

Д.В. Срубиллин<sup>2</sup>, Д.А. Еникеев<sup>2</sup>, В.А. Мышкин<sup>1</sup>, М.А. Исакова, Л.Т. Идрисова<sup>1</sup>, И.Д. Исаков<sup>2</sup>  
**ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА  
 ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ  
 ИНТОКСИКАЦИИ ДИХЛОРЕТАНОМ**

<sup>2</sup> ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Росздрава, г. Уфа  
<sup>1</sup> ФГУН Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека федеральной службы по надзору в  
 среде защиты прав и благополучия человека, г. Уфа

Изучены процессы перекисного окисления липидов, антиоксидантная защита, выраженность цитолитического синдрома у крыс при хронической интоксикации дихлорэтаном и при применении низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ). Хроническую интоксикацию дихлорэтаном достигали ежедневным введением токсиканта (0,01 LD 50) в течение 21 суток. Использовалось импульсное лазерное облучение аппаратом АЛТ «Матрикс» на область проекции печени и хвостовой вены. При многократном введении дихлорэтана развивался цитолитический синдром, активировалось свободнорадикальное окисление, увеличивалось содержание церулоплазмينا. Использование в качестве лечения методов НИЛИ благоприятно влияло на состояние мембран гепатоцитов и выраженность свободнорадикального окисления, что может быть связано с реактивацией антиоксидантных ферментов.

**Ключевые слова:** лазерное облучение, дихлорэтан, перекисное окисление липидов, церулоплазмин, хроническая интоксикация.

D.V. Srubilin, D.A. Enikeyev, V.A. Myshkin, M.A. Isakova, L.T. Idrisova, I.D. Isakov  
**INFLUENCE OF LOW INTENSIVE LASER RADIATION ON THE HEPATOCYTE  
 FUNCTIONAL STATE IN CHRONIC INTOXICATION WITH DICHLOROETHANE**

The processes of lipid peroxidation, antioxidant protection, marked cytologic syndrome in rats chronically intoxicated with dichloroethane and the use of low intensive laser radiation have been studied. With repeated administration of dichloroethane, there was evidence of cytologic syndrome development, free radical oxidation activity, increase in ceruloplasmin content. The treatment by using low intensity laser radiation was favourable for the hepatocyte membrane condition and markedness of free radical oxidation. This is probably due to reactivation of antioxidant enzymes.

**Key words:** laser radiation, lipid peroxidation, dichloroethane, ceruloplasmin, chronic intoxication

Дихлорэтан (ДХЭ), отличающийся высокой токсичностью и куммуляционной способностью, относится к опасным загрязнителям окружающей среды. Чаще всего хронические интоксикации ДХЭ встречаются на производстве, где растворитель находит широкое применение. В ходе метаболизма ДХЭ образуются хлорэтанол и монохлоруксусная кислота, которые являются более токсичными соединениями, чем 1,2-дихлорэтан [3]. Поэтому важным патогенетическим звеном токсического действия ДХЭ на организм является поражение печени, поскольку именно этот орган играет ведущую роль в процессе его превращения.

Известно, что интоксикация ДХЭ вызывает снижение защитных функций организма. В частности, это касается такой важной защитной функции, какой является антиокислительная активность крови (АОА), которая предотвращает нерегулируемое перекисное окисление липидов (ПОЛ) в условиях активации свободнорадикальных реакций. Неконтролируемое ПОЛ является одним из основных механизмов повреждения клеточных мембран. Общий пул АОА формируется из нескольких низко- и высокомолекулярных компонентов. Одним из основных среди них является церулоплазмин (ЦП), называемый также, ферроксидазой. ЦП представляет собой медьсодержащий гликопротеин  $\alpha$ 2-глобулиновой фракции сыворотки крови. Он синтезируется главным образом в печени и проявляет активность к соединениям, выступающими инициаторами ПОЛ, – двухвалентному железу и активированным формам ки-

слорода. Поэтому антиокислительная активность плазмы крови прямо пропорциональна концентрации ЦП.

Продолжая исследования по изучению влияния низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) на защитные системы организма, мы в настоящей работе оценили действие лазерного излучения на антиокислительную активность и выраженность цитолитического синдрома при хронической интоксикации дихлорэтаном.

#### Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 18 здоровых половозрелых неинбредных белых крысах массой 180-220 г, разделенных на 3 группы: 1-я – контрольная (n=5), 2-я – животные с моделированной интоксикацией дихлорэтаном (n=7), 3-я – животные, получавшие ДХЭ и НИЛИ (n=6). 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».

Хроническая интоксикация дихлорэтаном достигалась ежедневным энтеральным введением токсиканта (0,01 LD 50) в течение 21 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/см<sup>2</sup>) и акупунктурной насадкой для надвального облучения крови в области хвостовой вены (0,63мкм, импульсная мощность 5 Вт, частота 80 Гц, доза 0,12 Дж/см<sup>2</sup>). Курс лазеротерапии начинали со 2-й недели и продолжали 12 дней. Биохимические исследования проводили на 21 сутки после отравления.

Критерием оценки процессов ПОЛ служило накопление в плазме крови малонового диальдегида (МДА). Содержание МДА определяли в тесте с тиобарбитуровой кислотой [1]. Функциональное состояние антиоксидантной защиты оценивали по активности каталазы в эритроцитах [5] и содержанию церулоплазмينا в плазме крови [4]. Для оценки выраженности цитолитического синдрома исследовали активность ферментов - маркеров повреждения печени - аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), сывороточной уруканиназы [6].

Обработку полученных результатов проводили с использованием методов вариационной статистики. В сравниваемых группах определяли средние величины (М), ошибку средних величин (m). Достоверность оценивали по критерию Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Результаты наших исследований представлены в таблице, из которой видно, что дихлорэтан, введенный по указанной схеме, вызывает гепатит, при котором развивается биохимический синдром цитолиза, что подтверждается одновременным повышением активности трансаминаз - АЛТ и АСТ, а также активности органоспецифического фермента печени - уруканиназы - соответственно в 3,8; 1,9 и 4,2 раза. Накопление МДА сопровождается снижением активности каталазы и увеличением содержания церулоплазмينا на 83 %. Изменение концентрации ЦП связано с возрастанием свободнорадикальных процессов в организме. На этом фоне повышенное содержание ЦП, обладающего заметной антиоксидантной активностью, позволяет тормозить ПОЛ и нейтрализовать активные метаболиты кислорода [9].

Таблица

Показатели перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и цитолитического синдрома при многократном введении дихлорэтана (М±m)

Показатели	1-я группа (контроль)	2-я группа (дихлорэтан)	3-я группа (дихлорэтан+НИЛИ)
МДА, мкмоль/л	3,1±0,3	6,3±0,7*	4,8±0,5*^
Церулоплазмин, мг %	16,2±2,1	29,7±2,8*	21,7±3,2*^
Каталаза, моль в мин. на 1,0 мл крови	9,23±0,9	8,1±1,2	12,3±1,4*^
АЛТ, мккат/л	0,43±0,15	1,63±0,24*	0,82±0,19*^
АСТ, мккат/л	0,39±0,08	0,74±0,12*	0,56±0,13
Уруканиназа, нмоль/с·л	0	4,2±0,8*	3,0±0,6*

\* Достоверно (p<0,05) по сравнению с 1-й группой.

^ Достоверно (p<0,05) по сравнению с 2-й группой.

Курсовое применение НИЛИ обладает мощным антиоксидантным, противоперекисным, мембраностабилизирующим эффектом и приводит к достоверной положительной динамике показателей церулоплазмينا, синдрома цитолиза, ПОЛ. После проведения курса НИЛИ отмечается стати-

стически достоверная тенденция к нормализации исходно повышенного церулоплазмينا на 27%. Лазерное излучение угнетает активность СРО и активирует собственную антирадикальную защиту организма (снижение МДА на 23,9%, повышение активности каталазы на 51,8%). Влияние лазерного излучения на ферментативную активность подтверждают данные литературы о возможных механизмах НИЛИ активировать каталазу за счет абсорбции излучения гемсодержащим ферментом и его структурной перестройкой, ведущей к активации фермента [10]. Имеется выраженное снижение показателей синдрома цитолиза, что согласуется с работой, где показан мембранопротекторный эффект внутривенного лазерного излучения крови в отношении гепатоцитов [8].

По нашему мнению, коррекция уровня церулоплазмينا, синтезируемого главным образом гепатоцитами, подтверждает антиоксидантный, противовоспалительный характер действия НИЛИ и свидетельствует об улучшении функционального состояния печени, что является объективным критерием эффективности лазеротерапии при хронической интоксикации дихлорэтаном.

Свободнорадикальные реакции, постоянно протекая во всех тканях организма, являются одним из компонентов универсального механизма регуляции многих жизненно важных процессов, таких как адаптивная физико-химическая модификация клеточных мембран, рецепторов и ферментов, окислительное фосфорилирование, экспрессия генов [2, 7]. Следовательно, избыточное угнетение свободнорадикальных процессов не меньше, чем их избыточная активация, может иметь весьма негативные последствия. 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. НИЛИ действует на патогенетические звенья, общие для разных болезней. К таким общим патогенетическим звеньям относятся внутриклеточная гипоксия, ведущая к падению энергетического потенциала организма, активация ПОЛ, нарушение клеточного метаболизма и функционирования митохондрий.

Таким образом, применение низкоинтенсивного лазерного излучения (надвальным доступом и на область проекции печени) при хронической интоксикации дихлорэтаном благоприятно влияет на метаболизм, функциональную активность и состояние мембран гепатоцитов. Подобное обстоятельство можно объяснить необходимым уровнем запаса эндогенных (тканевых) антиоксидантов, реактивации которых оказывается достаточно для нормализации баланса про- и антиокислительной активности.

### Выводы

1. При интоксикации дихлорэтаном развивается цитолитический синдром, активируется свободнорадикальное окисление, увеличивается содержание церулоплазмينا.

2. Использование в качестве лечения низкоинтенсивного лазерного излучения благоприятно влияет на состояние мембран гепатоцитов и выработку свободнорадикального окисления, что может быть связано с реактивацией антиоксидантных ферментов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой// Вопросы медицинской химии.-1987.-№ 1.-с.118-122
2. Дубинина Е.Е., Коновалов П.В., Ковругина С.В. и др. Состояние анти - и прооксидантной систем крови у пожилых больных с психическими расстройствами//Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии: Тр. научн. конф.- СПб., 1998 - С.476-480
3. Кокаровцева М.Г., Киселева И.И. Хлорэтанол - один из токсичных метаболитов 1,2 дихлорэтана//Фармакология и токсикология.- 1978. Т. 41, № 1.-с. 118-120.
4. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия.- Минск, 1976.- 310с.
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы//Лабораторное дело.- 1988.-№ 1.-с. 16-18.
6. Лабораторные методы исследования в клинике/Справочник под ред. В.В. Меньшикова: 1987. 176 с.
7. Морозов В.И. Участие активных форм кислорода в регуляторных процессах//Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии: Тр. научн. конф. - СПб. 1998. С. 398-401.
8. Скворцов В.В. Перекисное окисление липидов и активность ферментов антиоксидантной защиты при внутривенном лазерном облучении крови у больных хроническими диффузными заболеваниями печени: Дисс. ... канд. мед. наук.- Волгоград, 1988.
9. Сорокин А.В., Ефремов О.М. Механизмы повышения белков острой фазы в крови при воспалении//Патологическая физиология и экспериментальная терапия.- 1988.-№ 5.-с. 41-44.
10. Чичук Т.В., Стражкевич И.А., Клебанов Г.И. Свободнорадикальные механизмы стимулирующего действия низкоинтенсивного лазерного излучения//Вестник РАМН.- 1999.-№ 2.-с. 27-32.

УДК 617.54-001-08-059:615.37

© Д.А. Еникеев, А.В. Чижиков, С.А. Еникеева, Л.Т. Идрисова, 2009

Д.А. Еникеев, А.В. Чижиков, С.А. Еникеева, Л.Т. Идрисова

### СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ИММУНИЗАЦИИ СТОЛБНЯЧНЫМ АНАТОКСИНОМ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ МИОКАРДА СОБАК В ПОСТГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ

*Башкирский государственный медицинский университет.*

Цель исследования: выяснение наиболее общих закономерностей лечебного действия профилактической иммунизации АС в эксперименте при терминальных состояниях, вызванных кровопотерей, улучшение результатов реанимации экспериментальных животных, перенесших геморрагический шок.

Проведены эксперименты по моделированию клинической смерти от острой кровопотери и длительного геморрагического шока на 45 беспородных половозрелых собаках. Выявлено, что в постреанимационном периоде при иммунизации АС восстановление системного кровообращения идет по благоприятному пути за счет увеличения ударного объема левого желудочка в сравнении с контрольной группой животных. Это обусловлено стимулирующим влиянием иммунизации АС на симпатический отдел вегетативной нервной системы. Отмечено улучшение восстановления неврологического статуса и кровообращения головного мозга, что снижает постреанимационную летальность с 30 до 18,18% на модели клинической смерти и с 33 до 20% на модели длительного геморрагического шока.

**Ключевые слова:** иммунизация, клиническая смерть, геморрагический шок, столбнячный анатоксин, собаки

D.A. Enikeev, A.V. Chizhikov, D.A. Enikeev, L.T. Idrisova

### STIMULATING ACTION BY TETANUS ANTITOXIN VACCINATION ON RESTORATION OF THE MYOCARDIUM IN THE POSTHEMORRHAGE PERIOD

The purpose of the research: determining common laws of medical effects of experimental preventive vaccination by tetanus antitoxin on terminal conditions caused by acute hemorrhage, improvement of reanimation results of the experimental animals that suffered hemorrhagic shock.

The experiments on 45 dogs to model clinical death from acute hemorrhage and long-term hemorrhage shock have been carried out. It has been shown that in post hemorrhage period in dogs vaccinated by tetanus antitoxin, the restoration of the cardiac output is successful due to an increase in the left ventricle stroke volume as compared with the control group of animals. This is due to the stimulating effect of tetanus antitoxin vaccination on sympathetic autonomic nervous system. The improvement of restoration of the neurologic status and hemocirculation of the brain is marked. Postresuscitation mortality rate is reduced from 30 % to 18,18 % in the model of clinical death from acute hemorrhage, and from 33 % to 20 % in case of long-term hemorrhagic shock.

**Key words:** vaccination, clinical death, hemorrhagic shock, tetanus antitoxin, dogs