

УДК 612.11:615

Власов А.П.¹, Бойнова И.В.², Спирина М.А.², Васильев В.В.¹, Шокин М.Н.¹, Рубцов А.В.¹

Церебропротекторное действие гелий-неонового лазерного облучения крови при хирургическом эндотоксикозе

Vlasov A.P., Boynova I.V., Spirina M.A., Vasilev V.V., Shokin M.N., Rubzov A.V.

Cerebroprotective effect of helium-neon laser irradiation of blood in the surgical endotoxemia

¹ ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», медицинский институт, кафедра факультетской хирургии, Саранск; ² ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», медицинский институт, кафедра нервных болезней и психиатрии, Саранск

Синдром эндогенной интоксикации является предиктором развития полиорганной и полисистемной недостаточности. Проведены экспериментальные исследования на беспородных собаках по изучению антирадикального действия низкоинтенсивного лазерного облучения при перитонеальном эндотоксикозе. Животным моделировали острый каловый перитонит по способу А.П. Власова (1991). В опытной группе помимо стандартной терапии дополнительно проводилось внутрисосудистое лазерное облучение крови (длина волны 635 нм) с мощностью излучения на выходе 2 мВт, временем воздействия 15 мин. Острый экспериментальный перитонит приводил к значительному увеличению концентрации как гидрофильных, так и гидрофобных токсических субстанций в плазме крови исследуемых животных. Стандартная инфузионная и антибактериальная терапия не приводили к существенному улучшению биохимических показателей плазмы крови. Включение лазеротерапии в состав комплексного лечения достоверно уменьшало выраженность эндотоксикоза. Отмечены значительные перестройки липидного и фосфолипидного спектров мембранных структур церебральной ткани при перитоните. Зафиксирован значительный рост детергентных форм липидов, что является индикатором разрушения биологических мембран. Низкоинтенсивное лазерное облучение крови уменьшало мембранодеструктивные явления и фосфолипазную активность в ткани головного мозга по сравнению с показателями контрольной группы животных. Полученные в ходе эксперимента результаты свидетельствуют о детоксикационном эффекте и снижении интенсивности свободнорадикального окисления липидов в церебральной ткани на фоне лазеротерапии, что свидетельствует о перспективности применения апробируемой методики с церебропротекторной целью при перитонеальном эндотоксикозе. *Ключевые слова:* эндогенная интоксикация, головной мозг, лазеротерапия, липиды.

The endogenous intoxication syndrome is a predictor of polyorgan and polysystemic failure. Experimental work has been done to study the antiradical effect of low-intensity laser irradiation in peritoneal endotoxemia in mongrel dogs. Intravascular laser blood irradiation (wavelength 635 nm) with radiation power output 2 mW and exposure time 15 min. was used in the experimental group in addition to standard therapy. Acute experimental peritonitis resulted in a significant increase of hydrophilic and hydrophobic toxins in blood plasma of experimental animals. Standard infusions and antibiotic therapy did not normalize biochemical parameters in blood plasma. Laser therapy significantly reduced endotoxemia severity. A significant restructure of the lipid and phospholipid spectrum in cerebral membranes during peritonitis was noted. A significant increase of detergent forms of lipids was also recorded what indicates degradation of biological membranes. Low-level laser blood irradiation reduced the intensity of membrane destruction and inhibited phospholipase A₂ activity in cerebral tissue comparing to the control group. The obtained results demonstrate that laser therapy decreases intoxication levels in blood plasma and reduces the intensity of lipid peroxidation in brain tissue. Thus, we can state that such laser application may be perspective for cerebroprotective purpose in peritoneal endotoxemia. *Key words:* endogenous intoxication, brain, laser therapy, lipids.

Введение

Синдром эндогенной интоксикации сопутствует ургентным состояниям различного профиля – как хирургического, так и терапевтического [5]. Именно эндотоксемия является прогностически значимым фактором, определяющим тяжесть заболевания и его исход [3, 4]. Гипоксия – как системного, так и регионарного характера, отмечающаяся при эндотоксикозе, приводит к развитию жизнеугрожающих осложнений – полиорганной и полисистемной недостаточности [2].

Высокая интенсивность метаболических реакций, недостаточная эффективность системы собственной антиоксидантной защиты, высокая концентрация легкоокисляемых липидов обуславливают высокую вероятность поражения головного мозга при синдроме эндогенной интоксикации вследствие низкой толерантности органа к гипоксии [6, 7]. Рациональным представляется использование в комплексной терапии метода, способного оказать целенаправленное воздействие на

патогенетические звенья за счет своей антиоксидантной способности.

Цель исследования: анализ воздействия гелий-неонового лазерного облучения крови на липидный метаболизм в тканевых структурах головного мозга при перитонеальном эндотоксикозе.

Материалы и методы исследования

Проведено экспериментальное исследование на взрослых беспородных собаках (n = 46). Животным под тиопентал-натриевым наркозом моделировали острый перитонит по способу А.П. Власова (1991) путем введения в брюшную полость каловой взвеси, через 1 сут производили санацию брюшной полости и в контрольные сроки (1, 3, 5-е сут после операции) регистрировали показатели липидного метаболизма в церебральной ткани. В послеоперационном периоде проводили стандартную инфузионную и антибактериальную терапию.

Животные были разделены методом случайной выборки на две равные группы. Липиды из тканей кишечника экстрагировали хлороформметаноловой смесью (Хиггинс Дж.А., 1990). Липиды фракционировали методом тонкослойной хроматографии. Полярные фосфолипиды разделяли на пластинах фирмы «Merk» на стеклянной основе, нейтральные липиды – на силикагелевых пластинах для обращеннофазной тонкослойной хроматографии (Хиггинс Дж.А., 1990; Vaskovsky V.E. et al., 1975). Молекулярный анализ проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (PhosphorAnalyst/PS Software). Уровень спонтанного и Fe-индуцированного малонового диальдегида определяли спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Sigma) (Егоров Д.Ю., Козлов А.В., 1988); активность супероксиддисмутазы оценивали в реакции с нитросиним тетразолием (Гуревич В.С. и др., 1990). Активность фосфолипазы A_2 исследовали в среде, содержащей 10 ммоль трис-HCL-буфер (pH 8,0), 150 ммоль тритон X-100, 10 ммоль $CaCl_2$ и 1,2 ммоль субстрата, в качестве которого использовали фосфатидилхолина яичного желтка. Выраженность эндогенной интоксикации оценивали по следующим показателям: содержание молекул средней массы определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-46 при длинах волн 254 и 280 нм (Пикуза О.И., Шакирова Л.З., 1994); общую и эффективную концентрацию альбумина в сыворотке крови – флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд» (Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., 1994). В опытной группе вместе со стандартной терапией проводилось гелий-неоновое внутрисосудистое лазерное облучение крови (пункция бедренной вены) с мощностью излучения на выходе световода 2 мВт и временем воздействия 15 мин. Использован терапевтический лазерный аппарат «ЛГ-75» с набором прилагающихся стандартных световодов, предназначенных для проведения процедуры внутрисосудистого лазерного облучения крови.

Результаты и обсуждение

При остром экспериментальном перитоните зафиксировано формирование тяжелого эндотоксикоза, что подтверждало адекватность используемой модели. Отмечен значительный рост концентрации молекул средней массы ($\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм) – соответственно на 77,04–136,54% и 54,66–137,05% ($p < 0,05$). Статистически значимо снижались общая и эффективная концентрации альбумина – на 18,96–30,73 и 34,11–52,60% ($p < 0,05$). Зарегистрировано снижение резерва связывания альбумина на 21,21–50,00% ($p < 0,05$) по отношению к физиологическим значениям исследуемого показателя (табл. 1). Индекс токсичности плазмы крови повышался на 158,18–336,36% ($p < 0,05$).

В ходе исследования отмечено значительное увеличение содержания продуктов липопероксидации в церебральной ткани. Эндогенной интоксикации перитонеального генеза сопутствовало статистически значимое увеличение титра спонтанного малонового диальдегида на 28,14–188,33% ($p < 0,05$), индуцированного малонового диальдегида – на 21,35–72,99% ($p < 0,05$). Параллельно зафиксировано угнетение собственной системы антиоксидантной защиты, проявлявшееся в снижении ферментативной активности супероксиддисмутазы на 31,90–59,05% ($p < 0,05$) относительно нормальных цифр. Энзимный потенциал фосфолипазы A_2 был достоверно выше физиологических значений исследуемого показателя – на 92,31–117,95% ($p < 0,05$).

Синдром эндогенной интоксикации при остром перитоните сопровождался значительными дислипидными явлениями в ткани головного мозга. В спектре липидов отмечались следующие изменения: рост концентрации свободных жирных кислот, моно- и диацилглицеролов при снижении уровня триацилглицеролов и суммарных фосфолипидов (рис. 1).

Фосфолипидный спектр при перитонеальном эндотоксикозе также претерпевал изменения: зафиксировано увеличение лизоформ фосфолипидов вкуче со снижением доли фосфатидилхолина и фосфатидилинозита. Известно, что лизофосфолипиды и свободные жирные

Таблица 1

Уровень токсических субстанций в плазме крови при остром перитоните при применении лазеротерапии ($M \pm m$), $n = 46$

Показатель	Группа	Исходные данные	Перитонит (операция)	Послеоперационный период		
				1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
ОКА, г/л	I	43,78	32,41 ± 1,11*	30,33 ± 0,97*	31,83 ± 0,89*	35,48 ± 1,36*
	II			30,51 ± 1,15*	36,25 ± 1,28*	36,59 ± 1,17*
ЭКА, г/л	I	28,03	13,29 ± 0,63*	9,91 ± 0,45*	14,93 ± 0,75*	18,48 ± 0,91*
	II			10,29 ± 0,53*	16,60 ± 0,85*	23,08 ± 0,79*
РСА, у. е.	I	0,67 ± 0,02	0,42 ± 0,04*	0,34 ± 0,02*	0,48 ± 0,02*	0,53 ± 0,01*
	II			0,35 ± 0,04*	0,47 ± 0,01*	0,65 ± 0,02
ИТ, у. е.	I	0,54 ± 0,03	1,39 ± 0,07*	2,36 ± 0,14*	1,24 ± 0,06*	1,88 ± 0,07*
	II			1,90 ± 0,09*	1,15 ± 0,04*	0,56 ± 0,04
МСМ, у. е. (254 нм)	I	0,41 ± 0,021	0,921 ± 0,035*	0,970 ± 0,045*	0,815 ± 0,034*	0,726 ± 0,020*
	II			0,910 ± 0,043*	0,701 ± 0,024*	0,690 ± 0,038*
МСМ, у. е. (280 нм)	I	0,382 ± 0,016	0,652 ± 0,031*	0,906 ± 0,041*	0,703 ± 0,028*	0,591 ± 0,019*
	II			0,871 ± 0,034*	0,234 ± 0,039*	0,479 ± 0,024*

Примечание. I – контрольная группа, II – опытная группа; * – достоверность отличия по отношению к нормальным показателям, $p < 0,05$, жирный шрифт – достоверность отличия по отношению к контролю, $p < 0,05$.

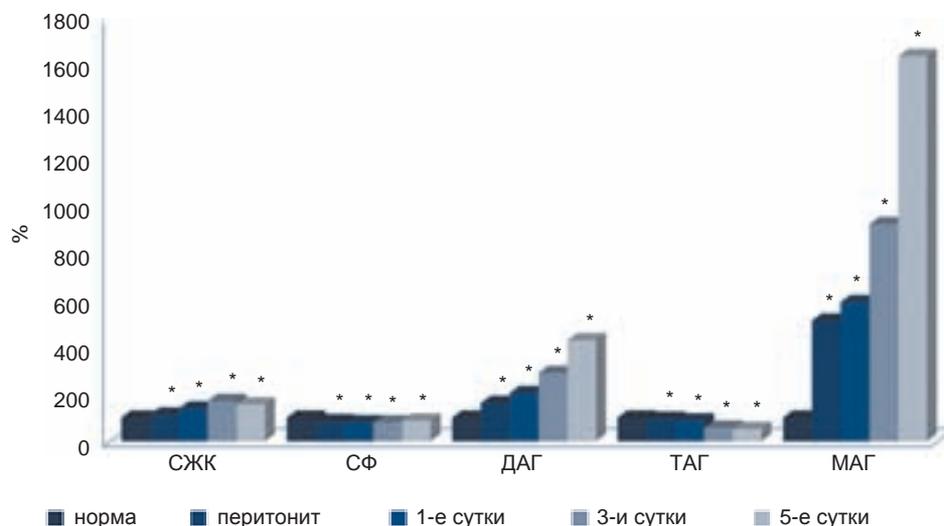


Рис. 1. Модификация липидного спектра в ткани головного мозга при токсическом поражении органа: * – достоверность отличия по отношению к исходу при $p < 0,05$; СЖК – свободные жирные кислоты; СФ – суммарные фосфолипиды; ДАГ – диацилглицеролы; ТАГ – триацилглицеролы; МАГ – моноацилглицеролы

кислоты при их высокой концентрации потенцируют процессы мембранодеструкции в клетках [1].

Таким образом, обнаруженные в ходе нашего исследования нарушения липидного метаболизма документируют о существенных дестабилизирующих явлениях клеток головного мозга. Безусловно, данные структурно-метаболические изменения являются одним из ключевых факторов в патогенезе повреждения центральной нервной системы при хирургическом эндотоксикозе.

В результате исследования выявлено уменьшение тяжести эндогенной интоксикации под влиянием низкоинтенсивного внутрисосудистого лазерного облучения крови. Зафиксировано статистически значимое снижение титра токсичных метаболитов в плазме крови в опытной группе по сравнению с животными, получавшими стандартную терапию. Так, уровень гидрофильных токсинов уменьшился на 14,54–31,49% ($p < 0,05$), гидрофобных – на 13,93–24,96% ($p < 0,05$). Выявлено достоверное уменьшение индекса токсичности плазмы крови – на 23,08–52,89% в группе животных, получавших комплексную терапию с применением внутрисосудистого

облучения крови. Необходимо отметить тот факт, что на заключительном этапе эксперимента индекс токсичности вследствие применения лазеротерапии достоверно не отличался от нормальных цифр.

Отмечено уменьшение удельного веса вторичных продуктов перекисного окисления липидов в церебральной ткани животных опытной группы. Доля спонтанного малонового диальдегида в финале исследования была достоверно ниже по сравнению с группой контроля – на 43,96% ($p < 0,05$). На пятые сутки послеоперационного периода титр индуцированного малонового диальдегида уменьшался по сравнению со значениями идентичного показателя в контрольной группе животных на 9,48% ($p < 0,05$).

Гелий-неоновое внутрисосудистое лазерное облучение крови положительно влияло на липидный метаболизм в ткани головного мозга животных (табл. 2). На пятые сутки после санации брюшной полости зарегистрировано снижение фосфолипазной активности в церебральной ткани на 21,05% ($p < 0,05$) по сравнению с показателями в группе контроля. В ткани головного

Таблица 2

Показатели липопероксидации и активность ферментов в ткани головного мозга при перитоните на фоне лазеротерапии ($M \pm m$), $n = 46$

Показатель	Группа	Исходные данные	Модель перитонита	Этапы послеоперационного наблюдения		
				1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
МДА, нмоль/г белка	I	25,05 ± 0,53	32,06 ± 0,61*	58,78 ± 0,68*	50,55 ± 0,59*	72,23 ± 0,94*
	II			57,38 ± 0,82*	51,18 ± 1,46*	40,48 ± 2,06*
Fe ²⁺ -МДА, нмоль/г белка	I	44,19 ± 0,25	53,63 ± 0,20*	76,44 ± 0,34*	72,42 ± 0,51*	74,44 ± 0,40*
	II			76,11 ± 2,59*	73,44 ± 0,42*	67,38 ± 0,57*
Активность ФЛ А ₂ , мкмоль/с/г белка	I	0,41 ± 0,02	0,79 ± 0,04*	0,85 ± 0,02*	0,89 ± 0,03*	0,80 ± 0,04*
	II			0,87 ± 0,03*	0,83 ± 0,04*	0,63 ± 0,03*
Каталаза, мгН ₂ О ₂ /мин/г белка	I	0,052 ± 0,003	0,100 ± 0,003*	0,092 ± 0,002*	0,030 ± 0,001*	0,054 ± 0,002
	II			0,101 ± 0,004*	0,037 ± 0,003*	0,066 ± 0,005
СОД, у. е.	I	18,79 ± 0,79	12,80 ± 0,51	7,69 ± 0,29*	9,12 ± 0,42*	12,58 ± 0,46*
	II			9,01 ± 0,41*	11,65 ± 0,45*	15,66 ± 0,53*

Примечание: I – контрольная группа; II – опытная группа; * – достоверность по отношению к нормальным показателям при $p < 0,05$; жирный шрифт – достоверность разницы между данными контрольной и опытной групп.

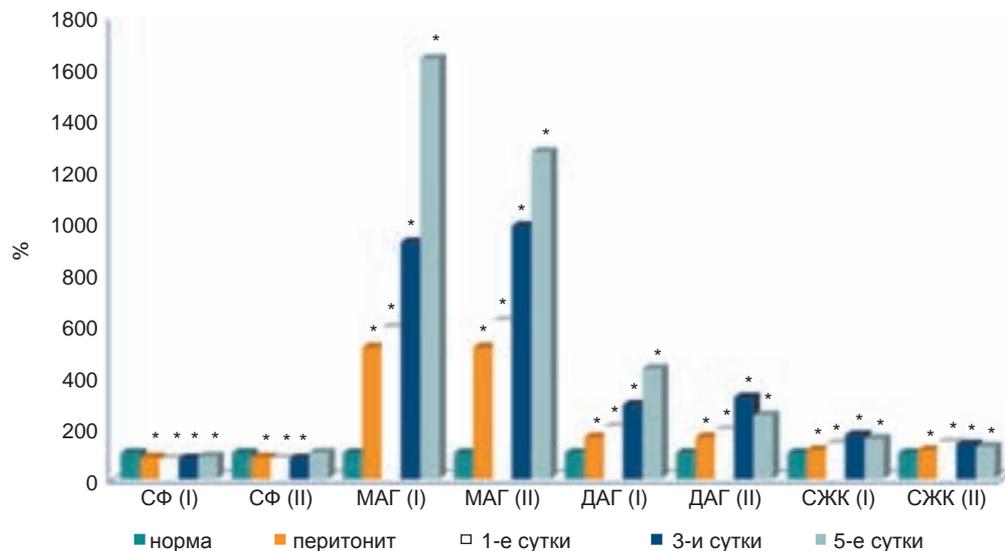


Рис. 2. Динамика соотношения липидных фракций на фоне применения лазеротерапии: * – достоверность отличия по отношению к исходному при $p < 0,05$; СФ – суммарные фосфолипиды; МАГ – моноацилглицеролы; ДАГ – диацилглицеролы; СЖК – свободные жирные кислоты

мозга животных опытной группы отмечено повышение энзимного потенциала супероксиддисмутазы на третьи и пятые сутки эксперимента соответственно на 27,76 и 24,48% ($p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о повышении собственного антиоксидантного потенциала нейрональной ткани под влиянием лазеротерапии.

Включение в комплексное лечение низкоинтенсивного лазерного облучения крови положительно отразилось на липидном спектре клеточных мембран нейроцитов. Внутрисосудистое лазерное облучение крови достоверно снижало содержание моноацилглицеролов, диацилглицеролов, свободных жирных кислот в финале исследования – на 22,18, 42,21 и 19,48% ($p < 0,05$) соответственно (рис. 2). Доля суммарных фосфолипидов в ткани головного мозга животных опытной группы статистически значимо возросла относительно показателей группы контроля – на 16,85% ($p < 0,05$).

Параллельно уменьшался удельный вес лизоформ фосфолипидов, фосфатидилинозита: на 19,48 и 12,44% ($p < 0,05$) соответственно, что свидетельствовало о тенденции к нормализации фосфолипидного спектра на пятые сутки. На заключительном этапе эксперимента титр фосфатидилхолина при применении внутрисосудистого лазерного облучения крови был статистически значимо выше контрольных цифр – на 19,69% ($p < 0,05$), достоверно не отличаясь от физиологических значений исследуемого показателя.

Выводы

Полученные экспериментальным путем результаты свидетельствуют об эффективности использования гелий-неонового внутрисосудистого лазерного облучения крови при синдроме эндогенной интоксикации. Положительный терапевтический эффект лазеротерапии обусловлен ее антиоксидантным действием, способностью уменьшать концентрацию токсичных продуктов перекисного окисления липидов в церебральной ткани.

Низкоинтенсивное внутрисосудистое лазерное облучение крови в послеоперационном периоде нивелирует фосфолипазную активность в ткани головного мозга.

Данные, полученные нами в результате исследования, верифицируют благоприятное действие низкоинтенсивного лазерного облучения крови на липидные перестройки в мембранах нейрональных клеток, стабилизируя состав фосфолипидного бислоя их мембран.

Таким образом, целесообразным представляется включение лазеротерапии в комплексное лечение синдрома эндогенной интоксикации перитонеального генеза с церебропротекторной целью.

Литература

1. Власов А.П., Трофимов В.А., Крылов В.Г. Системный липидный дистресс-синдром в хирургии. М.: Наука, 2009. 224 с.
2. Власов А.П., Шибитов В.А., Начкина Э.И. и др. Возможности предупреждения прогрессирования гемостатических расстройств при хирургической агрессии // *Фундаментальные исследования*. 2012. № 2. С. 39–43.
3. Матвеев С.Б., Федорова Н.В., Годков М.А. Оценка эндогенной интоксикации по показателям среднемoleкулярных пептидов при неотложных состояниях // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009. № 5. С. 16–18.
4. Непомнящих В.А., Ломиворотов В.В., Дерягин М.Н. Роль эндогенной интоксикации в развитии полиорганной дисфункции у кардиохирургических больных в раннем послеоперационном периоде // *Анестезиология и реаниматология*. 2011. № 6. С. 16–20.
5. Хорошилов С.Е., Никулин А.В. Эфферентное лечение критических состояний // *Общая реаниматология*. 2012. Т. VIII. № 4. С. 30–41.
6. Zehendner C.M., Librizzi L., Hedrich J. et al. Moderate hypoxia followed by reoxygenation results in blood-brain barrier breakdown via oxidative stress-dependent tight-junction protein disruption // *PLoS One*. 2013. Dec 6. DOI: 10.1371/journal.pone.0082823.
7. Jackman K.A., Zhou P., Faraco G. et al. Dichotomous effects of chronic intermittent hypoxia on focal cerebral ischemic injury. *Stroke*. 2014. Iss. 45 (5). P. 1460–1467.

Поступила в редакцию 03.04.2015 г.

Для контактов: Власов Алексей Петрович
E-mail: Vap.61@yandex.ru