отдельных сериях опытов крысам за 24 и 1 ч до травмы ($n = 13$) или непосредственно после травмы ($n = 14$) внутривенно вводили антиоксидант карнозин (100 мг/кг), предоставленный профессором А.А. Болдыревым. Статистическую обработку результатов проводили с использованием t -критерия Стьюдента и коэффициента корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 1 ч после тяжелой ЧМТ было выявлено изменение соотношения активности прооксидантных и антиоксидантных ферментов сыворотки крови с интенсификацией свободнорадикальных процессов. Это проявлялось увеличением до $2,82 \pm 0,17$ у. е. · мин светосуммы (в контроле – $1,28 \pm 0,12$ у. е. · мин; $p < 0,001$) и возрастием до $2,49 \pm 0,37$ у.е. амплитуды быстрой вспышки (в контроле – $0,69 \pm 0,04$ у. е.; $p < 0,001$). По данным ли-

тературы [1, 3], активация процессов перекисного окисления липидов в остром периоде сочетанной ЧМТ, в основном, связана с изменениями в антиоксидантной системе. В нашем исследовании общая антиоксидантная способность сыворотки крови травмированных крыс была снижена по отношению к контролю на 14,5 % ($p < 0,05$).

Увеличение в остром посттравматическом периоде способности липидов крови подвергаться перекисному окислению сочеталось с изменением сократимости изолированных сердец и снижением их функциональных резервов (табл.). Скорость расслабления миокарда левого желудочка травмированных крыс была на 25,5 % ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле. Реоксигенация после проведенной гипоксической пробы сопровождалась неполным восстановлением сократительной функции. Различия с контролем на 20-й мин восстановительной перфузии составляли для развиваемого давления 25,2 % ($p < 0,05$), для скоростей сокращения и расслабления – 21,0 % ($p < 0,05$) и 34,4 % ($p < 0,001$) соответственно.

Увеличение частоты стимуляции сердец животных, перенесших ЧМТ, приводило к росту диастолического давления с формированием дефекта диастолы уже при частоте 300 мин⁻¹ и сопровождалось меньшим положительным хронотропным эффектом. При повышении частоты до 400 мин⁻¹ скорости сокращения и расслабления миокарда левого желудочка составляли лишь 83,6 % ($p < 0,05$) и 82,4 % ($p < 0,05$) от контрольных величин, а дефект диастолы в 2,8 раза ($p < 0,01$) превышал величину данного показателя в контроле.

Влияние карнозина на динамику силовых и скоростных показателей изолированных сердец крыс, перенесших ЧМТ, при проведении гипоксической пробы и последующей реоксигенации, $M \pm m$

Исследуемый показатель	Серии опытов	Сроки наблюдения							
		Исход. значения	Гипоксическая проба			Реоксигенация			
			30 с	5 мин	10 мин	30 с	5 мин	10 мин	20 мин
Диастолическое давление, мм рт. ст.	K	3,4±0,78	3,6±0,33	12,9±1,93 ⁺	26,1±3,40 ⁺	19,4±1,62 ⁺	7,7±1,56 ⁺	6,0±1,15	5,7±1,13
	I	3,1±0,42	4,9±0,73	14,3±2,02 ⁺	22,7±2,14 ⁺	20,0±2,87 ⁺	8,9±2,09 ⁺	7,6±1,89 ⁺	6,6±1,62
	II	3,3±0,31	4,1±0,38	13,5±1,03 ⁺	25,3±1,98 ⁺	19,6±1,67 ⁺	8,5±0,76 ⁺	7,2±1,09 ⁺	6,5±1,58
	III	3,2±0,34	4,3±0,45	13,7±1,45 ⁺	24,2±2,12 ⁺	19,9±2,08 ⁺	8,1±0,85 ⁺	6,6±0,93 ⁺	6,1±1,35
Систолическое давление, мм рт. ст.	K	47,4±2,6	34,5±2,4 ⁺	29,4±2,7 ⁺	36,4±2,6 ⁺	41,2±1,9	44,4±2,4	40,6±2,9	39,0±2,6 ⁺
	I	41,2±2,0	30,7±1,7 ⁺	29,1±2,7 ⁺	32,8±2,2 ⁺	35,7±2,3	35,4±2,8 [*]	35,0±2,7	31,5±2,2 ⁺ *
	II	43,9±2,5	31,9±1,7 ⁺	28,7±2,3 ⁺	35,4±2,1 ⁺	37,7±2,0	38,2±2,5	38,6±2,2	36,5±1,9 ⁺
	III	45,0±2,8	32,8±2,2 ⁺	29,6±1,9 ⁺	34,7±2,5 ⁺	39,5±2,7	41,2±2,7	39,4±2,5	37,9±2,2
Развиваемое давление, мм рт. ст.	K	43,9±2,7	31,0±2,4 ⁺	16,5±1,6 ⁺	10,3±1,3 ⁺	21,7±2,2 ⁺	36,7±3,2	34,6±2,9 ⁺	33,3±2,3 ⁺
	I	38,1±2,1	25,9±1,7 ⁺	14,8±1,4 ⁺	10,2±1,3 ⁺	15,8±2,2 ⁺	26,5±2,3 ⁺ *	27,4±2,9 ⁺	24,9±2,2 ⁺ *
	II	40,6±2,4	27,8±1,8 ⁺	15,2±1,6 ⁺	10,1±0,9 ⁺	18,1±1,5 ⁺	29,7±2,4 ⁺	31,4±2,6 ⁺	30,0±2,1 ⁺
	III	41,8±2,9	28,5±2,3 ⁺	15,9±1,2 ⁺	10,5±1,3 ⁺	19,6±2,0 ⁺	33,1±2,1 ⁺	32,8±2,0 ⁺	31,8±2,4 ⁺ ^
Скорость сокращения, мм рт. ст./с	K	886±84	576±34 ⁺	323±17 ⁺	205±20 ⁺	375±41 ⁺	696±60	663±45 ⁺	637±35 ⁺
	I	721±46	504±33 ⁺	311±38 ⁺	229±18 ⁺	288±33 ⁺	530±49 ⁺ *	536±38 ⁺ **	503±43 ⁺ *
	II	790±54	550±28 ⁺	328±27 ⁺	229±15 ⁺	336±21 ⁺	590±33 ⁺	600±28 ⁺	586±33 ⁺
	III	823±48	536±31 ⁺	328±21 ⁺	220±13 ⁺	355±26 ⁺	634±29 ⁺	645±31 ⁺ ^	628±35 ⁺ ^
Скорость расслабления, мм рт. ст./с	K	719±47	321±26 ⁺	211±15 ⁺	133±10 ⁺	208±25 ⁺	522±57 ⁺	468±40 ⁺	462±30 ⁺
	II	536±37 [*]	294±23 ⁺	189±17 ⁺	129±17 ⁺	150±18 ⁺	368±35 ⁺ *	359±29 ⁺ **	303±23 ⁺ *
		609±34	298±18 ⁺	207±16 ⁺	132±9 ⁺	175±11 ⁺	434±23 ⁺	443±27 ⁺ ^	407±26 ⁺ ^

	III	664±39 [^]	309±21 ⁺	202±12 ⁺	130±14 ⁺	189±13 ⁺	471±29 [^]	460±31 [^]	442±28 [^]
--	-----	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------

Примечание. К – контроль ($n = 10$); I – крысы, перенесшие ЧМТ ($n = 13$); II и III – травмированные животные, получавшие карнозин соответственно до и после ЧМТ ($n = 11$, $n = 10$ соответственно). $P < 0,05$ по сравнению: ⁺ – с исходными значениями, ^{*} – с контролем, [^] – с I группой.

Выявленные изменения сократимости сердец травмированных крыс могли определяться, наряду с другими факторами, повреждающим действием на кардиомиоциты активных форм кислорода и липидных радикалов. Закономерным итогом такого воздействия было нарушение функционирования механизмов, ответственных за транспорт Ca^{2+} .

Как известно, при увеличении частоты стимуляции содержание внутриклеточного Ca^{2+} в кардиомиоцитах возрастает даже в норме. Это связано с усилением проникновения катиона в клетки миокарда и уменьшением времени, в течение которого Ca^{2+} удаляется из саркоплазмы в саркоплазматический ретикулум. Формирование неразмыкающихся связей между некоторыми молекулами миозина и актина приводит к нарушению перемещения нитей в саркомере, неполному диастолическому расслаблению миокарда, а поэтому – повышению уровня диастолического давления и формированию дефекта диастолы. Так как величина последнего является реальным критерием мощности механизмов, ответственных за удаление Ca^{2+} из саркоплазмы [5], увеличение этого показателя после ЧМТ в сочетании с активацией ПОЛ может свидетельствовать о свободнорадикальном повреждении мембран кардиомиоцитов и/или Ca^{2+} -насоса саркоплазматического ретикулума и функционально связанных между собой Na^+/K^+ -насоса и Na^+/Ca^{2+} -обменника сарколеммы.

Для подтверждения выдвинутого положения в следующих сериях экспериментов животным до или непосредственно после ЧМТ вводили антиоксидант карнозин. Применение препарата после травмы сопровождалось смещением соотношения между прооксидантами и антиоксидантами в сторону последних. Это проявлялось уменьшением на 31,6 % ($p < 0,01$) светосуммы и снижением на 65,9 % ($p < 0,001$) амплитуды быстрой вспышки. Более значительным был эффект от препарата, вводимого крысам за 24 и 1 ч до травмы. В этой группе животных показатели хемилюминесцентного анализа практически не отличались от контрольных. Светосумма составляла $1,26 \pm 0,17$ у.е.·мин (в группе сравнения – $2,82 \pm 0,17$ у.е.·мин, $p < 0,001$), амплитуда быстрой вспышки была равна $0,70 \pm 0,07$ у.е. (в группе сравнения – $2,49 \pm 0,37$ у.е., $p < 0,001$).

Уменьшение интенсивности свободнорадикальных процессов сочеталось с улучшением сократительной функции сердец животных, получавших антиоксидант. Скорость расслабления миокарда в начале эксперимента на 23,9 % ($p < 0,05$) превышала аналогичный показатель группы сравнения. При этом отмечалась отри-

цательная корреляционная зависимость между амплитудой вспышки и скоростью расслабления миокарда получавших препарат животных ($r = -0,76$; $p < 0,02$).

На этапе реоксигенации после гипоксической пробы в группе животных с профилактическим введением антиоксиданта было отмечено достоверное увеличение по отношению к группе сравнения развиваемого давления, скоростей сокращения и расслабления. Более значительно при этом изменялись скоростные показатели сократимости.

Защита мембран и ферментов кардиомиоцитов карнозином сопровождалась большей сохранностью в посттравматическом периоде механизмов, ответственных за транспорт Ca^{2+} . При частоте стимуляции 300 мин^{-1} диастолическое давление в группах животных, получавших препарат до или после травмы, снижалось соответственно на 25,5 % ($p < 0,01$) и 19,1 % ($p < 0,05$) по отношению к группе сравнения. Дефекта диастолы в группах леченых крыс при этой частоте сердечных сокращений выявлено не было. Стимуляция сердец с частотой 400 мин^{-1} сопровождалась формированием меньшего дефекта диастолы. При профилактическом введении препарата он составлял $3,8 \pm 0,46$ мм рт. ст.·с (в группе сравнения – $9,6 \pm 1,70$ мм рт. ст.·с, $p < 0,01$), при лечебном применении карнозина – $5,5 \pm 0,53$ мм рт. ст.·с ($p < 0,05$). Положительные корреляционные связи между интенсивностью медленного свечения сыворотки крови получавших до травмы антиоксидант животных и величиной дефекта диастолы ($r = 0,84$; $p < 0,01$), а также между амплитудой быстрой вспышки и дефектом диастолы ($r = 0,69$; $p < 0,05$) свидетельствуют о значимости угнетения ПОЛ для нормального функционирования механизмов, ответственных за транспорт в кардиомиоцитах Ca^{2+} .

Было выявлено, что применение препарата в дозе 100 мг/кг непосредственно после травмы, несмотря на существенное ограничение интенсивности свободнорадикальных процессов в сыворотке крови, сопровождалось достоверным улучшением лишь одного показателя сократительной функции изолированных сердец на этапе реоксигенации после гипоксии. Возможно, это свидетельствует об участии в повреждении кардиомиоцитов при травматической болезни уже на ранних ее этапах иных патогенетических факторов, не являющихся точкой приложения действия антиоксиданта карнозина, например нарушения энергетического обмена или гипоксии. Известно, что интенсификация процессов ПОЛ является неспецифическим маркером дефицита кислорода [4], закономерно формирующегося

в посттравматическом периоде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о сочетании в остром периоде тяжелой ЧМТ активации свободнорадикальных процессов с признаками депрессии сократимости изолированных сердец травмированных крыс, снижением их устойчивости к гипоксии и реоксигенации, а также нарушением функционирования механизмов транспорта Ca^{2+} в кардиомиоцитах. Роль процессов ПОЛ в патогенезе посттравматических изменений сократимости миокарда подтверждается улучшением сократительной функции сердец крыс и увеличением мощности механизмов, ответственных за транспорт Ca^{2+} , при использовании до или непосредственно после ЧМТ препарата с антиоксидантной активностью карнозина. Более выраженным был эффект препарата, вводимого животным за 24 и 1 ч до травмы. Возможно, экзогенный карнозин компенсирует дефицит тканевых антиоксидантных систем миокарда, уменьшая темпы истощения активности низкомолекулярной антиоксидантной системы [2] в остром посттравматическом периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляевский А.Д., Лебедева Е.А. // Вестн. интенсивной терапии. – 2002. – № 4. – С. 35–37.
2. Кармен Н.Б. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2005. – Т. 139, № 4. – С. 403–405.
3. Картавенко В.И., Голиков П.П., Давыдов Б.В. и др. // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2004. – № 1. – С. 8–10.
4. Лукьянова Л.Д. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1997. – Т. 124, № 6. – С. 244–254.
5. Меерсон Ф.З. Адаптация, деадаптация и недостаточность сердца. – М.: Медицина, 1977. – 344 с.
6. Пасечник И.Н. // Вестн. интенсивной терапии. – 2001. – № 4. – С. 3–9.
7. Смирнов В.С., Кузьмич М.К. Гипоксен. – СПб: ФАРМиндекс, 2001. – 104 с.
8. Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А. Хемилюминесцентные методы исследования свободнорадикального окисления в биологии и медицине. – Уфа, 1998. – 90 с.
9. Fallen E.T., Elliott W.G., Gorlin R. // J. Appl. Physiol. – 1967. – Vol. 22, № 4. – P. 836–839.
10. Leker R.R., Shohami E. // Brain Res. Rev. – 2002. – Vol. 39, № 1. – P. 55–73.
11. Patrntiti S., Cambria R., Fiore P., et al. // G. neuropsicofarmacol. – 2002. – Vol. 24, № 5. – P. 187–193.

УДК 577.4:614.776:615.917

ЭКОЛОГО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОПАСНОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМ ОТРАВЛЯЮЩИМ ВЕЩЕСТВОМ

А.А. Масленников, С.А. Демидова

Волгоградский научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии

В процессе экспериментального обоснования гигиенического норматива зарина в почве установлены пороговые и подпороговые концентрации вещества по общесанитарному, транслокационному, миграционному водному и миграционному воздушному показателям вредности. Предельно допустимая концентрация зарина в почве обоснована по миграционному воздушному показателю и составляет $2,0 \cdot 10^{-4}$ мг/кг.

Ключевые слова: зарин, почва, микробоценоз, подпороговый уровень.

ENVIRONMENTAL TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF SOIL CONTAMINATION HAZARD BY ORGANOPHOSPHOROUS CHEMICAL AGENT

A.A. Maslennikov, S.A. Demidova

Abstract. In the course of experimental substantiation of hygienic safety standard for sarin in soil, threshold and sub-threshold concentrations of substance were established. These concentrations were determined by: (1) general sanitary nuisance factor, (2) translocation nuisance factor, (3) water migration nuisance factor, and (4) air migration nuisance factor. Maximum permissible concentration (MAC) for sarin in soil was justified by air migration factor; it equals $2,0 \cdot 10^{-4}$ mg/kg.

Key words: sarin, soil, microbocenosis, subthreshold level.

Проблема уничтожения запасов химического оружия, хранящегося на территории Российской Федерации, имеет целый ряд правовых, научно-технических, медико-биологических и эколо-