

На правах рукописи

Нургалеева Елена Александровна

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАННЕГО И ПОЗДНЕГО
ЭНДОТОКСИКОЗА В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.03.03 – патологическая физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

17 ОКТ 2013



Москва – 2013



Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования "Российский университет дружбы народов" и Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

Еникеев Дамир Ахметович доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Решетняк Виталий Кузьмич чл.-корр. РАМН, доктор медицинских наук, профессор, зав. отделом общей патологии Федерального бюджетного государственного учреждения НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН

Войнов Владимир Антипович доктор медицинских наук, профессор профессор кафедры патофизиологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Радыш Иван Васильевич доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры нормальной физиологии, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов»

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «13» ноября 2013 года в ____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 212.203.06 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

Автореферат разослан «8» октября 2013 года

Ученый секретарь Диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Г.А. Дроздова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

Со времен первого многоцентрового отчета о реанимированных пациентах, опубликованного в 1954 году, прошло более 50 лет, однако уровень внутрибольничной летальности среди этой группы пациентов практически не изменился, несмотря на новые стандарты лечения (Nadkarni V.M., Larkin G.L., 2006). Согласно данным Национального регистра по сердечно-легочной реанимации США (National Registry of Cardiopulmonary Resuscitation — NRCPR) доля умерших пациентов в лечебных учреждениях после успешно проведенной сердечно-легочной реанимации составляет 67% среди взрослых (19 819 человек) и 55% среди детей (524 ребенка). Сопоставимые результаты приводят J.P. Nolan et al. (2007), J.E. Fugate et al. (2012). Среди наиболее распространенных причин госпитальной летальности рассматриваются поражения мозга, сердца, а также ишемически-реперфузионный ответ, ведущий к выраженным метаболическим нарушениям и формированию синдрома эндогенной интоксикации.

Клинике, патогенезу и лечению эндогенной интоксикации, в том числе в постреанимационном периоде, посвящено большое количество публикаций (Неговский В.А., 1986; Рябов Г.А. с соавт., 2002; Костюченко А.Л., 2004; Мороз В.В. и соавт., 2007; Долгих В.Т. и соавт., 2009; Bone R., 1996), однако в основном рассматривается эндотоксикоз в первые сутки после воздействия этиологического фактора. Исследователи, осуществляющие более длительный мониторинг постагрессивных состояний, выделяют вторую волну эндотоксинемии, в частности, при ожоговой болезни (Jeschke M.G., et al., 2004), при тяжелой черепно-мозговой травме (Епифанцев Н.Н. и соавт., 2008). В постреанимационном периоде ряд авторов тоже отмечали повторное ухудшение самочувствия пострадавших, выведенных из критического состояния (Заржецкий Ю.З. и соавт., 2003; Соколова Т.Ф. и соавт., 2006; Шаповалова В.В. и Семченко В.В. и соавт., 2008), однако механизм регистрируемых нарушений остается неясным.

Источники интоксикации при постагрессивных состояниях различного генеза однотипны: ишемизированные ткани с очагами деструкции, зоны естественной вегетации микрофлоры в организме. Пристальное внимание уделяется маркерам эндогенной интоксикации – веществам низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ), обладающим высокой биологической активностью, оказывающим негативное воздействие на деятельность органов и систем (Золотов А.Н. и соавт., 2003; Епифанцев Н.Н. и соавт., 2008; Долгих В.Т. и соавт., 2009; Куликова Н.Ю. и соавт., 2009). Однако длительный мониторинг их содержания после оживления не проводился. В развитии эндотоксикоза значительное место отводится процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ), рассматриваемым в качестве возможных механизмов цитолиза, и, соответственно, усиления катаболических процессов. Кинетика ПОЛ в длительном постреанимационном периоде, временные, количественные и амплитудные характеристики

этого процесса, а также степень вовлечения органов и тканей в процессы липопероксидации изучены недостаточно (Биленко М.В., 1989; Кашуро В.А. и соавт., 2006). В качестве дополнительного фактора формирования эндотоксикоза можно рассматривать микроциркуляторные нарушения, определяющиеся на протяжении длительного постреанимационного периода (Еникеев Д.А. и соавт., 2004). Сам эндотелий сосудов является структурой, активно секретирующей биологически активные субстанции и, в частности, цитокины. Дисрегуляция цитокинового баланса при критических состояниях вызывает синдром системного воспалительного ответа (Зильбер А.П., 2006) с развитием деструктивных процессов, что в еще большей степени усиливает эндотоксикоз и развитие полиорганной недостаточности (Левит Д.А., Лейдерман И.Н., 2006). Данных о влиянии про- и противовоспалительных цитокинов на динамику эндотоксинемии в постреанимационном периоде в литературе мы не обнаружили.

Эндогенная интоксикация усугубляется нарушением детоксикационных механизмов, которые, по данным Л.А. Тиунова (1995), включают в себя ряд взаимосвязанных реакций: биотрансформацию токсинов при участии цитохром Р-450 зависимых монооксигеназ, конъюгацию реактивных метаболитов и гидрофильных соединений и антиоксидантную защиту. Молекулярные механизмы расстройств детоксикационных процессов в постреанимационном периоде в литературе освещены недостаточно.

Приведенный круг нерешенных проблем определил актуальность, цель и задачи настоящего исследования.

Цель работы. Установить наиболее общие закономерности формирования раннего и позднего эндотоксикоза постреанимационного периода в эксперименте.

Задачи исследования:

1. Выявить особенности умирания, оживления, течения постреанимационного периода на двух моделях умирания у крыс и смертельной кровопотере у собак.
2. Определить уровень эндотоксикоза по содержанию ВНиСММ и олигопептидов в крови на 1-е, 3-и, 5-, 7-, 10-, 14-, 21-, 28- и 35-е сутки постреанимационного периода на двух моделях умирания у крыс.
3. Оценить состояние гипофизарно-адренало-тиреоидной системы у крыс при двух моделях умирания и проанализировать сопряженность гормонального дисбаланса с выраженностью эндотоксикоза постреанимационного периода.
4. Изучить активность свободно-радикального окисления, перекисного окисления липидов, систем антиоксидантной защиты и определить их значимость в механизмах формирования эндотоксикоза после оживления у крыс.
5. Определить содержание про- и противовоспалительных цитокинов с последующей оценкой взаимосвязей с уровнем эндотоксинемии и динамикой постреанимационного периода у крыс на двух моделях умирания.

6. Оценить роль гликозаминогликанов, глутатиона в процессах детоксикации организма в постреанимационном периоде.
7. Оценить характер расстройств микроциркуляции после перенесенной клинической смерти у собак и крыс с оценкой сроков формирования ишемически-реперфузионных изменений внутренних органов.
8. На основе полученных данных сформулировать концепцию механизмов формирования раннего и позднего эндотоксикоза в динамике постреанимационного периода (35 суток).

Научная новизна. Впервые с использованием принципов системного анализа выявленных на различных моделях умирания специфических биохимических и структурных нарушений со стороны органов и тканей установлены общие закономерности механизмов формирования и динамики эндотоксемии. Выявлены две волны усиления эндотоксикоза: в первые сутки и на 7-10-е сутки после оживления. Первичное усиление эндотоксемии при реперфузии ишемизированных тканей обусловлено массивным поступлением в системный кровоток накопленных в тканях продуктов нарушенного метаболизма, свободно-радикального окисления и липопероксидации, происходящее на фоне несостоятельности антирадикальной и антиоксидантной защиты, и развития иммунновоспалительных реакций. Вторая волна эндотоксинемии имеет причинно-следственные связи с развитием полиорганной недостаточности, расстройствами микроциркуляции, адаптационных механизмов, нарушением гормонального профиля и цитокинового статуса. Периоды усиления эндотоксинемии сопровождаются нарастанием расстройств ориентировочно-исследовательской деятельности, выражающихся в значительном угнетении всех ее параметров.

Получены новые данные об особенностях функционирования гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы в постреанимационном периоде. При первичном усилении эндотоксикоза отмечаются дизрегуляторные процессы центрального генеза, более выраженные при смертельной кровопотере, чем при пережатии сосудисто-нервного пучка и проявляющиеся в снижении выработки ТТГ на фоне низких значений Т3 и Т4. Аналогичные сдвиги гормонального профиля отмечаются и при вторичном усилении эндотоксинемии, но менее выражены по степени диссоциации и снижения концентрации гормонов. Установлена фазность колебаний гормонов оси гипоталамо-гипофиз-кора надпочечников, соответствующая динамике эндотоксинемии.

Впервые выявлены молекулярные и клеточные механизмы нарушений окислительно-восстановительных процессов, охарактеризована динамика реакций свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в длительном периоде после оживления. Динамика содержания сывороточных маркеров эндотоксинемии характеризуется синхронным усилением процессов липопероксидации в тканях головного мозга, печени, почек, легких и сердца. У животных, перенесших смертельную кровопотерю, выявленное ограничение активности

радикалообразования может быть обусловлено более значительными нарушениями микроциркуляции и оксигенации тканей.

Получены новые данные, свидетельствующие о повышении выраженности системной воспалительной реакции при усилении эндотоксинемии. На высоте первичной волны эндотоксинемии установлено повышенное содержание провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6) на фоне падения содержания противовоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-1РА), за исключением ИЛ-4. Аналогичные изменения цитокинового профиля были зарегистрированы при вторичном увеличении уровня эндотоксинов в крови на 10-е сутки.

Выявленный фазовый характер нарушений микроциркуляции в тканях головного мозга, печени, легких, в кишечнике, почках повторяет динамику эндотоксинемии с периодами усиления в первые и на 7-10-е сутки после оживления.

Показано нарушение механизмов детоксикации на протяжении всего периода наблюдения, проявляющееся в устойчивом снижении содержания восстановленной формы глутатиона и активности глутатионтрансферазы. Выявленная корреляция уровней ГАГ с интегральным индексом интоксикации отражает интенсификацию процессов деградации межклеточного матрикса при усилении эндотоксикоза. В более поздние сроки наблюдения высокое содержание ГАГ создает предпосылки для развития фиброза тканей органов.

Научно-практическая значимость. Полученные при проведении исследования результаты свидетельствуют о многофакторном характере формирования эндотоксинемии, имеющей определенную динамику в постреанимационном периоде. Обнаруженные существенные изменения в показателях гормонов, ПОЛ, цитокинового профиля, микроциркуляции, а также в реакциях обезвреживания эндотоксинов определяют необходимость непрерывного динамического наблюдения за пострадавшими на протяжении первых двух недель после оживления.

Доказанное наличие эндогенной интоксикации после перенесенной реанимации, коррелирующее с тяжестью течения постреанимационного периода, независимо от механизмов умирания обосновывает необходимость лабораторного мониторинга маркеров эндотоксинемии, а также применения методов и средств детоксикации в комплексной терапии больных.

Выявление ведущих патогенетических факторов формирования ранней и поздней эндотоксинемии служит теоретической основой для совершенствования принципов и подходов в клинической практике с целью прогнозирования и своевременного предупреждения развития тяжелых осложнений на отдельных этапах реабилитации пациентов, перенесших критические состояния.

Положения, выносимые на защиту

1. В динамике эндотоксикоза постреанимационного периода независимо от причины умирания прослеживаются общие закономерности, выражающиеся в

формировании двух волн усиления эндотоксемии: в первые трое суток и на 7 – 10-е сутки, обусловленные накоплением ВНиСММ в плазме крови и на эритроцитах преимущественно катаболического происхождения.

2. Расстройства неврологического статуса и ориентировочно-исследовательской деятельности крыс, сопровождающие течение всего постренимационного периода, имеют наибольшую выраженность, совпадающую по времени с двумя волнами эндотоксинемии.

3. Фазное течение эндотоксинемии протекает на фоне нарушений функционирования гипофизарно-тиреоидной -надпочечниковой систем дизрегуляторного центрального генеза, повторяющих динамику эндотоксинемии с периодами наибольшей выраженности на 1 – 3-и 7 – 10-е сутки.

4. Перенесенное терминальное состояние вызывает накопление продуктов перекисного окисления липидов в крови, головном мозге, сердце, легких, печени, почках, изменение уровня глутатиона и активности ферментов антиоксидантной защиты. Их направленность и выраженность определяются тяжестью течения постренимационного периода и фазами усиления эндотоксинемии.

5. Периоды подъема эндотоксинемии коррелируют с повышением содержания провоспалительных цитокинов, отражающих течение системного воспалительного ответа, микроциркуляторными нарушениями, а также высоким содержанием ГАГ в крови, являющихся компонентом соединительной ткани и маркером деструктивных процессов, происходящих в ней.

6. Усилению эндотоксинемии постренимационного периода способствуют нарушения детоксикационных механизмов в виде расстройств реакций глутатионовой и глюкуроноидной конъюгации.

Внедрение результатов исследования в практику. Материалы диссертации используются в учебной (научно-исследовательской) работе кафедр патофизиологии, биохимии, нормальной физиологии, патологической анатомии, военной и экстремальной медицины, кафедры анестезиологии и реаниматологии Башкирского государственного медицинского университета; кафедр патологической физиологии и биологической химии Тюменской государственной медицинской академии.

Апробация диссертации. Материалы диссертационной работы представлены на международных, всероссийских, региональных научно-практических конференциях: на III интернациональном конгрессе по патофизиологии (Финляндия, 1998), Международном симпозиуме, посвященном 90-летию со дня рождения академика РАМН В.А. Неговского (Москва, 1999), научно-практической конференции, посвященной 150-летию со дня рождения П.М. Альбицкого «Молекулярные механизмы типовых патологических процессов» (Санкт-Петербург, 2003), конференции «Основные общепатологические и клинические закономерности развития критических, терминальных и постренимационных состояний. Принципы их коррекции» (Москва, 2003), межрегио-

нальных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы патологии», «Типовые патологические процессы» (Уфа, 2004, 2005), 2-й Международной конференции «Патофизиология и современная медицина» (Москва, 2004), Всероссийской научной конференции с международным участием «Реаниматология – наука о критических состояниях» (Москва, 2006), Всероссийской научной конференции с международным участием «Критические и терминальные состояния, постреанимационная болезнь (патогенез, клиника, лечение)» (Москва, 2007), Российском симпозиуме с международным участием по патофизиологии и клинике экстремальных и терминальных состояний (Уфа, 2009), Всероссийской научно-практической конференции биохимиков и специалистов по лабораторной медицине (Омск, 2011).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 50 научных работ, в том числе 17 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 301 странице, содержит 53 таблицы и 85 рисунков. Список литературы включает 445 источников (294 отечественных авторов и 151 зарубежных).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основу экспериментальной работы составили хронические (5 недель) эксперименты на 910 половозрелых неинбредных крысах, перенесших клиническую смерть от пережатия сосудисто-нервного пучка (ПСНП) – первая группа и острой смертельной кровопотери (СК) – вторая группа, с последующим оживлением. В отдельной группе исследовались собаки (49 животных), у которых изучались особенности микроциркуляции головного мозга в постреанимационном периоде после острой кровопотери. Все исследования проведены в соответствии с этическими нормами (Приказ МЗ СССР №755 от 12.08.1977, «Европейская конвенция по защите позвоночных животных», Страсбург, 1985).

Острая остановка кровообращения воспроизведена по методике В.Г. Корпачева и соавт. (1982) на 450 крысах-самцах массой 180-200 г под общим эфирным наркозом. Сосудистый пучок сердца пережимали интраторакально без вскрытия грудной клетки специальным Г-образным крючком, считая началом клинической смерти момент пережатия. Через 6-7 минут с момента пережатия начинали реанимационные мероприятия: наружный массаж сердца и искусственную вентиляцию легких при помощи аппарата ИВЛ, создающего активный вдох и пассивный выдох, из расчета 1-1,5 мл воздуха на 100 г массы тела с частотой 35-40 вдохов в минуту.

В другой группе (460 крыс) использовалась модель острой смертельной кровопотери из сонной артерии, выполненной на фоне обезболивания (кетамин в дозе 0,25 мл на 100 г. массы и дополнительная дача эфирного наркоза). Время появления клинической смерти регистрировалось по последнему вдоху. К реанимационным мероприятиям приступали через 5 минут, нагнетая кровь внутриартериально. Искусственное дыхание проводилось аналогично первой модели.

Динамика общего состояния в обеих группах крыс оценивалась на протяжении 5 недель с использованием балльной оценки неврологического статуса по методу С.П. Лысенкова и соавт. (1982) в модификации Л.Т. Идрисовой и соавт. (1999). Исследование ВНД велось по уровню ориентировочно-исследовательской активности и эмоционально-психических реакций (тест «открытое поле»).

В группе собак в качестве модели умирания была использована острая одномоментная кровопотеря. Оживление проводилось аутогенной кровью по комплексной методике, предложенной В. А. Неговским с соавт. (1987).

В течение эксперимента по оживлению производилась запись в протоколе опыта уровня АД, времени угасания и появления дыхания, сердечной деятельности, роговичных рефлексов, биоэлектрической активности головного мозга, объема смертельной кровопотери. Наблюдение за общим состоянием животных велось в течение 5 недель после эксперимента с оценкой неврологического статуса животных по балльной системе с применением таблицы, предложенной Safar et al. (1976), и модифицированной А.М. Gurvitch (1983).

Эндотоксикоз оценивался по содержанию веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) и олигопептидов в плазме крови и на эритроцитах в соответствии с методикой М.Я. Малаховой (1996, 1999), а также с помощью расчетного коэффициента – интегрального индекса эндогенной интоксикации (ИИЭИ).

Гормональный профиль в плазме крови изучали радиоиммунологическим методом, определяя содержание общего и свободного трийодтиронина (Т3), общего и свободного тироксина (Т4), альдостерона, кортизола с использованием стандартных тест систем IMMUNOTECH (Чехия), а также иммунорадиометрическим методом, определяя содержание тиреотропного гормона (ТТГ) и адренотропного гормона (АКТГ) с помощью стандартных тест-систем IMMUNOTECH (Франция). Концентрацию соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-рп), изучали с использованием диагностических наборов производства ООО «Агат-мед» (Россия).

В гомогенатах тканей определяли содержание глутатиона восстановленного (Patterson et al., в модификации Путилиной Ф.Е., 1982), каталазы (Корольюк

М.А., 1988). Определение α -глутатион-S-трансфераз осуществлялось при помощи стандартных диагностических наборов Biotrin High Sensitivity Alpha GST EIA, фирмы «Biotrin» США для иммуноферментного количественного определения. Общую антиоксидантную активность (ОАА) оценивали калориметрическим методом с помощью стандартного тест-набора «Total antioxidant status» фирмы «Randox Laboratories» (Великобритания). В крови и гомогенатах тканей определяли содержание метаболитов оксида азота (Емченко Н.Л. и соавт., 1994). Содержание общих гликозаминогликанов (ГАГ) в плазме крови и тканях проводилось по методу П.Н. Шарая с соавт. (1990) с предварительной депротеинизацией образцов протеиназой К.

Изучение цитокинового профиля проводилось с применением стандартных диагностических наборов иммуноферментного анализа фирмы «Вектор бест». Исследовано содержание в крови альфа-фактора некроза опухоли (α -ФНО), интерлейкина-1 бета (ИЛ-1 β), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-1РА (ИЛ-1 РА), интерлейкина-2 (ИЛ-2).

С целью изучения интенсивности свободно-радикальных процессов проводили хемилюминесцентный анализ гомогенатов тканей (печени, почек, головного мозга, глазного яблока) и плазмы крови с использованием отечественного хемилюминомера ХЛ-003. Исследовали Fe^{2+} -индуцированную хемилюминесценцию по Ю.А. Владимирову (1992). Для оценки Fe^{2+} -индуцированной ХЛ определяли спонтанное свечение, амплитуду медленной вспышки, светосумму свечения. Обработку хемилюминограмм проводили с помощью специализированной компьютерной программы по Р.Р. Фархутдинову и В.А. Лиховских (1995). Величины показателей выражали в условных единицах (у.е.).

Для выявления нарушений структуры и расстройств микроциркуляции было проведено гистологическое исследование препаратов головного мозга, сердца, почек, печени, брюшечки, легких крыс, перенесших клиническую смерть на двух моделях умирания на 1-е, 3-и, 5-, 7-, 10-, 14-, 21-, 28- и 35-е сутки постреанимационного периода. Забой животных осуществляли под эфирным наркозом одномоментной декапитацией. Исследуемые органы фиксировали в 10% нейтральном формалине, микротомные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. В последующем проводили световую микроскопию при помощи микроскопа с фотонасадкой и компьютерной обработкой «Микромед 3».

Исследование микрососудов мягкой мозговой оболочки собак проводили в на 1-е, 3-и, 7-, 10-, 14-, 21-, 28- и 35-е сутки постреанимационного периода после забоя животных под внутривенным гексеналовым наркозом, электротравмой в 220 В. Пиальную оболочку головного мозга фиксировали в 10% нейтральном формалине на фосфатном буфере. Тотальные препараты мягкой

мозговой оболочки собак, брыжейки крыс импрегнировали азотнокислым серебром по методу В.В. Куприянова. Измеряли диаметры сосудов микроциркуляторного русла мягкой мозговой оболочки в пределах модуля по следующим функциональным звеньям: артериолы, капилляры и венулы.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Statistica 6.0 (2001). Описательная статистика данных приводилась в виде среднего квадратичного отклонения $M \pm m$. Полученные данные обрабатывались вариационно-статистическим методом с использованием *t*-критерия с оценкой по таблице Стьюдента. При ненормальном распределении результаты представляли в виде медианы значений и межквартильного интервала (Me [25%; 75%]). Сравнение групп проводили с использованием непараметрического (критерий *U*) Манна–Уитни) метода. Для выявления связи признаков использовался корреляционный анализ по Спирмену.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В модели крыс, перенесших смертельную кровопотерю (СК), доля успешной реанимации составила 73,4% (330 крыс), а в группе животных после пережатия сосудисто-нервного пучка (ПСНП), была выше – 85,4% (393 крысы). После оживления в группе СК погибло 137 крыс, из которых 29,9% (41 крыса) – в первые 6 часов, еще 54% животных (74 крысы) – к концу первых суток, и 16,1% (22 крысы) – в поздние сроки. В группе ПСНП в постреанимационном периоде погибло 113 особей (28,8%). В структуре умерших после оживления животных на первые сутки приходится 85,0 % (96 крыс) и на поздние сроки – 15,0 % (17 крыс). Постреанимационный период в группе после перенесенной СК протекал тяжелее: позднее, чем при ПСНП, восстанавливалась сердечная деятельность и дыхание, отмечался более выраженный неврологический дефицит во все сроки наблюдения (рис. 1). В первые часы после оживления животные находились в угнетенном состоянии, отсутствовали произвольные движения, болевой рефлекс. Отчетливая положительная динамика отмечалась с конца первых суток эксперимента, неврологический дефицит уменьшился и составил $56,14 \pm 2,94$ балла, а к концу вторых суток животные начали переворачиваться, пытались удержать позу, самостоятельно принимать воду и пищу. К седьмым суткам поведение крыс практически не отличалось от нормы, неврологический дефицит составлял $5,18 \pm 0,96$ балла, хотя очаговые нарушения в виде выпадения отдельных рефлексов выявлялись вплоть до 35-х суток.

В серии экспериментов после ПСНП (рис.1) в первые часы после оживления неврологический дефицит проявлялся в виде атаксии, нарушения тонуса мышц конечностей, индифферентности к пище и воде, периодически отмечались клонические судороги.

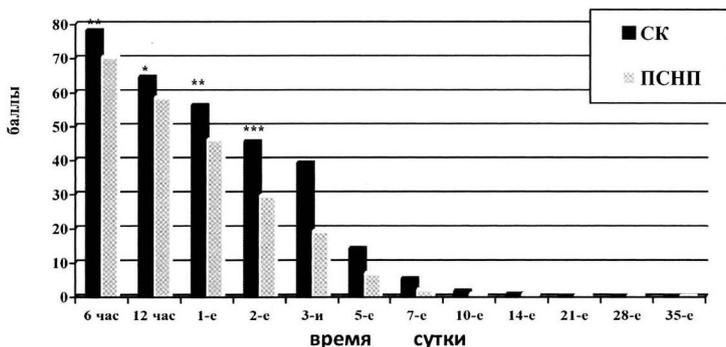


Рис. 1. Динамика неврологического дефицита в постреанимационном периоде у экспериментальных крыс. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия в исследуемых группах.

К окончанию 3-х суток неврологический дефицит становился незначительным, а к концу 5-х суток практически исчезал, составляя $6,75 \pm 1,32$ балла, что достоверно отличалось от модели СК ($p = 0,008$). Следовательно, ранний период в модели крыс с ПСНП протекал несколько легче, что объясняется более кратковременным периодом умирания.

В первые сутки ориентировочно-исследовательская деятельность в обеих экспериментальных группах характеризовалась значительным угнетением всех ее составляющих – животные длительное время находились в полной неподвижности, горизонтальная и вертикальная активности были минимальными (рис.2). Повышение двигательной активности крыс было отмечено на 3-и сутки, однако в группе после СК показатели оставались достоверно ниже исходных, а в группе после ПСНП значения достоверно превышали контроль. У 6% реанимированных крыс в группе ПСНП возник приступ психомоторного возбуждения на звуковой или болевой раздражитель, вплоть до приступов тониклонических судорог, что свидетельствовало о повышенной судорожной готовности мозга.

В модели ПСНП на 5 -, 7-е сутки повышение вертикальной активности животных сопровождалось усилением эмоциональной напряженности, поскольку продолжительность и интенсивность груминга превышали показатели контроля в 3 раза ($p = 0,0008$), что, по мнению Г.Н. Крыжановского (2008), может явиться причиной отсроченной энцефалопатии.

Показатели большинства элементов исследовательского поведения животных обеих групп повторно снизились к 10-м суткам постреанимационного периода по сравнению с группой контроля.

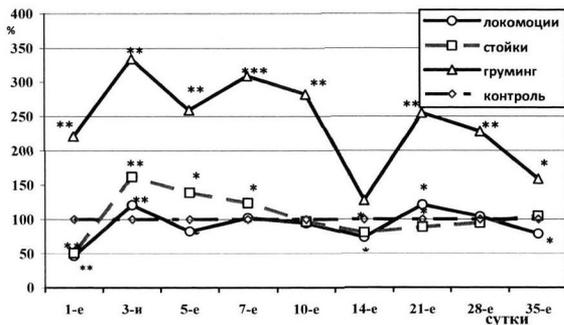


Рис. 2. Показатели ориентировочно- исследовательской деятельности крыс в постреанимационном периоде (% к контролю) при ПСНП. *- $p < 0,05$, **- $p < 0,01$, ***- $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем, принятым за 100%

В группе после СК в эти сроки снижение показателей двигательной активности происходило на фоне повышения эмоциональной напряженности. После 14-х суток двигательная и эмоциональная составляющие постепенно восстанавливались, хотя полной нормализации не происходило до конца периода наблюдения, что объясняется формированием нейронных сетей с признаками патологической активности головного мозга.

Несмотря на различные модели умирения, динамика эндотоксикоза постреанимационного периода была сходной при обеих моделях, что свидетельствует о наличии общебиологических механизмов выхода организма из постагрессивных состояний. Так, после клинической смерти вследствие ПСНП содержание ВНиСММ в плазме крови было достоверно повышено во все сроки постреанимационного периода, однако наибольшим – в 1,9-2,0 раза оно было на 1-е и 3-и сутки. В модели СК подъем на 1-е сутки был еще более выраженный – в 3,2 раза ($p=0,0002$). Повышение уровня содержания олигопептидов регистрировалось как на эритроцитах, так и в плазме, в среднем на 20-30%. ИИЭИ вырос в группе СК в 3 раза, а в группе ПСНП в 2,1 раза. Эндотоксемия первых суток после оживления возникает за счет выходом эндотоксинов из ишемизированных тканей в сосудистое русло с восстановлением кровотока (Закс И.О. с соавт., 1984). Первоначальное накопление ВНиСММ обнаруживается в тканях тонкого и толстого кишечника (Храмых Т.П., Долгих В.Т., 2009), но уже через 2 часа их содержание в этих органах падает из-за удаления кровотоком, и следует повышение уровня токсинов в печени, легких, селезенке.

Некоторый спад явлений эндотоксинемии наблюдался на 5- и 7-е сутки постреанимационного периода, когда в группе ПСНП содержание ВНиСММ

уменьшилось на 23% в плазме, но при этом оставалось выше контроля в 1,6-1,7 раз, на 31% снизился ИИЭИ. В группе СК падение ИИЭИ было менее значительным – на 17% от показателей первых суток.

Второй подъем уровня эндотоксинемии регистрировался в модели СК на 7-е сутки (в 2,0 раза), еще больше увеличивался на 10-е сутки (в 2,7 раза), а в другой модели был несколько меньшим – в 1,7 раза – и происходил на 10-е сутки после оживления (рис.3). ИИЭИ по сравнению с предыдущими сроками (5-, 7-е сутки) увеличился в группе ПСНП на 72%, а в группе СК на 66%. Летальность в группе ПСНП составляла 4,7% от общей летальности в постреанимационном периоде и 7,2 % в группе СК.

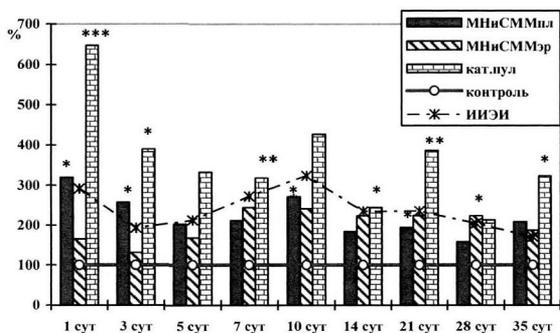


Рис. 3. Показатели эндотоксикоза при СК. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем

В последующие сроки содержание токсических субстанций в плазме до конца периода наблюдения превышало исходные параметры в 2,1 раза в группе СК, и в 1,4-1,6 раз в группе ПСНП. На эритроцитах содержание ВНиСММ на протяжении периода наблюдений также было значимо повышено и в целом повторяло динамику содержания эндотоксинов в плазме в обеих группах. Следовательно, эндотоксикоз в постреанимационном периоде носит затяжной характер.

В профиле спектрограммы плазмы крови, особенно в первые сутки, максимум экстинкций при обеих моделях был смещен с длин волн 282 нм на длины волн 242 нм и 246 нм (рис.4). В области 240-250 нм поглощают моноамино-монокарбоновые аминокислоты, которые могут быть продуктами катаболизма собственных белков организма, что подтверждается высоким процентом катаболического пула в обеих группах.

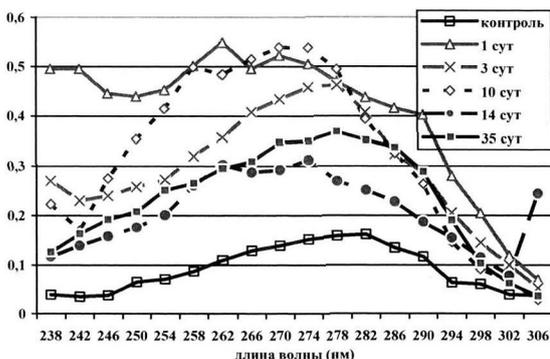


Рис. 4. Спектрограмма плазмы крови после СК.

На фоне эндотоксикоза постреанимационного периода отмечались сдвиги в деятельности эндокринной системы при различных моделях умирания, которые особенно ярко проявлялись при первой волне эндотоксинемии. Так, в группе после СК регистрировалась гиперкортизонемия при повышенном уровне АКТГ, гиперальдостеронемия, что является постстрессовой реакцией организма на перенесенную кровопотерю (рис.5). Аналогичная картина наблюдалась на модели умирания от ПСНП.

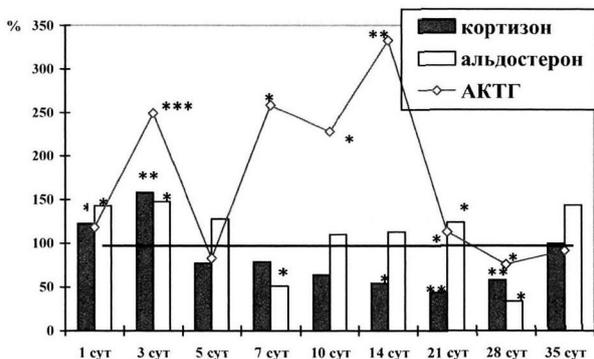


Рис.5. Гормоны гипофизарно-надпочечниковой системы при СК. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

Повышенное содержание АКТГ вновь было отмечено в обеих экспериментальных моделях на 7-14-е сутки после оживления, однако гормоны, синтезирующиеся под его влиянием в надпочечниках (кортизол), не демонстрировали достоверных различий в содержании (рис.5). К концу периода наблюдения

кортизол был достоверно ниже при обеих моделях умирания, что свидетельствует об истощении надпочечников.

Кроме расстройств, выявленных в системе гипофиз-кора надпочечников, наблюдались нарушения в системе гипофиз-щитовидная железа. При СК обращает внимание снижение общей и свободной фракций гормона Т3 и свободной фракции гормона Т4 до 5-х суток (рис.6). Развитие гипотиреоза при терминальных состояниях большинством авторов рассматривается как вариант неблагоприятного течения постреанимационной патологии (Волков А.В. и соавт., 1997, 2001). На этом фоне оставались низкими и значения ТТГ, что свидетельствует о дизрегуляторных процессах центрального генеза. Тяжесть состояния после реанимации коррелировала с содержанием гормонов щитовидной железы: на 1-е сутки с Т4общ ($r=-0,59$; $p\leq 0,05$), Т4своб ($r=-0,95$; $p\leq 0,05$), Т3общ ($r=-0,92$; $p\leq 0,05$), Т3своб ($r=-0,86$; $p\leq 0,05$), на 3-и сутки с Т4своб ($r=-0,90$; $p\leq 0,05$), Т3общ ($r=-0,67$; $p\leq 0,05$), Т3своб ($r=-0,86$; $p\leq 0,05$). Корреляционный анализ показал наличие отрицательной связи ИИЭИ с содержанием гормонов щитовидной железы: на 1-е сутки с Т3общ ($r=-0,89$; $p\leq 0,05$), Т3своб ($r=-0,59$; $p\leq 0,05$), на 3-и сутки с Т4своб ($r=-0,89$; $p\leq 0,05$).

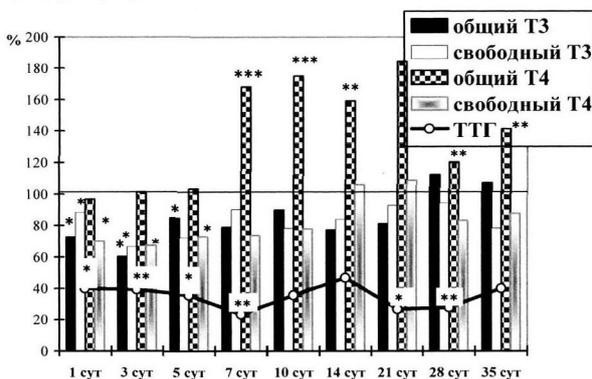


Рис.6. Гипофизарно-тиреоидные гормоны при СК. *- $p < 0,05$, **- $p < 0,01$, ***- $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

В группе после перенесенной клинической смерти от ПСНП в 1-е и 3-и сутки центральная регуляция функции щитовидной железы сохранялась, однако к 5-7-м суткам отмечалось угнетение выработки гормонов. Корреляционный анализ также показал наличие сильной отрицательной связи между тяжестью состояния и содержанием на 1-е сутки Т4общ ($r=-0,89$; $p\leq 0,05$), Т4своб ($r=-0,88$; $p\leq 0,05$), Т3общ ($r=-0,91$; $p\leq 0,05$), Т3своб ($r=-0,92$; $p\leq 0,05$), Т3связ ($r=-0,74$; $p\leq 0,05$), на 3-и сутки Т4общ ($r=-0,76$; $p\leq 0,05$), Т4своб ($r=-0,90$; $p\leq 0,05$), Т3своб

($r=-0,91$; $p\leq 0,05$). ИИЭИ находился в обратной корреляционной зависимости на 1-е сутки от содержания тиреотропина ($r=-0,71$; $p\leq 0,05$), ТЗобщ ($r=-0,72$; $p\leq 0,05$), а на 3-и сутки от содержания тиреотропина ($r=-0,92$; $p\leq 0,05$) и Т4своб ($r=-0,88$; $p\leq 0,05$), ТЗсвяз ($r=-0,76$; $p\leq 0,05$).

Резкое повышение содержания общей фракции гормона Т4, свидетельствующее об усилении гормональной активности щитовидной железы, отмечалось к 7-10 м суткам после оживления. На фоне вторичного усиления эндотоксинемии гормональная регуляция претерпела некоторые изменения, особенно в группе ПСНП, где отмечалось восстановление функционирования оси гипофиз/щитовидная железа на фоне повышения выработки тиреоидных гормонов. В группе СК при восстановлении синтеза тироксина, наблюдалась тенденция к снижению Т4своб, ТЗобщ, ТЗсвоб, что является отражением нарушения процесса монодейодирования Т4 в периферических тканях (Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 2007). Корреляционный анализ показал наличие отрицательных связей в группе ПСНП между ИИЭИ и Т4общ на 10-е ($r=-0,82$; $p\leq 0,05$) и 14-е сутки ($r=-0,86$; $p\leq 0,05$), ТЗобщ на 14-е сутки ($r=-0,76$; $p\leq 0,05$), ТЗсвоб на 10-е ($r=-0,86$; $p\leq 0,05$) и 14-е сутки ($r=-0,75$; $p\leq 0,05$). В группе СК отрицательные связи с ИИЭИ были отмечены с содержанием ТЗсвоб на 10-е ($r=-0,62$; $p\leq 0,05$) и 14-е сутки ($r=-0,78$; $p\leq 0,05$), Т4общ на 10-е сутки ($r=-0,69$; $p\leq 0,05$), ТЗобщ на 14-е сутки ($r=-0,79$; $p\leq 0,05$). Резюмируя вышесказанное можно заключить, что недостаток тиреоидных гормонов по-прежнему играет важную роль в усилении эндотоксинемии.

В происхождении токсической агрессии в настоящее время важная роль отводится активации процессов СРО и ПОЛ (Румянцева С.А. с соавт., 2009). Пул молекул средней массы частично формируется в результате протеолитической деградации белков плазмы и мембранных белков клеточных элементов крови (Рябов Г.А., 2002) под действием АФК или продуктов ПОЛ. Предварительная окислительная модификация белков плазмы повышает интенсивность протеолиза, что проявляется у больных, находящихся в критических состояниях (Рябов Г.А. с соавт., 2000; Пивоварова Л.П. с соавт., 2008), а вероятность избыточного развития процессов ПОЛ возрастает параллельно углублению эндогенной интоксикации любого происхождения (Рябов Г.А. с соавт., 2002; Остапенко Д.А. с соавт., 2007).

Проведенное изучение процессов СРО и ПОЛ выявило их различные амплитудные и временные характеристики в различных органах и в крови. В плазме крови в постреанимационном периоде после клинической смерти от ПСНП происходило усиление процессов ПОЛ, что подтверждалось накоплением ТБК-рп. Достоверное увеличение соединения происходило на 1-е –3-и сутки, и повторный рост был отмечен с 7-х суток после оживления. Наблюдалась по-

ложительная корреляционная связь между уровнем вторичных метаболитов ПОЛ в сыворотке крови и тяжестью реанимированных животных, как на 1-е ($r=0,95$; $p \leq 0,05$), так и на 3-и сутки ($r=0,91$; $p \leq 0,05$), а также между ИИЭИ и содержанием ТБК-рп ($r=0,64$; $p \leq 0,05$).

Со стороны хемилюминесценции регистрировалось увеличение показателей спонтанной светимости, характеризующей базовый уровень СРО, а показатели светосуммы и амплитуды медленной вспышки в плазме крови были ниже контроля до 21-х суток постреанимационного периода. Выявленное снижение изучаемых показателей связано, очевидно, с присутствием в плазме большого количества ВНиСММ, которые «гасят» железоиндуцированную хемилюминесценцию.

О значительной роли усиления процессов липопероксидации в поддержании высокого уровня эндотоксемии свидетельствует наличие сильных связей в группе ПСНП между ИИЭИ и содержанием ТБК-рп в плазме крови на 5-е ($r=0,91$; $p \leq 0,05$) и 7-сутки ($r=0,65$; $p \leq 0,05$). В группе СК интегральный индекс интоксикации коррелировал с содержанием ТБК-рп в сыворотке на 5-е сутки ($r=0,75$; $p \leq 0,05$).

При вторичном усилении эндотоксемии ИИЭИ положительно коррелировал в модели ПСНП с содержанием ТБК-рп в плазме крови на 10-е сутки ($r=0,74$; $p \leq 0,05$), а в группе СК связи были отрицательными как на 10-е ($r=-0,76$; $p \leq 0,05$), так и на 14-е сутки ($r=-0,66$; $p \leq 0,05$).

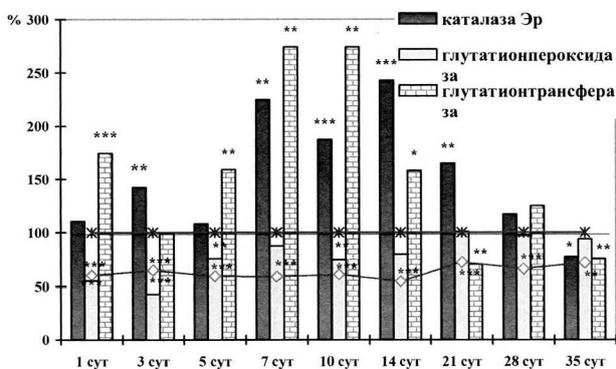


Рис. 7. Показатели антиоксидантной активности крови при ПСНП. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

Ферменты антирадикальной защиты крови, в частности, каталазная активность эритроцитов в постреанимационном периоде после ПСНП в первые

сутки имела тенденцию к росту, а на 3-и сутки была достоверно выше контрольных значений на 43,7% ($p=0,0025$) (рис.7). Повторное повышение активности энзима произошло на 7-е сутки – в 2,3 раза и сохранялось вплоть до 21-х суток постреанимационного периода. К 28-м суткам уровень каталазной активности снизился до контрольных величин, а к концу периода наблюдения отмечалось достоверное снижение каталазной активности на 28% ($p=0,0065$). Другой фермент – глутатионпероксидаза, катализирующий восстановление пероксида водорода до O_2 и H_2O , в группе ПСНП был угнетен до 21-х суток, а в последующем приближался к значениям контрольной группы.

Общая антиоксидантная активность была значимо низкой во все сроки постреанимационного периода в обеих группах, причем снижение на протяжении всего периода наблюдения составляло от 20 до 40%.

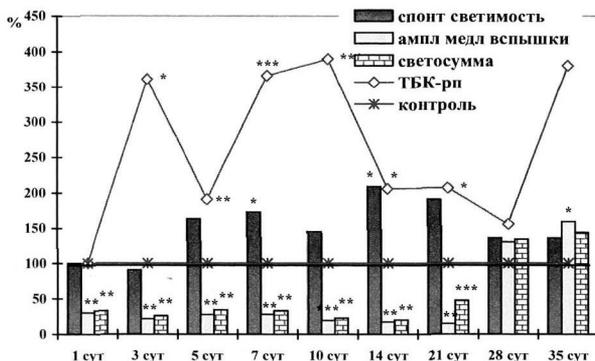


Рис. 8. Показатели СРО в плазме крови при СК. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

Анализ показателей хемилюминисценции плазмы крови в постреанимационном периоде после СК показал, что спонтанная светимость в течение первых трех суток по сравнению с контролем практически не изменялась, а на 7- и 14-е сутки отмечался достоверный рост (рис.8). Показатели амплитуды медленной вспышки с первых суток постреанимационного периода были достоверно снижены до 30,2% от исходного уровня, с регистрацией минимальных значений на 14- и 21-е сутки (17,6% и 14,8% соответственно) и лишь к концу периода наблюдения были выше контроля. Обработка данных светосуммы выявила схожую картину. Содержание ТБК-рп во все сроки наблюдения значимо повышено в плазме крови, за исключением 28-х суток, когда выявлялась лишь тенденция.

Высокие показатели ПОЛ наблюдались на фоне нарушений в деятельности ферментов антирадикальной защиты. Так, каталазная активность была на

19,4% ниже контрольных значений на 1-е сутки ($p=0,0126$). Однако во все последующие сроки она была достоверно высокой, причем наиболее существенный рост был отмечен на 3-и (в 1,7 раз) и 21-е (в 1,6 раза) сутки после оживления.

Анализируя процессы СРО и ПОЛ в головном мозге, логичным было ожидать резкое их усиление после ишемии-реперфузии (Зильбер А.П., 2006). Этому способствует высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот, являющихся основными субстратами ПОЛ – преимущественно арахидоновой и докозгексаеновой (Dringer R. et al. 2000), более высокая оксигенация по сравнению с другими органами (Clarke D.D. et al. 1999), значительное содержание ионов металлов с переменной валентностью – железа, меди (Gerlach M., 1994), низкая активность специализированных ферментных систем и недостаточный уровень эндогенных низкомолекулярных антиоксидантов (Суслина З.А. и соавт., 2007). Однако содержание ТБК-рп в первые сутки после оживления имело лишь тенденцию к росту в обеих группах, но на 3-и сутки повышение стало достоверным – в группе ПСНП на 26,7%, а в группе СК еще более выраженным – на 52,7%. Корреляционный анализ показал наличие отрицательной связи между тяжестью состояния экспериментальных животных и содержанием ТБК-рп в группе после СК: на 1-е сутки ($r=-0,65$; $p\leq 0,05$), а на 3-и ($r=-0,46$; $p\leq 0,05$).

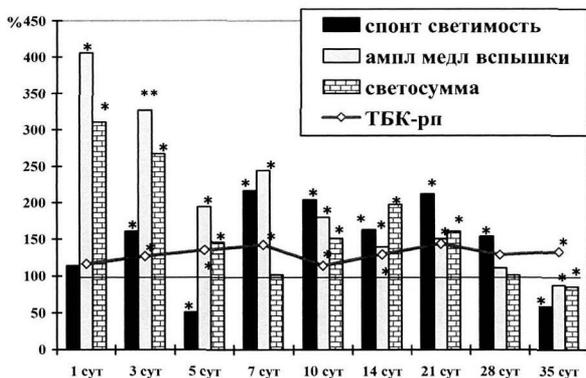


Рис. 9. Показатели СРО в тканях головного мозга при ПСНП. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

Показатели хемилюминесценции ткани мозга в постреанимационном периоде после ПСНП демонстрировали повышение спонтанной светимости к 3-м суткам на 61,2%, ($p=0,0025$) к уровню контроля и повторное увеличение на 7-е - 10-е сутки после оживления на 216% ($p=0,0025$) и 200% ($p=0,0233$) соответственно, что совпадало со второй волной эндотоксикоза (рис.9). Третий подъем

приходился на 21-е сутки – более чем двукратное повышение. В тканях мозга амплитуда медленной вспышки была увеличена практически во все сроки, но наиболее выраженным оно было на 1-3-и сутки постреанимационного периода. Второе, менее отчетливое, но достоверное повышение наблюдалось на 7- 10-е сутки, а третий всплеск активности на 21-е сутки после оживления. Светосумма изменялась аналогично. Однако лишь параметры хемилюминесценции соответствовали динамике эндотоксинемии, в то время как уровень ТБК-рп при данной модели на высоте эндотоксинемии хотя и превышал исходные величины, но в сравнении с другими сроками был ниже.

В постреанимационном периоде после СК данные хемилюминесценции ткани мозга демонстрировали иную динамику, поскольку спонтанная светимость была либо снижена, либо имела тенденцию к повышению, аналогичные изменения были характерны и для амплитуды медленной вспышки и для параметра светосуммы (рис.10). Вероятнее всего, это связано с более выраженными расстройствами микроциркуляции в коре головного мозга крыс после перенесенной СК, из-за чего нарушается доставка кислорода к тканям мозга и, как следствие, снижаются процессы ПОЛ в веществе мозга (Шаповалова В.В., Семченко В.В., 2008). Содержание ТБК-рп в мозге крыс в данной модели было увеличено во все сроки наблюдения по сравнению с контрольными, а значимым повышение было до 14-х суток и на 35-е сутки после оживления. При сравнении групп достоверные различия в содержании ТБК-рп в тканях мозга не выявлялись.

Вторая волна редукции кровотока на 10-14-е сутки происходила вследствие сужения рабочего просвета сосудов, увеличения степени искривления микрососудов и снижения численной плотности капилляров на фоне пролиферации перикапиллярной астроглии.

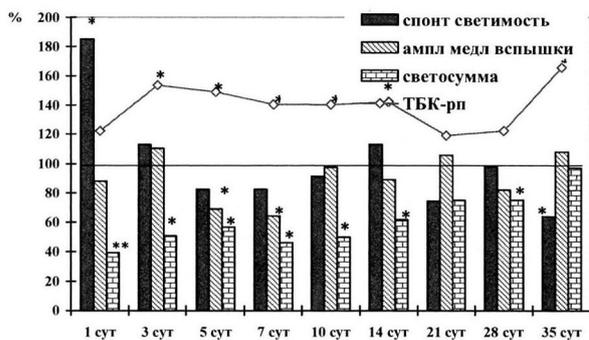


Рис. 10. Показатели СРО в тканях головного мозга при СК. *- $p < 0,05$, **- $p < 0,01$, ***- $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

При анализе динамики изменений фермента антирадикальной защиты каталазы – хотя ее содержание в веществе мозга невелико – была отмечена однонаправленная фазность изменений её активности до 10-х суток после оживления в обеих группах. Первый подъем активности каталазы в веществе мозга наблюдался на 1-е сутки после оживления, что соответствовало первому подъему эндотоксемии, второй более выраженный подъем был отмечен на 7-е сутки, что также совпадает с началом второй волны повышенного накопления токсических молекул. В первые сутки выявлялась прямая зависимость между показателем ИИЭИ и активностью каталазы ($r=0,72$; $p\leq 0,05$), а на 3-и сутки обратная ($r=-0,89$; $p\leq 0,05$). Однако и в более поздние сроки активность фермента в группе СК остается по-прежнему повышенной, что свидетельствует об активном течении процессов свободнорадикального окисления в тканях мозга.

Другое ключевое соединение антирадикальной защиты в веществе мозга – восстановленный глутатион, также претерпевал существенные изменения. Так, отмечалось выраженное достоверное снижение его уровня, особенно в группе ПСНП, во все сроки наблюдения за исключением 35-х суток. В группе СК четко регистрировалась фазность изменений, проявляющаяся в достоверном снижении содержания метаболита как при первой волне эндотоксинемии, так и при второй. Следует отметить, что содержание данного соединения в группе ПСНП по сравнению с группой СК было достоверно ниже в периоды между подъемами эндотоксинемии, что свидетельствует о его интенсивном расходовании на конъюгацию с токсическими метаболитами и на переход в окисленную форму, так как в данной модели умирания процессы СРО протекают более интенсивно.

Параллельно с изучением процессов, происходящих в нервной ткани, мы осуществляли исследование глазного яблока, так как эмбриогенетически пигментный эпителий сетчатки относится к первой пигментной системе, имеющей одинаковый источник с нейронами мозга (Афанасьев Ю.И., 2006). Кроме того, головной мозг и сетчатка обладают общностью кровоснабжения и схожестью в ряде биохимических параметров, в связи, с чем клиницисты часто используют сосуды глазного дна для диагностики нарушений кровоснабжения головного мозга (Yargicoglu P. et al., 2004). Наиболее выраженные нарушения параметров хемилюминесценции в тканях глазного яблока отмечались именно в ранние сроки (до 3-х суток) после оживления при СК. В этот период на фоне достаточно низкого базального уровня ПОЛ уровень медленной вспышки, являющийся косвенным индикатором вовлечения в патологический процесс клеточных мембран и повреждения, в первую очередь, фосфолипидных молекул, был значимо выше контроля. Подобная реакция была характерна и для светосуммы. Следовательно, хемилюминесценция мозга и глазного яблока демонстрирует схожие результаты в группе после СК. После клинической смерти от ПСНП спонтанная светимость была либо ниже контрольных значений, либо прибли-

жалась к ним, показатели амплитуды медленной вспышки и светосуммы были повышены до 5-х суток, затем до 14-х оставались на уровне контроля, а в дальнейшие сроки значимо выше его. Однако содержание ТБК-рп было в первые сутки выше контроля при обеих моделях умирания, а в последующие сроки наиболее выраженное накопление шло в модели ПСНП. В модели СК накопление вторичных метаболитов СРО отмечалось в первые пять суток после оживления, причем наиболее выраженным (в 1,6 раза) превышение было на 3-и сутки, значимым было и повышение содержания ТБК-рп к 35-м суткам после оживления. Таким образом, процессы СРО в тканях глазного яблока в постреанимационном периоде при СК активнее протекают в течение первой недели после оживления, а в группе после ПСНП начиная с 10-х суток и до конца периода наблюдения. При сравнении активности каталазы при двух моделях умирания выявлялось более резкое ее повышение в группе ПСНП именно на высоте эндотоксинемии, как первом ее повышении (1-3-и сутки), так и при повторном – на 10-14-е сутки. Однако следует отметить 7-е сутки, когда регистрировался пик активности каталазы в группе после перенесенной СК.

Изучение процессов СРО в ткани печени крыс на модели умирания от ПСНП показало, что из числа показателей хемилюминесцентного анализа только спонтанная светимость повторяла динамику эндотоксикоза. В то же время амплитуда медленной вспышки и светосумма лишь в первые сутки достоверно превышали исходные значения, а в последующие сроки, особенно на второй волне эндотоксикоза, были значимо ниже. По всей видимости, это связано с накоплением ВНиСММ в органах, а в постреанимационном периоде эндотоксины преимущественно накапливаются в печени, почках, легких (Храмых Т.П., Долгих, В.Т., 2009).

Показатели железоиндуцированной хемилюминесценции демонстрируют низкие значения при накоплении ВНиСММ, так как они связывают ионы Fe^{2+} , которые добавляются для инициирования окисления, в результате снижается их каталитическая активность и, следовательно, падает интенсивность хемилюминесценции (Фархутдинов Р.Р. и соавт., 2011).

Данные хемилюминесценции ткани печени после СК показывали усиленные спонтанной светимости на 1-е – 3-и, 10- и 21-е сутки постреанимационного периода, что соответствовало двухфазному течению эндотоксинемии после оживления (рис.11).

Следует отметить, что значения амплитуды медленной вспышки и светосуммы были несколько увеличены при первой волне эндотоксикоза на 1-е и 3-и сутки, так как детоксицирующая способность печени была относительно сохранена в эти сроки и эндотоксины, в том числе ВНиСММ, активно связывались.

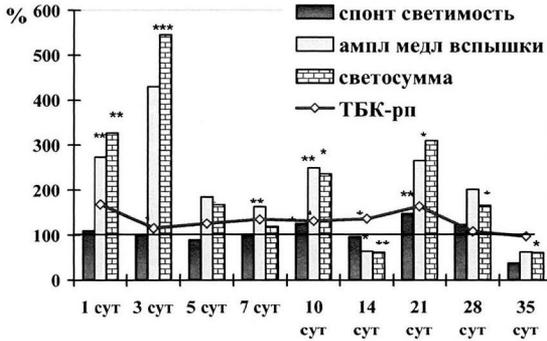


Рис. 11. Показатели СРО в тканях печени при СК. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

При обеих моделях умирания накопление ТБК-рп в тканях печени шло однотипно с выраженным подъемом на первые и 21-е сутки постреанимационного периода. В первые трое суток отмечалась прямая корреляционная зависимость между тяжестью состояния животных в группе СК и содержанием вторичных метаболитов ПОЛ в печени – на первые сутки ($r=0,63$; $p \leq 0,05$), на третьи сутки ($r=0,52$; $p \leq 0,05$). В первые сутки в этой группе животных наблюдалась также корреляция между ИИЭИ и содержанием ТБК-рп печени ($r=0,60$; $p \leq 0,05$).

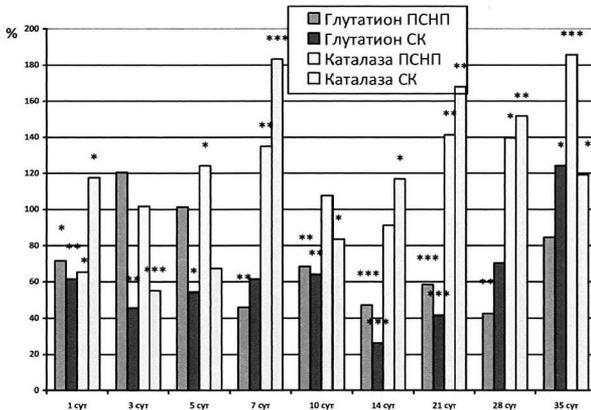


Рис. 12. Показатели антиоксидантной активности в ткани печени. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем, принятым за 100%

Процессы ПОЛ протекали на фоне поражения ферментов антирадикальной защиты. Так, в первые две недели активность каталазы угнеталась, а в поздние сроки достоверно превышала контрольные значения при обеих моделях умирания. Наиболее глубокие расстройства были отмечены в ранние сроки после оживления (на 1-3 сутки), а также на 10-е и 14-е сутки постреанимационного периода (рис.12). Содержание восстановленного глутатиона, играющего важную роль в процессах конъюгации в печени и защите ее от свободнорадикального окисления, в модели клинической смерти от СК было достоверно низким, в том числе и в сравнении с другой группой. В модели ПСНП показатели были также низкими, за исключением 3-х и 5-х суток, когда отмечалась тенденция к повышению значений G-SH.

Изучение показателей хемилюминесценции гомогенатов почек показало, что значения спонтанного свечения были повышены во все сроки постреанимационного периода при ПСНП, а параметры амплитуды медленной вспышки и светосуммы только до 3-х суток были значимо выше контроля, а в последующие дни либо ниже, либо приближались к ним (рис. 13).

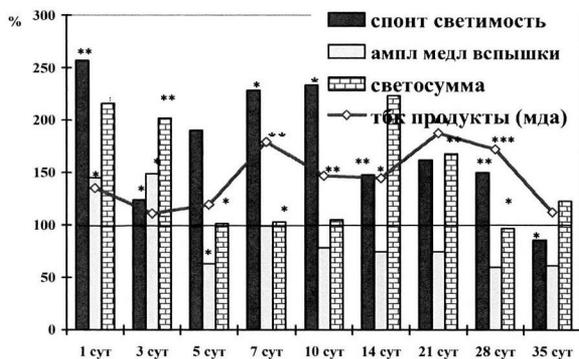


Рис. 13. Показатели СРО в тканях почек при ПСНП. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

Данный факт согласуется с результатами Ахмадеевой Р.И. и соавт. (2006), подтверждающими, что при увеличении тяжести поражения почек происходит угнетение свечения мочи, а при улучшении выделительной и концентрационной способности почек хемилюминесценция мочи восстанавливается. Содержание ТБК-рп в почках при данной модели умирания было повышено практически во все сроки после оживления. Так в 1-е сутки отмечено повышение на 35% ($p=0,0047$). Наиболее высокие значения регистрировались на 7-е сутки – на 79% ($p=0,0001$), на 21-е сутки – в 1,8 раза ($p=0,0001$), на 28-е сутки после оживления – в 1,7 раза ($p=0,0004$). Первые сутки выявлялась прямая связь между ИИЭИ ($r=0,68$; $p \leq 0,05$) и тяжестью состояния ($r=0,88$; $p \leq 0,05$).

После перенесенной СК (рис.14) параметры хемилюминесценции демонстрировали рост значений лишь в ранние сроки после оживления, что соответствует первой волне эндотоксикоза, а при второй однозначного роста значений не отмечалось, что, возможно, связано с повышением содержания токсических субстанций в почках и повреждением их структуры (Панова Л.Д., Фархутдинов Р.Р., 2006). При оценке содержания ТБК-рп в тканях почек после СК было выявлено превышение значений в ранние сроки после оживления (до 5-х суток) и в последующем – с 21-х суток и до конца периода наблюдения.

При пролонгированной ишемии реактивные метаболиты кислорода образуются преимущественно в проксимальных почечных канальцах и в последующем усиливают апоптоз в них (Walker L.M., et al., 2001). Использование СОД, по данным этих авторов, снижало апоптоз клеток проксимальных отделов, но не влияло на апоптоз в дистальных канальцах, что свидетельствует о несколько ином механизме происходящих нарушений в дистальных отделах почек. Преимущественное повреждение проксимальных почечных канальцев в почках по сравнению с клубочками обусловлено диффузионным шунтированием более чем 50% кислорода крови из прегломерулярных артериальных сосудов в постгломерулярные венозные (O'Connor P.M., et al., 2006). Данный механизм рассматривается как защитный, предохраняющий клубочковый аппарат почек от гипероксии.

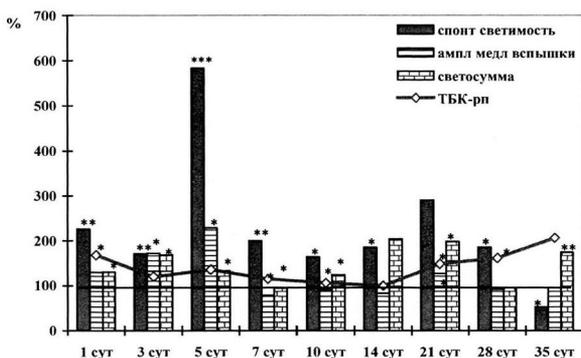


Рис. 14. Показатели СРО в тканях почек при СК. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем.

Изменения процессов липопероксидации происходили на фоне нарушений механизмов антирадикальной защиты. Так, активность каталазы почек при ПСНП после незначительного снижения на 1-е сутки, в последующие четырнадцать суток была достоверно повышена, а в группе после СК демонстрировала лишь тенденцию в повышению, однако на 7-е сутки была повышена в 1,5 раза по сравнению с контролем ($p=0,0041$) (рис.14). После 14-х суток в обеих груп-

пах отмечалась лишь тенденция к повышению данного параметра. Изменения в содержании восстановленного глутатиона в почках крыс после ПСНП выражались в превышении исходных показателей в 1,4-1,8 раз до 14-х суток, а на 21-е-28-е сутки произошло истощение запасов G-SH, в связи с чем содержание его стало ниже контрольного уровня, причем наиболее выраженным снижением было на 28-е сутки (на 36,9% $p=0,0211$). К 35 суткам его уровень имел тенденцию к повышению. В другой модели на 1-е сутки после оживления показатель снижался – на 55,5% ($p=0,0156$). Однако к 3-м суткам достиг исходных значений, а на 5-е сутки произошло его резкое повышение в 2,1 раза. Такие резкие перепады в содержании восстановленного глутатиона были характерны для всего постреанимационного периода животных данной серии. Наиболее низкие значения были отмечены на 14-е и 21-е сутки.

Процессы СРО и ПОЛ были существенно изменены и в тканях сердца. Так, накопление ТБК-рп в тканях сердца при обеих моделях умирания было высоким в первые трое суток после оживления, т.е. на высоте первой волны эндотоксинемии, в последующие сроки, до 7-х суток, показатели несколько снизились. Второй подъем при умирании от СК был менее выраженным, наступил на 10-е сутки, а при ПСНП, напротив, был очень резким в сравнении с первым подъемом и проявился несколько позднее, к 14-м суткам после оживления. В конце периода наблюдения содержание реактивных метаболитов кислорода продолжало оставаться ниже исходных значений. В целом, в течение всего постреанимационного периода повышенное содержание ТБК-рп свидетельствует об усилении процессов СРО в тканях сердца. Уровень вторичных метаболитов кислорода коррелировал в группе ПСНП с тяжестью состояния как на 1-е сутки ($r=0,87$; $p\leq 0,05$), так и на 3-и ($r=0,86$; $p\leq 0,05$).

Каталаза в сердце при обеих моделях умирания сохраняла свою активность практически во все сроки наблюдения, однако наиболее высокие уровни ферментативной активности энзима соответствовали выраженным уровням подъема эндотоксинемии. На фоне повышенной активности каталазы на высоте эндотоксинемии обратную динамику отражало содержание восстановленного глутатиона. Если в группе после ПСНП снижение содержания восстановленного глутатиона в тканях сердца соответствовало повышению эндотоксемии, что было отмечено на 1-е-3-и сутки, а также 10-14-е сутки, то при СК интенсивное расходование данного соединения отмечалось на протяжении всего постреанимационного периода. Выявлена высокая корреляция между тяжестью состояния и содержанием ТБК-рп легких в группе ПСНП на 1-е сутки ($r=0,89$; $p\leq 0,05$) и на 3-и сутки ($r=0,85$; $p\leq 0,05$), а так же корреляция между ИИЭИ и ТБК-рп ($r=0,60$; $p\leq 0,05$).

В ткани легких в группе крыс после клинической смерти от СК было отмечено достоверное увеличение содержания ТБК-рп на 1-, 10- и 35-е сутки, что соответствует пикам эндотоксинемии. В группе после ПСНП в первые сутки после оживления подъем не регистрировался, но на 7- и 10-е сутки был резко выражен. В поздние сроки уровень вторичных метаболитов был значимо повышен вплоть до 28-х суток. Сравнительная оценка содержания ТБК-рп пока-

зала достоверные различия между группами на 10-, 14- и 21-е сутки после оживления за счет более высоких показателей в группе ПСНП.

Изучение каталазной активности в легких выявило в 1-е сутки постренимационного периода тенденцию к ее снижению в обеих группах, после чего она значительно превышала исходные показатели в группе СК до 10-х суток включительно, а к 14-м суткам приблизилась к уровню контроля с последующей тенденцией к снижению. На 28-е сутки вновь было отмечено повышение на 15,5% ($p=0,0413$), которое сохранялось до конца наблюдения, но было недостаточным. В группе ПСНП наблюдалась аналогичная динамика, хотя показатели активности каталазы были выше, за исключением 21-х суток, когда ее активность была на 27,2% ниже исходного уровня. Содержание восстановленного глутатиона в легких крыс после ПСНП было достоверно снижено в сравнении с контролем. Выраженное снижение показателя (на 55-65%) отмечалось в первые две недели наблюдения, а также на 21-е сутки, когда его уровень составлял лишь 28,6% от исходного ($p=0,0091$). Критическим было падение содержания данного соединения на 78,0% ($p=0,0002$) на 35-е сутки. В другой группе при первой волне эндотоксинемии – на 1-е -3-и сутки падение G-SH было так же резко выражено, однако при второй волне эндотоксинемии значимо выше, чем в первой группе. Факт повышенного расхода глутатиона в группе ПСНП, по всей видимости, связан с более активным его окислением, так как в данной модели умирания в эти сроки активность процессов СРО в легких была более выражена.

Таким образом, в обеих изучаемых группах животных нарушение процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты было отмечено во всех исследуемых органах, и хотя данные процессы имели свои временные и амплитудные отличия, обращает на себя внимание факт привязки данных изменений к показателям эндотоксинемии. Основными мишенями действия реакционноспособных перекисных соединений являются мембранные образования клетки с локализованными в них ферментами. Это подтверждается преимущественным ингибированием мембранно-связанных ферментов, что отчетливо проявляется при соотношении активности глутатион-S-трансферазы и повышенного уровня эндотоксинемии в постренимационном периоде.

Определяющим патогенетическим механизмом эндотоксикоза различного генеза является генерализированное нарушение микроциркуляции. По данным многочисленных авторов, тяжесть, течение и исход экстремальных состояний во многом определяют степень изменений в микроциркуляторном русле (Алексеева Г.В., с соавт., 2003; Иванов К.П., Мельникова Н.Н., 2006; Хижняк А.С., Семченко В.В., 2009).

Фазный характер течения постренимационного периода, был отмечен не только на двух моделях умирания у крыс, но и у собак, что было обнаружено при изучении у них состояния микроциркуляции мягкой мозговой оболочки, играющей основную роль в процессах обеспечения мозга кислородом и питательными веществами. В раннем постренимационном периоде в гистологических препаратах, окрашенных азотно-кислым серебром, выявлялись изменения просвета капилляров, связанные с набуханием эндотелиальных клеток, периваскулярным

отеком, разрывом стенок микрососудов, что согласуется с данными других исследователей (Семченко В.В. и соавт. 1994; Бутин А.А., 2005).

В первые трое суток была выявлена тенденция микрососудов к вазодилатации, преимущественно приносящего звена микроциркуляторного русла – артериол, что согласуется с данными Г.И. Мчедлишвили и соавт. (1991). Подобная реакция артериол в ранние сроки после оживления объясняется тяжелой гипоксией смешанного типа, срывом компенсаторных реакций, дисбалансом ауторегуляторных механизмов сосудов головного мозга. Наряду с увеличением диаметра артериол наблюдалось увеличение диаметра и в сосудах оттока – посткапиллярных венах. Подавляющее большинство артериоло-венулярных анастомозов находилось в открытом состоянии, отмечались признаки повышенной проницаемости сосудов, внутрисосудистые изменения проявлялись в виде наличия крупных агрегатов и сладжей. Причинами нарушений является накопление вторичных лизосом и остаточных телец в перицитах, эндотелиоцитах, периваскулярной глии, облитерация микрососудов, реактивный глиоз (Мушина И.В. и соавт., 2004), а также нейродеструктивные процессы (Федорова Т.Н., 2001; Thippeswamy T. et al., 2005). Повторное ухудшение микроциркуляции мягкой мозговой оболочки мозга было отмечено к 10 – 14-м суткам пострестимуляционного периода, когда в препаратах вновь выявлялись микрогеморрагии, диapedез эритроцитов за пределы сосудистой стенки, сосуды с нечеткими контурами, что обусловлено явлениями отека, деструкцией сосудистой стенки.

По данным литературы, ишемия приводит к некрозу, активации механизмов апоптоза, увеличению активности индуцибельной NO-синтазы, повышению синтеза оксида азота, результатом чего является вазодилатация (Torper J.N., Gimbrone M.A., 1999). В нашем исследовании конечные метаболиты NO в тканях головного мозга были выше во все сроки после оживления, наибольшие значения были отмечены в ранние сроки, а также с 10-х суток и до конца периода наблюдения.

Наряду с данными о том, что NO предупреждает реперфузионное повреждение за счет NO-опосредованной вазодилатации, повышения тромборезистивности сосудов, снижения адгезивности лейкоцитов (Armsted V.E., et al., 1997), есть сообщения о патогенетической роли этого соединения (Мазур Н.А., 2003), причем не только в тканях головного мозга, но и в других органах (Тейлор Б.С., с соавт., 1998). В высоких концентрациях оксид азота становится цитотоксичным из-за способности превращаться в новые вторичные оксиданты, в частности, в пероксинитрит, что приводит к нарушению энергетического обмена в клетках, в том числе и в эндотелиоцитах, угнетению митохондриальных ферментов – цитохромоксидазы С и креатинкиназы (Sharpe M.A., Cooper C.E., 1998), повреждению сульфгидрильных групп белков, протеолипидов, ДНК (Sastre J., et al., 2000), повреждению СОД за счет реагирования с ионами металлов, входящих в ее состав с образованием ионы нитрозония (NO_2^+). Нитрозоний связывается с фенольными группами, образует нитрофенолы, в том числе и нитротирозины, ведущие к инактивации тирозинкиназ, вследствие чего не происходит фосфорилирование белков, нарушаются функции цитоплазматических ре-

цепторов. Нитрирование белков, кроме того, увеличивает их антигенность, что способствует развитию аутоиммунных процессов, прежде всего в нервной системе (Gros L., et al., 2002).

Накопление конечных метаболитов NO практически во всех органах в наших исследованиях во многом обусловлено не только продукцией NO-синтазы, но и процессами катаболического распада в тканях.

Развитие эндотоксикоза и последующее формирование полиорганной недостаточности во многом обусловлено выработкой в организме острофазовых белков, цитокинов. Цитокины обеспечивают согласованность действий иммунной, эндокринной и нервной систем, а их накопление рассматривается как проявление синдрома системного воспалительного ответа (ССВО – SIRS), предложенного R.C. Bone (1996) с целью объединения тождественно протекающих патологических процессов, приводящих к полиорганной недостаточности при исходно различной патологии.

Накопление цитокинов обусловлено активацией эндотелия, рассматриваемого в настоящее время в качестве мощной секреторной клеточной системы, продуцирующей множество биоактивных веществ, действующих на окружающие ткани и клетки притекающей крови. Гиперпродукция цитокинов во многом связана с проникновением микробного эндотоксина сапрофитной грамотрицательной флоры желудочно-кишечного тракта (липополисахарида – ЛПС) в кровоток. Циркулирующий в системном кровотоке ЛПС взаимодействует с находящимся в плазме липополисахаридсвязывающим протеином (LBP), образуя комплекс LBP-ЛПС, рецептором которого является кластер дифференцировки (CD). CD презентует ЛПС рецептору комплемента, который в свою очередь обеспечивает трансмембранную передачу сигнала в клетки, где после каскадных химических реакций, ведущих к диссоциации ядерного фактора транскрипции (NF κ B) и проникновению его в ядро, активируется синтез и выделение цитокинов. В качестве посредников выработки цитокинов рассматриваются и продукты свободнорадикального окисления (Lo Y.Y.C., et al., 1996).

Роль цитокинов сложна и неоднозначна, поскольку они могут проявлять как синергический, так и антагонистический эффекты, что в конечном итоге приводит к формированию нового эффекта.

В наших исследованиях в группе крыс после перенесенной СК уровень провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8) на высоте первой волны эндотоксемии (1-е - 3-и сутки) был достоверно выше контроля. В группе ПСНП достоверный подъем ФНО- α и ИЛ-6 регистрировался лишь на 1-е сутки ($p=0,00016$ и $p=0,00038$ соответственно) (рис. 15). Корреляционный анализ в эти сроки показал прямую зависимость тяжести состояния животных от содержания таких провоспалительных цитокинов как ФНО- α на 1-е ($r=0,93$; $p\leq 0,05$) и 3-и сутки ($r=0,83$; $p\leq 0,05$); ИЛ-6 на 1-е ($r=0,68$; $p\leq 0,05$) и 3-и сутки ($r=0,86$; $p\leq 0,05$); ИЛ-8 на 1-е ($r=0,95$; $p\leq 0,05$) и 3-и сутки ($r=0,91$; $p\leq 0,05$). Однако достоверная прямая связь ИИЭИ отмечалась лишь с ФНО- α на 1-е сутки ($r=0,76$; $p\leq 0,05$). Одновременное повышение уровней ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8 в группе СК является неблагоприятным прогностическим признаком (Лукач В.Н., и соавт., 2008). В то же время ИЛ-1 β в той же группе экспериментальных животных показал

иную динамику, содержание его было ниже уровня контроля, причем снижение было достоверно до 10-х суток, а в дальнейшем отмечалась лишь тенденция к нему. Повышение ФНО- α на фоне снижения ИЛ-1, по мнению ряда авторов (Пивоварова Л.П. 2001; Арискина О.Б. и соавт., 2002; Ura H. et al., 1998), свидетельствует о генерализации воспалительного процесса с формированием синдрома полиорганной недостаточности и может иметь прогностическое значение в плане развития инфекционных осложнений.

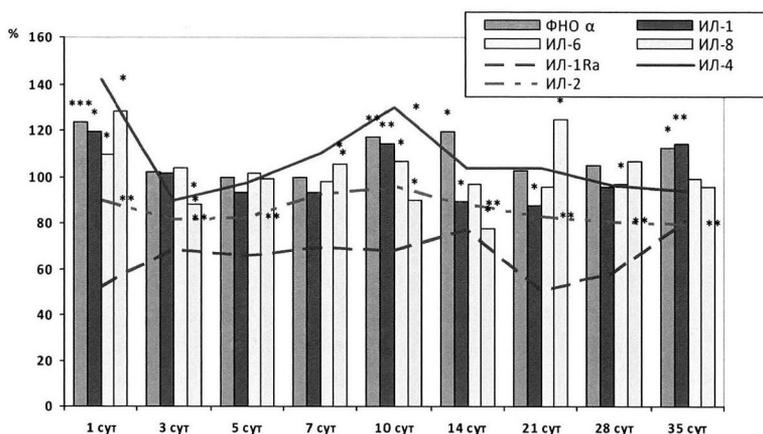


Рис. 15. Содержание цитокинов в постреанимационном периоде у крыс при ПСНП.

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем, принятым за 100%.

Исследование противовоспалительных цитокинов выявило в обеих группах практически однонаправленную картину снижения уровня ИЛ-1 RA – на 1-е сутки примерно в 2 раза и на 3-и сутки на 20-30%. Поскольку этот цитокин является естественным рецептором для ИЛ-1 β , то его снижение обусловлено связыванием с ИЛ-1 β и сдерживанием роста его концентрации в крови. Отмечено незначительное, хотя и достоверное снижение в обеих группах ИЛ-2, в среднем на 11-15%. Изучение естественного ингибитора воспаления ИЛ-4 в постреанимационном периоде после СК показало фазную динамику содержания, однонаправленную с пиками повышения провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8. С одной стороны данный факт можно расценить как положительный, учитывая способность цитокина подавлять освобождение цитокинов воспаления. Однако практически параллельный выброс в системный кровоток каскадов противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10), обладающих иммуномодулирующим действием, приводит к подавлению секреции макрофагами медиаторов провоспалительной фазы (Лукач В.Н. с соавт., 2008), что в нашем исследо-

вании произошло уже к 3-м суткам при обеих моделях умирания, и развитию иммунодефицитного состояния – «иммунного паралича». Чрезмерный синтез противовоспалительных медиаторов клинически проявляется анергией (отсутствием реакции иммунной системы на инфекционный агент), и получило название «синдром компенсаторного противовоспалительного ответа – СКПО».

Корреляционный анализ показал наличие сильных связей между тяжестью состояния и содержанием противовоспалительных цитокинов – на 1-е сутки с ИЛ-1РА ($r=0,94$; $p\leq 0,05$), ИЛ-4 ($r=-0,90$; $p\leq 0,05$), ИЛ-2 ($r=-0,90$; $p\leq 0,05$), на 3-и сутки с ИЛ-1РА ($r=-0,70$; $p\leq 0,05$), ИЛ-4 ($r=-0,80$; $p\leq 0,05$). Связь между интегральным индексом эндогенной интоксикации и противовоспалительными цитокинами в первые трое суток после оживления была отмечена лишь на 1-е сутки – с ИЛ-4 ($r=-0,70$; $p\leq 0,05$).

Корреляционный анализ выявил на 5-е сутки наличие положительной связи ИИЭИ с содержанием ИЛ-1РА ($r=0,87$; $p\leq 0,05$) и отрицательной связи с содержанием α -ФНО ($r=-0,66$; $p\leq 0,05$), ИЛ-2 ($r=-0,96$; $p\leq 0,05$), что свидетельствует о формировании анергии у животных с наиболее тяжелым течением постреанимационного периода. На 7-е сутки ситуация становится еще более драматичной, поскольку корреляционные связи имеют отрицательный характер в отношении ИИЭИ и содержания практически всех цитокинов, как провоспалительных так и противовоспалительных – α -ФНО ($r=-0,81$; $p\leq 0,05$), ИЛ-1 ($r=-0,66$; $p\leq 0,05$), ИЛ-8 ($r=-0,88$; $p\leq 0,05$), ИЛ-4 ($r=-0,87$; $p\leq 0,05$), ИЛ-4 ($r=-0,75$; $p\leq 0,05$), ИЛ-1 РА ($r=-0,78$; $p\leq 0,05$), ИЛ-2 ($r=-0,71$; $p\leq 0,05$). Положительная связь была отмечена только в отношении ИЛ-6 ($r=0,78$; $p\leq 0,05$).

Подобное состояние сопровождается высокой вероятностью прогрессирования инфекционного процесса. Нами были выявлены проявления клеточной воспалительной реакции различной степени выраженности в органах на первой неделе после оживления. Так, на 5-е сутки в веществе мозга при ПСНП определялось большое количество клеток, как гематогенного происхождения, так и глиального, которые выстраивались в виде цепочек. А в группе после СК была отмечена полная анергия, поскольку при наличии множества мелких очагов некроза и микрогеморрагий воспалительная реакция не проявлялась. В большинстве препаратов сердечной мышцы на 5-е сутки прослеживалась воспалительная клеточная инфильтрация интерстиция при обеих моделях умирания. В печени на 7-е сутки со стороны портальных трактов вокруг сосудов отмечалась периваскулярная лейкоцитарная инфильтрация на фоне выраженных признаков повреждения самих гепатоцитов, проявляющихся в виде выраженного набухания, гидропической дистрофии вплоть до баллонной. Однако наиболее значительные нарушения отмечались в легочной ткани. В препаратах ткани легких крыс лейкоцитарная инфильтрация интерстиция была выражена уже с первых

суток после оживления, а на 7-е сутки наблюдалась картина массивного отека легких с выраженным альвеолярным компонентом. Просвет большинства альвеол был заполнен эозинофильными гомогенными массами, и отмечалась мощная клеточная воспалительная реакция, характерная для массивной сливной пневмонии фибринозно-гнойного характера. Легкие являются одним из наиболее уязвимых органов при критических состояниях (Чурляев Ю.А. и соавт., 2007; Пестряков Е.В. и соавт., 2003).

Второй подъем в количественных параметрах провоспалительных цитокинов был отмечен с 10-х суток после оживления, когда произошло достоверное повышение ФНО- α и ИЛ-6 в обеих группах, что, с одной стороны, обусловило формирование второй волны эндотоксинемии наряду с нарушенной деятельностью многих органов вследствие полиорганной недостаточности и кatabолическими процессами в них происходящими (Dear J.W. et al., 2006; Muller-Werdan U. et al., 2006), а с другой стороны, характеризует некоторую активацию деятельности иммунной системы после состояния «иммунного паралича». В отношении ИЛ-6 нет однозначной трактовки полученных результатов. В первые сутки постгеморрагического периода повышение концентрации ИЛ-6, по всей видимости, связано с воспалительным ответом печени и легких, в которых активировался stat 3 – один из шести белков активаторов транскрипции (S. Hierholzer, et al., 1998). На 10-е сутки повышение концентрации изучаемого цитокина, возможно, связано с завершением острой фазы воспаления, поскольку он оказывает как провоспалительный, так и противовоспалительный эффект (Ярилин А.А., 1997). Содержание ИЛ-4 увеличивалось параллельно повышению ФНО- α и ИЛ-6, что приводит к очень непродолжительному всплеску их активности. Корреляционный анализ показал на 10-е сутки наличие связей между ИИЭИ и ИЛ-1 ($r=0,69$; $p\leq 0,05$), ИЛ-6 ($r=0,59$; $p\leq 0,05$),

При обеих моделях умирания снижалась выработка в постреанимационном периоде таких противовоспалительных цитокинов как ИЛ-2 и ИЛ-1РА. ИИЭИ прямо коррелировал с ИЛ-1РА ($r=0,62$; $p\leq 0,05$), и обратно с ИЛ-2 ($r=0,73$; $p\leq 0,05$). Противовоспалительный цитокин ИЛ-2 играет центральную роль в регуляции клеточного иммунитета, стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов в клетки-эффекторы, а также является активатором моноцитов, макрофагов, что позволяет усилить защиту организма от инфекционных осложнений (Кетлинский С.А. и соавт., 1992). Развитие инфекционных осложнений, а также длительное наличие очагов некротических изменений в органах и тканях в наших экспериментах, возможно, связано с нарушенной выработкой ИЛ-2 в постреанимационном периоде. По литературным источникам повышение его выработки во время реанимации андростентриолом улучшило выживаемость животных в постгеморрагическом периоде (Marcu A.C. et al.,

2007). Понижение выработки другого противовоспалительного цитокина – ИЛ-1РА обусловлено, по всей видимости, сниженной выработкой ИЛ-1, поскольку ИЛ-1РА является его эндогенным ингибитором.

Таким образом, так называемый «цитокиновый пожар» в постреанимационном периоде при обеих моделях умирания весьма кратковременен – лишь в первые трое суток, что необходимо учитывать при коррекции цитокиновых расстройств, поскольку применение антител к провоспалительным цитокинам или элиминация цитокинов сорбционными методами (Лихолобов В.А. с соавт., 2007) на 5-, 7-е сутки может только усилить развитие иммунной дисфункции и усугубить тяжесть повреждений органов и систем.

Гипоксические нарушения и развитие воспаления приводят к повреждению тканевых структур, что вызывает фрагментирование компонентов межклеточного матрикса (Jiang D. et al., 2007). Деструкция гликозаминогликанов может быть обусловлена как действием гиалуронидаз бактериального и собственно организменного происхождения, так и оксидативной модификацией (Rees M.D. et al., 2004). При этом продукты деградации поступают в системный кровоток, а также накапливаются в тканях. Повышение содержания ГАГ в постреанимационном периоде регистрировалось в тканях головного мозга практически во все периоды наблюдения, а в ранние сроки было обусловлено дезорганизацией структурно-функциональных элементов соединительной ткани под действием свободных радикалов и гидроперекисей. В более поздние сроки повышение содержания ГАГ объясняется усилением их продукции, что не следует рассматривать как позитивный момент, поскольку это свидетельствует о замещении нервной ткани глией и соединительной тканью, что приводит к потере ее функциональной активности (Сафин Ш.М., 1993). Изучение структурных особенностей, происходящих в сердце, легких, почках на протяжении постреанимационного периода, позволило получить морфологические подтверждения замены клеточных элементов в этих органах соединительной тканью.

ИИЭИ в группе СК на 1-е сутки коррелировал с содержанием ГАГ в плазме крови ($r=0,90$; $p\leq 0,05$), почках ($r=0,86$; $p\leq 0,05$), печени ($r=0,79$; $p\leq 0,05$), сердце ($r=0,92$; $p\leq 0,05$), мозге ($r=0,75$; $p\leq 0,05$). На третьи сутки достоверно выявлялась связь между ИИЭИ и содержанием ГАГ в почках ($r=0,82$; $p\leq 0,05$), сердце ($r=0,77$; $p\leq 0,05$), мозге ($r=0,65$; $p\leq 0,05$) и плазме крови ($r=0,71$; $p\leq 0,05$).

Усиление фиброгенеза наблюдалось после 10-х суток постреанимационного периода и сопровождалось, особенно в поздние сроки после оживления (28-35 сутки), выраженным достоверным повышением ГАГ.

Если динамика показателей ГАГ в тканях отражает степень их деструкции (Souza-Fernandes A.B., et al., 2006) и активность фиброгенеза (Asada M., et al., 2009), то динамика показателей ГАГ в крови отражает степень эндотокси-

немии и соответствует проявлениям наиболее выраженных деструктивных процессов в тканях, т.е. увеличение содержания ГАГ сопровождается увеличением тяжести состояния (рис. 16). Высокую тесную связь между высоким уровнем ГАГ и тяжестью состояния отмечают и ряд авторов (Вахрушев Я.М. и соавт., 2006; Громов М.С., и соавт., 2007).

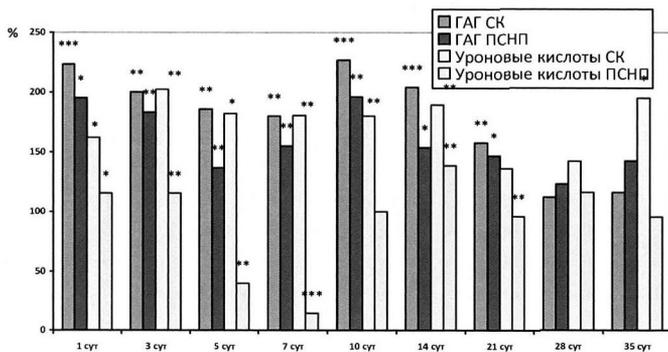


Рис. 16. Углеводсодержащие полимеры в плазме крови в постреанимационном периоде. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ – статистически значимые различия по сравнению с контролем, принятым за 100%.

Одной из причин повышения эндотоксинов в крови являются структурные нарушения клеток и межклеточных структур, а с другой стороны, гиперэндотоксинемия может выступать вторичным фактором альтерации, оказывающим деструктивное действие на компоненты протеогликановых структур межклеточного матрикса (Eberlein M. et al., 2008), что сопровождается увеличением концентрации свободных ГАГ в сыворотке крови к 10-м суткам постреанимационного периода. Стимулируют лизис коллагена и межклеточного матрикса цитокины – ФНО- α (Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 2008). Следовательно, динамика содержания ГАГ отражает как участие углеводсодержащих полимеров в процессах связывания эндотоксинов, так и реакцию межклеточного матрикса на действие деструктивных факторов. Связь между ИИЭИ и содержанием ГАГ выявлялась в группе СК в плазме крови на 14-е сутки ($r=0,76$; $p \leq 0,05$), сердце на 10-е сутки ($r=0,49$; $p \leq 0,05$), почках на 14-е сутки ($r=0,76$; $p \leq 0,05$), в печени ($r=0,75$; $p \leq 0,05$), мозге на 14-е сутки ($r=0,76$; $p \leq 0,05$). В группе ПСНП связь выявлялась в плазме крови на 10-е сутки ($r=0,67$; $p \leq 0,05$), в сердце на 10-е ($r=0,84$; $p \leq 0,05$) и 14-е сутки ($r=0,55$; $p \leq 0,05$), в мозге на 10-е ($r=0,81$; $p \leq 0,05$) и 14-е сутки ($r=0,71$; $p \leq 0,05$), в печени на 10-е ($r=0,69$; $p \leq 0,05$) и 14-е сутки ($r=0,54$; $p \leq 0,05$), в почках на 10-е ($r=0,80$; $p \leq 0,05$) и 14-е сутки ($r=0,78$; $p \leq 0,05$).

Кроме того, низкомолекулярные фрагменты протеогликанов, являясь мощными активаторами иммунокомпетентных клеток (Adair-Kirk T., Senior R.T., 2008; Yamawaki H. et al., 2009; Schaefer L., Babelova A., 2005), стимулируют воспаление и продукцию цитокинов. Взаимодействие между отдельными компонентами межклеточного матрикса и их сигнальными рецепторами может играть важную роль в инициации и поддержании воспалительного ответа и, в то же время, принимать участие в межклеточной кооперации и обеспечивать восстановление поврежденных структур. Фрагменты гликозаминогликанов, образующиеся в ходе окислительного стресса, проявляют хемотаксический эффект в отношении нейтрофилов, потенцируя, таким образом, воспалительный процесс (Gao Fei, et al., 2008). Протеогликаны в межклеточном матриксе участвуют в Т-клеточной адгезии путем связывания с определенными сайтами гликозаминогликанов (Strum J.M. et al., 2007).

Таким образом, динамика углеводсодержащих полимеров в постреанимационном периоде отражает многочисленные изменения, происходящие в постреанимационном периоде в связи с разнообразием выполняемых ими функций.

В заключение необходимо подчеркнуть, что развитие эндотоксемии в постреанимационном периоде имеет свою стадийность, подтвержденную при различных моделях умирания, несмотря на многоуровневый характер функциональных, морфологических и метаболических нарушений, вовлеченность в патологический процесс различных регуляторных и гомеостатических систем организма, тесную взаимосвязь и взаимообусловленность большинства обнаруженных нарушений.

ВЫВОДЫ

1. Особенностью течения постреанимационного периода является увеличение содержания в крови животных ВНиСММ, спектр которых указывает на превалирование катаболических сдвигов метаболизма. Динамика развития эндотоксической интоксикации носит фазовый характер, проявляющийся в виде резких подъемов уровня эндотоксинов в ранний постреанимационный период (1–3 сутки), а затем в поздний (7 – 14 сутки), и обнаруженный при различных способах моделирования умирания.

2. Реабилитационный период животных после оживления сопровождается ухудшением различных параметров поведенческих реакций, а наиболее глубокое угнетение ориентировочно-исследовательской деятельности совпадает с ранней и поздней волнами эндотоксемии.

3. Заметные нарушения функционирования регуляторных механизмов эндокринной системы отмечаются уже в ранний постреанимационный период, особенно после смертельной кровопотери, о чем свидетельствует дискоординация функционирования центральных и периферических желез внутренней секреции, проявляющаяся в гиперкортизолемии на фоне увеличенного уровня

АКТГ, а также гипотиротропинемии при одновременном снижении уровня йодтиронинов в крови экспериментальных животных. Аналогичные сдвиги гормонального профиля отмечаются и при вторичном усилении эндотоксинемии в поздние сроки, но менее выражены по степени диссоциации и снижения концентрации гормонов в крови экспериментальных животных.

4. Тяжесть течения постреанимационного периода усугубляется нарушениями механизмов детоксикации, одной из основных причин которых является угнетение системы глутатиона в виде устойчивого снижения содержания его восстановленной формы и активности глутатионтрансферазы на протяжении всего срока наблюдения.

5. Важной особенностью отсроченных осложнений постреанимационного периода является формирование полиорганной недостаточности, достигающей максимума к 7-14 суткам с момента оживления, обусловленной постепенным накоплением структурных повреждений тканей сердца, кишечной стенки, почек и протекающих на фоне респираторного дистресс-синдрома легких.

6. В развитии патофизиологических реакций организма, перенесшего клиническую смерть, важнейшую роль играет интенсификация свободнорадикальных процессов, по выраженности превышающая адаптивные резервы антиоксидантных систем. Метаболические последствия окислительного стресса в этих условиях характеризуются сочетанием усиления процессов липопероксидации тканей головного мозга, печени, почек, легких и сердца, синхронно с накоплением маркеров эндотоксинемии. Отличительной особенностью оксидантного статуса в динамике постреанимационного периода животных, перенесших смертельную кровопотерю, является относительное ограничение активности радикалообразования, что может быть обусловлено более значительными нарушениями микроциркуляции и процессов оксигенации тканей.

7. Развивающиеся в ранние сроки постреанимационного периода нарушения микроциркуляции (микротромбозы, геморрагии, периваскулярная лейкоцитарная инфильтрация) и повторно выявляющиеся при вторичном усилении эндотоксинемии носят системный характер и создают патофизиологическую основу для каскадного развития обнаруженных метаболических сдвигов и функциональной недостаточности всех исследованных органов и тканей, в том числе, участвующих в детоксикации (печень, почки, кишечник).

8. Динамические изменения цитокинового статуса коррелируют с накоплением продуктов эндогенной интоксикации и выражаются в увеличении содержания провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8) на фоне стойкого снижения уровней противовоспалительных цитокинов (ИЛ-2 и ИЛ-1РА).

9. Важнейшей особенностью течения постреанимационного периода является двухфазовый характер развития метаболических нарушений, имеющих четко выраженные по времени и амплитуде пики подъемов, наблюдающиеся сначала в ранний, а затем поздний периоды, и перемежающиеся временным

промежутком относительного затихания патохимических сдвигов. Универсальность данного патофизиологического феномена, установленного для всех изученных тканей вне зависимости от способов биомоделирования клинической смерти, служит теоретической основой для совершенствования принципов и подходов в клинической практике с целью прогнозирования и своевременного предупреждения развития тяжелых осложнений на отдельных этапах реабилитации пациентов, перенесших критические состояния.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Научные труды, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК

1. Еникеев Д.А. Влияние предварительной сенсibilизации и перенесенной клинической смерти на динамику морфофункциональных параллелей ретинального и мозгового кровотока / Д.А. Еникеев, Л.Т. Идрисова, С.А. Еникеева, Е.А. Нургалеева, С.А. Лобанов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 1999. - № 2. - С. 21-23.
2. Еникеев Д.А. Влияние эндогенной интоксикации в постреанимационном периоде на процессы перекисного окисления липидов в эксперименте / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, А.Ф. Самигуллина, Ю.Л. Баймурина, М.А. Александров // Общая реаниматология. – 200. – Т. II, № 5-6: Труды Всероссийской Конференции, посвящ. 7 летию НИИОР РАМН). - С. 136-141.
3. Еникеев Д.А. Влияние на миокард предварительной иммунизации анатоксинами в постреанимационном периоде / Д.А. Еникеев, А.В. Чижиков, М.А. Александров, Е.А. Нургалеева, Н.В. Новгородова // Общая реаниматология. – 2007. – Т. III, № 5-6. – С. 103-109.
4. Еникеев Д.А. Влияние эндогенной интоксикации постреанимационного периода на состояние сурфактантной системы легких в эксперименте / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, М.А. Сазанов, В.Д. Захарченко, Л.В. Нагаева, Т.И. Мустафин, И.А. Шарифгалеев // Морфологические ведомости. – 2007. - № 3-4. – С. 98-101.
5. Еникеев Д.А. Морфофункциональные изменения в головном мозге и сетчатке глаза в постреанимационном периоде / Д.А. Еникеев, Л.Т. Идрисова, Е.А. Нургалеева, А.Ф. Самигуллина, О.В. Лаптев // Общая реаниматология. – 2008. – Т. IV, № 1. – С. 21-25.
6. Еникеев Д.А. Микроциркуляторные нарушения как один из ведущих механизмов в генезе постреанимационных расстройств функций зрительного анализатора / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, О.В. Лаптев, Т.И. Мустафин, И.А. Шарифгалеев, В.Д. Захарченко, Г.А. Байбурина // Морфологические ведомости. – 2008. - № 1-2. – С. 46-48.
7. Еникеев Д.А. Ультраструктурные изменения клеток миокарда после перенесенного терминального состояния на фоне предварительной иммунизации раз-

личными анатоксинами / Д.А. Еникеев, А.В.Чижиков, Е.А. Нургалеева, М.А. Александров // Морфологические ведомости. – 2008. - № 1-2. - С. 234-235.

8. Нургалеева Е.А. Соотношение показателей неспецифической резистентность, провоспалительных цитокинов и уровня эндотоксикоза после смертельной кровопотери / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, Л.В. Нагаева, М.А. Александров // Медицинская наука и образование Урала. – 2009. - Т. 10, № 4. - С. 48-52.

9. Нургалеева Е.А. Повреждение миокарда и уровень гликозаминогликанов при постреанимационной эндотоксемии / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, Т.И. Мустафин, Е.Р. Фаршатова, Д.С. Кузлин, Л.В. Нагаева // Медицинская наука и образование Урала. – 2010. - № 3. - С. 113-116.

10. Еникеев Д.А. Влияние клинической смерти от острой кровопотери на состояние неспецифической резистентности и цитокиновой продукции в эксперименте / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, Л.В. Нагаева, Н.В. Нургалеев, М.А. Александров // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. XVII, № 1. – С. 177-178.

11. Нургалеева Е.А. Экспериментальное изучение структурных постреанимационных изменений в почках и процессов липопероксидации / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, Е.Р. Фаршатова, Т.И. Мустафин, Д.С. Кузлин, Ю.Л. Баймурзина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2010. - № 5. – С. 111-117.

12. Еникеев Д.А. Влияние морфофункционального состояния брыжейки и кишечника в развитии эндотоксемии в постреанимационном периоде в эксперименте / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, Е.Р. Фаршатова, Д.С. Кузлин, Р.С. Минигазимов, Г.А. Байбурина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – Т. 6, № 1. – С. 82-86.

13. Нургалеева Е.А. Роль изменений гормонального профиля гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы в механизмах формирования эндотоксикоза постреанимационного периода при различных моделях умирания / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, Л.В. Нагаева, Т.А. Валеева, Г.А. Байбурина, М.А. Александров // Медицинская наука и образование Урала. – 2011. - № 1. – С. 72-75.

14. Нургалеева Е.А. Роль структурных и метаболических нарушений печени крыс в механизмах формирования эндотоксикоза после перенесенной смертельной кровопотери / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, О.В. Лаптев, Л.В. Нагаева // Медицинская наука и образование Урала. – 2011. - № 2. - С. 92-94.

15. Нургалеева Е.А. Показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса печени крыс при формировании эндотоксикоза постреанимационного периода / Е.А. Нургалеева, Д.А. Еникеев, Л.В. Нагаева, Г.А. Байбурина, М.А. Александров // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 229-230.

16. Дроздова Г.А. Метаболические нарушения в печени и изменения цитокинового профиля крови крыс в механизмах формирования системного воспалительного ответа в постреанимационном периоде / Г.А. Дроздова, Е.А. Нурга-

леева, Д.А. Еникеев, Г.А. Байбурина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2012. - № 6. – С. 84-89.

17. Нургалева Е.А. Роль эндотоксикоза постреанимационного периода, цитокинового профиля, уровня гликозаминогликанов в механизмах повреждения легочной ткани / Е.А. Нургалева, Д.А. Еникеев, Е.Р. Фаршатов, Л.В. Нагаева, М.А. Александров // Астраханский медицинский журнал. – 2012. – Т. 6, № 3. – С. 90-94.

Монография

1. Еникеев Д.А. Микроциркуляция мягкой мозговой оболочки и сетчатки глаза в постреанимационном периоде: монография / Д.А. Еникеев, Л.Т. Идрисова, Е.А. Нургалева, С.А. Еникеева. – Уфа: Изд-во ООО «Диалог», 2004. – 191 с.

Патент

1. Еникеев Д.А. Способ профилактики постгеморрагических и постреанимационных нарушений у собак в эксперименте: патент на изобретение № 2317108 от 20.02.2008 г./ Еникеев Д.А., Идрисова Л.Т., Александров М.А., Чижигов А.В., Нургалева Е.А. //

Прочие публикации по теме диссертации

1. Нургалева Е.А. Влияние смертельной кровопотери и белковой сенсibilизации на состояние ретинального кровотока / Е.А. Нургалева, А.В. Чижигов, М.А. Александров // Актуальные проблемы патофизиологии: материалы 3-й межвузовской науч. конференции, посвященной 100-летию кафедры патофизиологии СПбГМУ им. академика И.П. Павлова. – СПб., 1998. – С. 103-105.

2. Нургалева Е.А. Микроциркуляторные изменения в мягкой мозговой оболочке у собак после острой смертельной кровопотери при белковой сенсibilизации / Е.А. Нургалева, М.А. Александров, А.В. Чижигов // Актуальные проблемы патофизиологии: материалы 3-й межвузовской науч. конференции, посвященной 100-летию кафедры патофизиологии СПбГМУ им. академика И.П. Павлова. – СПб., 1998. – С. 105-109.

3. Нургалева Е.А. Особенности микроциркуляции мягкой мозговой оболочки и сетчатки глаз у собак после предварительной сенсibilизации и перенесенной клинической смерти / Е.А. Нургалева, Д.А. Еникеев, Л.Т. Идрисова // Актуальные проблемы патофизиологии: материалы 3-й межвузовской науч. конференции, посвященной 100-летию кафедры патофизиологии СПбГМУ им. академика И.П. Павлова. – СПб., 1998. – С. 21-23.

4. Enikeev D.A. Interaction of preliminary sensibilization and androgen clinical death on the postreanimation period course / D.A. Enikeev, E.A. Nurgaleeva, S.A. Enikeeva, L.T. Idrisova // Pathophysiology 3 d International Congress of pathophysiology: abstract book, Lath, Finland, 28 June-3 July 1998.

5. Еникеев Д.А. Соотношение микроциркуляторных расстройств в мягкой мозговой оболочке и сетчатке глаз после перенесенной кровопотери у сенсibilизированных собак / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, Л.Т. Идрисова // Теоретиче-

ские и клинические проблемы современной реаниматологии: материалы междуна- р. Симп., посвящ. 90-летию со дня рождения акад. РАМН В.А. Неговского, 23-24 марта 1999 г., Москва. - М., 1999. - С. 30.

6. Нургалева Е.А. Реанимация организма при острой кровопотере на фоне сенсibilизации: ранние и отдаленные последствия / Е.А. Нургалева, Д.А. Еникеев // Актуальные проблемы ортопедо-травматологической помощи населению: материалы 2 съезда Ассоциации ортопедов-травматологов РБ, 8-9 декабря 1999 г., Уфа. – Уфа, 1999. - С. 77-78.

7. Хуснутдинова И.Р. Показатели вариационной пульсометрии у животных с измененной реактивностью в постреанимационном периоде / И.Р. Хуснутдинова, М.А. Александров, Е.А. Нургалева, О.В. Лаптев, Л.М. Калимуллина // Вопросы теоретической и практической медицины: материалы 66-й Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых БГМУ. – Уфа, 2001. - С. 38-39.

8. Нургалева Е.А. Диагностика гемодинамических расстройств головного мозга по состоянию микроциркуляции глазного яблока в постреанимационном периоде / Е.А. Нургалева, О.В. Лаптев, М.А. Александров, А.В. Чижигов // Здравоохранение Башкортостана. Спецвыпуск. - 2000. - № 2. - С. 32-33.

9. Нургалева Е.А. Морфологические изменения нейронов головного мозга и сетчатки глаза в постреанимационном периоде / Е.А. Нургалева, О.В. Лаптев, Д.А. Еникеев, М.А. Александров, А.В. Чижигов // Морфология. – 2002. - Т. 121, № 2-3: Тезисы докладов VI Конгресса Международной ассоциации морфологов. - С. 116.

10. Александров М.А. Морфологические изменения головного мозга в постреанимационном периоде у животных, предварительно вакцинированных анатоксинами / М.А. Александров, А.В. Чижигов, Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, Р.М. Губайдуллин // Морфология. – 2002. - Т. 121, № 2-3: Тезисы докладов VI Конгресса Международной ассоциации морфологов. - С. 9.

11. Чижигов А.В. Влияние иммунизации различными анатоксинами на постреанимационную патологию миокарда / А.В. Чижигов, Д.А. Еникеев, М.А. Александров, Ш.М. Хуснутдинов, Е.А. Нургалева // Морфология. – 2002. - Т. 121, № 2-3: Тезисы докладов VI Конгресса Международной ассоциации морфологов. - С. 173.

12. Александров М.А. Морфологические изменения центральной нервной системы в постшоковом периоде у животных, предварительно вакцинированных анатоксинами / М.А. Александров, А.В. Чижигов, Е.А. Нургалева // Здравоохранение Башкортостана. Спецвыпуск. - 2002. - № 3. - С. 11-14.

13. Еникеев Д.А. Возможные механизмы восстановления функций ЦНС у собак, перенесших геморрагический шок и предварительно иммунизированных анатоксинами / Д.А. Еникеев, М.А. Александров, А.В. Чижигов, Е.А. Нургалева // Критические и терминальные состояния. Патофизиология и терапия: тез. Межд.

науч. конф., посвящ. 50-летию первой Всесоюзной конф., 13-15 ноября 2002 г., Москва. – М., 2002. - С. 5-6.

14. Еникеев Д.А. Ультраструктурные нарушения микрососудов при аноксии, вызванной смертельной кровопотерей / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, М.А. Александров, О.В. Лаптев // Медицинский академический журнал. - 2003. - Т. 3, № 3, прил. 4: Механизмы типовых патологических процессов: материалы науч. конф., посвящ. 150-летию со дня рождения П.М. Альбицкого, 9-10 октября 2003 г., Санкт-Петербург. - С. 128-129.

15. Еникеев Д.А. Механизмы взаимовлияния предварительной иммунизации стафилококковым анатоксином и перенесенного длительного геморрагического шока на центральную нервную систему собак / Д.А. Еникеев, М.А. Александров, А.В. Чижиков, Е.А. Нургалева, Р.М. Губайдуллин, О.А. Еникеев // Основные общепатологические и клинические закономерности развития критических, терминальных и постреанимационных состояний. Принципы их коррекции: материалы конференции, 3-6 ноября 2003 г., Москва. – М., 2003. - С. 27-32.

16. Еникеев Д.А. Избирательность поражений различных отделов миокарда и их ЭКГ- характеристика в постреанимационном периоде при предварительной иммунизации анатоксинами / Д.А. Еникеев, А.В. Чижиков, Е.А. Нургалева, Л.Т. Идрисова, М.А. Александров, О.А. Еникеев // Реаниматология. Её роль в современной медицине: материалы конференции, 13-15 мая 2004 г., Москва. – М., 2004. - С. 100-104.

17. Еникеев Д.А. Эндогенная интоксикация в динамике постреанимационного периода в эксперименте / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, А.Ф. Самигуллина, Л.М. Маликова, А.Р. Хайртдинова, Г.А. Байбурина, М.А. Александров // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. – 2004. - № 4: Актуальные вопросы патологии: материалы Межрегиональной науч.-практич. конф., посвящ. 70-летию кафедры патанатомии и патофизиологии БГМУ, 5-6 октября 2004 г., Уфа. – С. 83-86.

18. Еникеев Д.А. Оксид азота как фактор эндогенной интоксикации в постреанимационном периоде / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, А.Р. Хайртдинова, А.Ф. Самигуллина, И.В. Петрова, М.А. Александров, Г.А. Байбурина // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. – 2004. - № 4: Актуальные вопросы патологии: материалы Межрегиональной науч.-практич. конф., посвящ. 70-летию кафедры патанатомии и патофизиологии БГМУ, 5-6 октября 2004 г., Уфа. – С. 88-89.

19. Еникеев Д.А. Механизмы действия предварительной иммунизации стафилококковым анатоксином на постреанимационную патологию миокарда / Д.А. Еникеев, А.В. Чижиков, М.А. Александров, Е.А. Нургалева // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. – 2004. - № 4: Актуальные вопросы патологии: материалы Межрегиональной науч.-практич. конф., посвящ. 70-летию кафедры патанатомии и патофизиологии БГМУ, 5-6 октября 2004 г., Уфа. – С. 88-93.

20. Еникеев Д.А. Роль детоксицирующей функции гликозаминогликанов при эндогенной интоксикации в динамике постреанимационного периода / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, А.Ф. Самигуллина, А.Р. Хайртдинова, Г.А. Байбурина, М.А. Александров // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. – 2004. - № 4: Актуальные вопросы патологии: материалы Межрегиональной науч.-практич. конф., посвящ. 70-летию кафедры патанатомии и патофизиологии БГМУ, 5-6 октября 2004 г., Уфа. – С. 27-28.
21. Еникеев Д.А. Нарушения обмена гликозаминогликанов в динамике постреанимационного периода / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, А.Ф. Самигуллина, Г.А. Байбурина, М.А. Александров // Обмен веществ при адаптации и повреждении: труды IV межвузовской междунар. конф., посвящ. 90-летию каф. биохимии Ростовского ГМУ, 25-26 марта 2005 г., Ростов-на-Дону. – Ростов н/Д, 2005. – С. 74-75.
22. Еникеев Д.А. Динамика состояния эндотоксикоза в постреанимационном периоде в эксперименте / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, А.Ф. Самигуллина, Р.К. Игбаев // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области. – 2005. - № 1. – С. 36-36.
23. Еникеев Д.А. Патогенетические механизмы влияния предварительной иммунизации дифтерийным анатоксином на морфофункциональные показатели организма собак, перенесших терминальное состояние / Д.А. Еникеев, М.А. Александров, А.В. Чижиков, Е.А. Нургалеева, Л.Т. Идрисова, Р.М. Губайдуллин // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. – 2005. - № 7: Материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию основателя кафедры патофизиологии Башгосмедуниверситета, Засл. деятеля науки БАСССР, д.м.н., профессора В.А. Самцова. – С. 66-71.
24. Еникеев Д.А. Функциональные показатели сердечной деятельности, центрального кровообращения, вегетативной регуляции ритма сердца у собак, иммунизированных стафилококковым анатоксином, в течение длительного геморрагического шока и постгеморрагического периода / Д.А. Еникеев, М.А. Александров, А.В. Чижиков, Е.А. Нургалеева, Л.Т. Идрисова, Р.М. Губайдуллин, Е.К. Афанасьева // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. – 2005. - № 7: Материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию основателя кафедры патофизиологии Башгосмедуниверситета, Засл. деятеля науки БАСССР, д.м.н., профессора В.А. Самцова. – С. 71-76.
25. Еникеев Д.А. Процессы свободно-радикального окисления в тканях головного мозга и глаза крыс в динамике постреанимационного периода / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, А.Ф. Самигуллина, Л.В. Нагаева // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. – 2005. - № 7: Материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной

100-летию основателя кафедры патофизиологии Башгосмедуниверситета, Засл. деятеля науки БАССР, д.м.н., профессора В.А. Самцова. – С. 76-77.

26. Еникеев Д.А. Роль оксида азота в нарушении микроциркуляции сетчатки в постреанимационном периоде у крыс / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, А.Ф. Самигуллина, Л.В. Нагаева // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. – 2005. - № 7: Материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию основателя кафедры патофизиологии Башгосмедуниверситета, Засл. деятеля науки БАССР, д.м.н., профессора В.А. Самцова. – С. 77-79.

27. Еникеев Д.А. Взаимосвязь содержания гликозаминогликанов в печени крыс с эндогенной интоксикацией в постреанимационном периоде / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, Л.Т. Идрисова, А.Ф. Самигуллина, Г.А. Байбурина, Л.В. Нагаева, А.Р. Шафиков // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. - 2006. - № 2: Проблемные вопросы травматологии и ортопедии: материалы V съезда Ассоциации травматологов, ортопедов, протезистов Республики Башкортостан, посвящ. 40-летию кафедры травматологии и ортопедии Башгосмедуниверситета. – С. 30-32.

28. Еникеев Д.А. Патоморфологические параллели микроциркуляторных нарушений головного мозга и сетчатки глаза в постреанимационном периоде / Д.А. Еникеев, Л.Т. Идрисова, Е.А. Нургалева, Г.А. Байбурина, А.Ф. Самигуллина, О.В. Лаптев // Здравоохранение Башкортостана. Спец. выпуск. - 2006. - № 2: Проблемные вопросы травматологии и ортопедии: материалы V съезда Ассоциации травматологов, ортопедов, протезистов Республики Башкортостан, посвящ. 40-летию кафедры травматологии и ортопедии Башгосмедуниверситета. – С. 29-30.

29. Еникеев Д.А. Влияние гипоксии на процессы свободно – радикального окисления у крыс в постреанимационном периоде / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, А.Ф. Самигуллина, Ю.Л. Баймурзина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2007. – Т. 2, № 1. – С. 82-86.

30. Еникеев Д.А. Влияние перенесенного терминального состояния на содержание метаболитов соединительной ткани в эксперименте / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, С.А. Башкатов, А.Ф. Самигуллина, Л.Т. Идрисова // Патогенез. Приложение. – 2007. - № 1. – С. 10.

31. Еникеев Д.А. Влияние различных моделей умирания на нейрофизиологические механизмы восстановления мозга крыс в постреанимационном периоде / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, Л.В. Нагаева, Г.А. Байбурина, М.А. Александров, А.Ф. Самигуллина, Е.Р. Фаршатова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2008. – Т. 3, № 1. – С. 33-36.

32. Еникеев Д.А. Фагоцитарная активность и уровень провоспалительных цитокинов после перенесенной смертельной кровопотери и реанимации у крыс / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, Л.В. Нагаева, Г.А. Байбурина, В.И. Лехмус,

Н.В. Нургалеев // Медицинский вестник Башкортостана. – 2009. - № 2. – С. 83-85.

33.Еникеев Д.А. Влияние постреанимационной эндотоксемии на состояние миокарда и уровень гликозаминогликанов / Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалеева, Т.И. Мустафин, Е.Р. Фаршатова, Д.С. Куклин // Медицинский вестник Башкортостана. – 2010. - № 3: приложение. – С. 134-139.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

G-SH - глутатион восстановленный

I_{\max} – максимальная амплитуда медленной вспышки

iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота

nNOS – нейрональная синтаза оксида азота

NO – оксид азота

NOS – синтаза оксида азота

S – светосумма

α GST – α -глутатион-S-трансфераза

АКТГ – адренокортикотропный гормон

ВНД – высшая нервная деятельность

ВНиСММ – вещества низкой и средней молекулярной массы

ГАГ – гликозаминогликаны

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИИЭИ – интегральный индекс эндогенной интоксикации

МДА - малоновый диальдегид

ОАА – общая антиоксидантная активность

ОП – олигопептиды

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПСНП – пережатие сосудисто-нервного пучка

СК – смертельная кровопотеря

СРО – свободнорадикальное окисление

ТБК – тиобарбитуровая кислота

ТБК-рп – ТБК реагирующие продукты

УК – уроновые кислоты

ХЛ – хемилюминесценция

ЦНС – центральная нервная система

ВНД – высшая нервная деятельность

Т3 – трийодтиронин

Т4 – тироксин

ТТГ – тиреотропный гормон

РЕЗЮМЕ

докторской диссертации Е.А. Нургалеевой

«Патогенетические аспекты раннего и позднего эндотоксикоза в постреанимационном периоде (экспериментальное исследование)»

В работе проведено комплексное динамическое исследование патогенетических механизмов формирования эндотоксикоза в постреанимационном периоде, выполненное на двух моделях умирания у лабораторных животных (крысы, собаки). Установлены наличие эндотоксикоза до 35 суток наблюдения и его фазность в виде резких подъемов уровня эндотоксинов в ранний (1–3-и сутки), а затем в поздний (7–14 сутки) периоды. В формировании эндотоксинемии определена роль дискоординации деятельности центральных и периферических желез, проявляющейся в виде гипотиротропинемии при снижении уровня йодтиронинов, гиперкортизолемии на фоне увеличенного уровня АКТГ. Установлена взаимосвязь усиления эндотоксинемии с цитокиновым дисбалансом, с интенсификацией свободнорадикальных процессов, по выраженности превышающих адаптивные резервы антиоксидантных систем, а также с нарушениями механизмов детоксикации в виде снижения содержания восстановленной формы глутатиона и активности глутатионтрансферазы. Вторичное усиление эндотоксикоза обусловлено формированием полиорганной недостаточности, достигающей максимума к 7-14 суткам с момента оживления.

SUMMARY

"Pathogenic aspects of early and late postresuscitation endotoxemia (experimental study)"

The paper focuses on a complex dynamics study of the pathogenetic mechanisms of postresuscitation endotoxemia development. Two experimental models of animal dying (rats, dogs) were used in the study. The presence of endotoxemia at 35 observation days and its phase activity in the form of sharp endotoxin elevation during the early period (1–3 days) followed by late (7-14 days) periods have been noted.

The role of coordination imbalance of central and peripheral glands activity has been shown in endotoxemia development. Hypothyrotropinemia was accompanied by a reduced level of iodothyronines hypercortizolemia occurred with ACTH increased level. There was a stable relationship of endotoxemia increase with cytokine imbalance, intensification of free radical processes according to the expression of exceeding reserves of antioxidant systems as well as detoxification mechanisms violations in a form of content reduction of restored form of glutathione and glutathionetransferase activity. The secondary endotoxemia elevation is due to the development of multiple organ insufficiency maximal at 7-14 resuscitation days.

Нургалсева Елена Александровна

**Патогенетические аспекты раннего и позднего
эндотоксикоза в постреанимационном периоде
(экспериментальное исследование)**

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Лицензия № 0177 от 10.06.96 г.

Подписано к печати 30.09.2013 г.

Отпечатано на ризографе с готового оригинал-макета,
представленного авторами.

Формат 60x84 1/16. Усл.-печ. л. 2,8.

Тираж 100 экз. Заказ № 118

450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3,

Тел.: (347) 272-86-31

ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России