На правах рукописи

БЕДНОВ ИГОРЬ АНАТОЛЬЕВИЧ

# ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СЕРОСОДЕРЖАЩИМ ГАЗОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Специальность 03.00.13 - физиология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Астрахань - 2004

Работа выполнена в Астраханской государственной медицинской академии

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор
Тризно Николай Николаевич

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор
Сентюрова Людмила Григорьевна

доктор биологических наук
Кондратенко Елена Игоревна

**Ведущая организация:**
Ставропольский государственный университет.

Защита состоится 29 октября 2004 года в 10— часов в ауд. .№ 17 на заседании диссертационного совета ДМ 212.009.01 при Астраханском государственном университете по адресу: 414000, Астрахань, пл. Шаумяна, 1. Естественный институт АГУ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного университета по адресу: 414056, Астрахань, ул. Татищева, 20а»

Автореферат разослан «28» сентября 2004г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук Нестеров Ю.В.

2005-4
14832

998987

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Интенсивная хозяйственная деятельность человека оказывает резко негативное влияние на окружающую среду, важную роль в котором играет загрязнение сложными химическими поллютантами. Значительная доля вины в этом лежит на крупных промышленно - технологических комплексах (Агаджанян Н.А. с соавт., 2003; Логинов П.В., 2004).

Среди промышленных предприятий Астраханского региона газоперерабатывающий комплекс (АГК) занимает особое место. Условия труда на большинстве рабочих мест предприятия характеризуются наличием ряда вредных и опасных факторов производственной среды, что обусловлено особенностями добываемого и перерабатываемого углеводородного сырья и характером технологических процессов (Щугорев В.Д., Бучин В.Н., 2001).

Особую актуальность в этой связи представляют данные о последствиях токсического действия серосодержащего газа (ССГ) в дозах малой интенсивности (Сетко Н.П., 1985; Боев В.М. с соавт., 2001).

В настоящее время имеется достаточное количество сведений о влиянии производственных факторов в газовой промышленности на состояние различных систем организма человека. При проведении эколого - медицинского мониторинга здоровья работников ООО «Астраханьгазпром» сотрудниками Научно - практического медицинского комплекса «Экологическая медицина» показано, что заболеваемость ЛОР-органов у работников АГК составила 30,4% (Субботин А.В. с соавт., 2001). В период с 1995 по 1999 гг. отмечался рост инвалидизации у трудящихся АГК по болезням нервной системы и органов чувств с 6,8% до 8,6%; по болезням костно-мышечной системы с 2% до 13% (Афонина Н.В. с соавт., 2001). У рабочих всех производств определялось достоверное повышение ферментативной активности печени и уровня общего и прямого билирубина по сравнению с контролем, изменение клеточного состава крови, свойств гемоглобина и нарушение газового состава крови (Лазько А.Е., Резаев А.А., 1993; Иванов А.В., Балашов В.И., 2001).

Кроме того установлено, что не только у рабочих, но и у проживающих в санитарно-защитных зонах влияния выбросов АГК высок удельный вес ЛОР-патологии и бронхообструктивных заболеваний (Гаврилова Н.К., 1980; Джумагазиев А.А. с соавт., 1993; Трубников Г.А. с соавт., 1994).

Отсутствие единой точки зрения на механизм действия серосодержащими поллютантами является причиной малой эффективности

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ БИБЛИОТЕКА
С.Петербург
09 2004 авт 709

профилактики и терапии возникающих метаболических нарушений (Васильков В.Н. с соавт., 1984; Голиков С.Н. с соавт., 1986). В этой связи остается открытым вопрос в поиске лекарственных и нелекарственных способов коррекции изменений вызванных ССГ, которые за короткий срок с наименьшими побочными эффектами могли бы устранять симптомы этих нарушений.

Для характеристики нарушений, вызванных воздействием ССГ, следует одновременно в короткие сроки определять возможно большее количество функциональных и биохимических показателей. В этих случаях использование традиционных исследований требует наличия специального лабораторного оборудования и штат обученного персонала. В связи с этим, разработка новых высокоинформативных и несложных в техническом исполнении методов диагностики на раннем, доклиническом этапе развития хронической интоксикации ССГ актуальна и имеет практическое значение.

Все вышесказанное определяет необходимость изучения механизмов токсического действия ССГ, внедрения в практику новых методов диагностики, профилактики и рациональной терапии возникающих нарушений, а также контроля за эффективностью проводимого лечения.

Цель исследования. Изучить особенности биохимических изменений и системной организации сыворотки крови методом клиновидной дегидратации у экспериментальных животных в условиях хронического воздействия серосодержащим газом, с последующей их коррекцией.

Задачи исследования:

1. Оценить состояние системы ПОЛ - АОЗ в крови у крыс в условиях длительного действия природного серосодержащего газа.
2. Выявить особенности формирования гипоксического состояния при длительном воздействии ССГ.
3. Определить индекс токсемии у животных, подвергшихся хроническому воздействию серосодержащим газом.
4. Изучить системную организацию сыворотки крови экспериментальных животных методом клиновидной дегидратации в условиях длительного воздействия ССГ.
5. Исследовать возможности фармакологической коррекции нарушений, возникающих при хроническом воздействии серосодержащим газом.

**Научная новизна:**

**1**. Впервые определена динамика колебаний уровня ВН и СММ и

олигопептидов в крови и моче при длительном воздействии ССГ.

2. Впервые выявлены особенности структурной организации сыворотки крови методом клиновидной дегидратации у животных при хронической интоксикации ССГ.
3. Впервые установлена тождественность изменений системной организации сыворотки крови с нарушениями в системе ПОЛ - АОЗ, развитием гипоксии и нарастанием уровня ВЫ и СММ и олигопептидов в крови и моче в условиях хронического воздействия ССГ.
4. Впервые для определения функциональных изменений, вызванных длительным воздействием ССГ, установлены наиболее информативные биохимические и биофизические показатели крови, составившие «диагностическую панель».
5. Впервые для коррекции метаболических нарушений при длительном воздействии ССГ использован фармпрепарат нового поколения «Олифен».

**Положения, выносимые на защиту.**

1. Метаболические нарушения у экспериментальных животных при хронической интоксикации природным промышленным серосодержащим газом Астраханского месторождения в концентрации 3 мг/м$^3$(по сероводороду) связаны с длительностью его воздействия.
2. Длительное воздействие ССГ в предельно допустимых концентрациях вызывает повышение уровня ВН и СММ и олигопептидов в крови и моче.
3. Структурный анализ сыворотки крови методом клиновидной дегидратации позволяет оценить уровень интоксикации ССГ на ранних этапах ее развития.
4. Предложенный минимальный набор биохимических и биофизических методов - «диагностическая панель» отражает степень выраженности изменений при воздействии ССГ.
5. Препарат нового поколения «Олифен» оказывает существенную коррекцию физиолого-биохимических нарушений, вызванных малыми дозами ССГ.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные данные позволяют расширить понимание механизмов развития интоксикации при длительном воздействии малых доз ССГ. Результаты экспериментов показывают, что отравление организма наступает не только метаболитами серосоединений, но и продуктами нарушенного обмена, являющимися причиной активации СРО, формирования гипок-

сии, эндогенной интоксикации, и могут быть использованы в теоретической и клинической практике.

Для диагностики хронической интоксикации ССГ предложен спектр наиболее информативных биохимических методов, составляющих так называемую «диагностическую панель». Впервые для ранней доклинической диагностики изучаемой патологии экспериментально апробирован достаточно чувствительный и простой в исполнении метод, основанный на клиновидной дегидратации биологических жидкостей.

Представлены данные о выраженном антиоксидантном, антигипоксическом и антитоксическом действии фармпрепарата «Олифен» при длительной интоксикации ССГ.

Предполагается, что реализация результатов НИР на практике будет способствовать сохранению здоровья у лиц, подвергшихся токсическому воздействию ССГ.

**Апробация работы.** Результаты исследования доложены и обсуждены в сборнике научных трудов, посвященных 20-летию ООО «Астраханьгазпром», - «Проблемы охраны здоровья и окружающей среды» (Астрахань, 2001); на **III** Международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2002); на I Астраханской областной научно-практической конференции «Лекарство и здоровье человека» (Астрахань, 2002); в журнале «Вестник новых медицинских технологий» (2003); на XI Международном симпозиуме «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Москва, 2003); на научной конференции, посвященной 150-летию со дня рождения П.М. Альбицкого, - «Механизмы типовых патологических процессов», опубликовано в Медицинском академическом журнале (2003); на III Всероссийской научно-практической конференции «Функциональная морфология биологических жидкостей» (Москва, 2004). Всего по материалам диссертации опубликовано 11 работ..

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения, выводов и списка литературы. Общий объем диссертации 143 страницы **с** 11 таблицами и 23 рисунками. Список литературы включает 234 публикации, в том числе 47 иностранных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования.**

Для изучения физиологических механизмов хронического воздействия серосодержащим газом использовался промышленный природный серосодержащий газ Астраханского, месторождения. Модель

хронической интоксикации при ингаляции воздушно-газовой смеси создавалась согласно гигиеническим нормам к требованию выполнения и воспроизведения эксперимента ("Токсикометрия химических веществ", 1986).

Статические ингаляционные затравки животных осуществлялись в специальных затравочных камерах, производства Московского института профзаболеваний и гигиены труда им. Эрисмана, объемом 200 литров. Эксперименты проводились на интактных животных с составлением газовой смеси воздуха с ССГ в концентрации 3 мг/м$^3$ по сероводороду, являющимся наиболее активным компонентом природного газа (Грушко Я.М., 1986; Копанев В.А. с соавт., 1988).

Определение концентрации сероводорода в используемых воздушно-газовых смесях проводилось с использованием индикаторных трубок для определения сероводорода фирмы "Auer" - Berlin (West), Bestell - Nummer 5085-826.

Модель экспериментальной хронической интоксикации на крысах получали при помещении их в воздушно-газовую атмосферу в течение 4-х часов, 5 дней в неделю. Продолжительность хронической интоксикации составила 4 месяца. Первое выведение животных из эксперимента осуществлялось через 2 недели от начала опыта, в дальнейшем - через каждый месяц. По окончании эксперимента по 12 животных из каждой серии оставлялись на 1 месяц с целью оценки исследуемых показателей после восстановительного периода.

В эксперименте использовались лабораторные белые беспородные крысы обоего пола, возрастом 1-1,5 года и массой 180 - 250 г. Для решения поставленных задач у 180 животных было проанализировано 3780 полученных данных.

Препарат «Олифен» вводили внутрижелудочно с помощью металлического зонда, растворенным в теплой воде, раз в сутки, в концентрации 15 мг/кг, в течение 5 дней до взятия проб. Животные, оставленные на следующий срок эксперимента, вновь получали препарат на протяжении недели перед определением исследуемых показателей, в течение всего срока хронической интоксикации и в 30 суточный восстановительный период.

**Методики исследования.**

Определение диеновых конъюгатов и малонового диальдегида проводили фотометрическим способом по методам И.Д.Стальной (1977). Определение активности каталазы крови осуществлялось по методу А. Баха и Н. Зубковой, в модификации В.С. Асатиани (1969), основанному на способности каталазы разлагать перекись водорода, избыток которой титруется перманганатом калия в кислой среде. Под-

счет эритроцитов проводился по общепризнанной методике **с** использованием счетной камеры Горяева. Для определения общего гемоглобина, метгемоглобина и сульфгемоглобина использовался гемоглобинцианидный метод со спектрофотометрией. Перекисная резистентность эритроцитов определялась по методу А.А. Покровского, А. А. Абрарова (1964). Определение концентрации молочной кислоты проводили с помощью колориметрирования по методу Л.Г. Смирнова (1960), а пировиноградной - по методу Ю.Б. Филипповича (1982). Для оценки наличия тканевой гипоксии рассчитывали отношение молочной кислоты к пировиноградной и избыток лактата - excese laktate (Huckabee W.E., 1970).

Эндотоксемия изучалась по методу М.Я. Малаховой с соавт.(1989) с определением веществ низкой и средней молекулярной массы, олигопептидов в плазме, эритроцитах и моче. Индекс токсемии (ИТ), представляет собой условную величину и рассчитывался как произведение концентрации ВН и СММ и ОП в плазме ($ИТ_{пл}$) или эритроцитах ($ИТ_{эр}$).

Клиновидная дегидратация сыворотки крови проводилась по методу В.Н. Шабалина и С.Н. Шатохиной (2000). Метод основан на том, что дегидратированная капля сыворотки крови представляет собой стандартный тонкий срез высокоподвижной ткани, структуры которой упорядочиваются и фиксируются в процессе дегидратации. Сыворотку крови в объеме 20 мкл наносили с помощью микродозатора на предметное стекло. Капля высушивалась 24 часа, при температуре 20 - 25 $C^0$ и относительной влажности 60 - 70%. Исследование системной организации дегидратированной капли проводилось с помощью стереомикроскопа MZ - 12 фирмы «Leica». Используемое увеличение объекта составляло от x10 до x100.

Все полученные в ходе эксперимента результаты обрабатывали на персональном компьютере AM PS 80 486 с использованием стандартного пакета программ Excel для Windows 95. Рассчитывали среднюю величину (M) и стандартную ошибку (± m). Определяли статистическую достоверность (p).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при хроническом воздействии природного серосодержащего газа.**

Активация процессов СРО является универсальной реакцией организма на действие неблагоприятных факторов окружающей среды, в том числе и действия ССГ, и считается непременным звеном патогене-

тических механизмов стрессорного повреждения органов и тканей организма (Меерсон Ф.З., 1984; Самойлов М.О., 1999; Christman B.W., Bernard G.R., 1993).

В проведенных нами исследованиях отмечались изменения основных показателей ПОЛ - АОЗ в крови подопытных животных. Первоначально, через 14 суток интоксикации ССГ, содержание диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в крови были несколько ниже контрольных показателей (ДК на 4%, а МДА на 23,1%), а уровень каталазы повышался на 6,7% (таблица 1). Вероятно, такие изменения на раннем этапе хронического воздействия ССГ связаны с тем, что происходит активация детоксикационной системы и, в частности, системы связывания и транспорта токсичных субстанций белками и клетками крови (Боев В В., Сетко Н.П., 2001).

Далее, с первого месяца и до конца эксперимента содержание продуктов ПОЛ в крови нарастало, а уровень каталазы стабильно снижался. Содержание диеновых конъюгатов в крови крыс на протяжении 1-го месяца хронической интоксикации увеличилось на 4,9%, через 2 месяца - на 18,9%, к 90-м суткам - на 50,4% и к концу эксперимента оставалось выше контрольных показателей. Параллельно отмечалось повышение уровня малонового диальдегида (МДА) ко 2-му месяцу на 47,5%, к 3-му месяцу на 89,2%, и к концу 4-го месяца на 90,6%. Уровень каталазы, напротив, снижался во все периоды наблюдения, достигая минимальных значений к концу эксперимента (таблица **1).**

**Таблица 1**

**Показатели липопероксидации в крови крыс при хроническом воздействии ССГ (M ± m; n =12)**

| Условия эксперимента | | Показатели | | |
|---|---|---|---|---|
| | | ДК (нмоль/мг) | МДА (нмоль/мл) | Каталаза (ммоль/мл) |
| Контроль | | 47,0 ± 3,4 | 13,19 ±0,09 | 100,4 ±6‰5 |
| Сроки интоксикации | 14 суток | 45,1 ±4,7 | **10,12 ± 0,18** | 107,1 ±5,3 |
| | 30 суток | 49,3 ± 5,2 | 15,94 ±0,14 | 85,0 ±4,7* |
| | 60 суток | 55,9 ±3,4* | 19,46 ±0,29* | 72,4 ± 4,8* |
| | 90 суток | 70,7 ± 6,2* | 24,95 ±0,17* | 68,9 ± 2,6* |
| | 120 суток | 72,8 ±7,3* | 25,14 ±0,24* | 63,7 ± 3,9* |
| 30 суток восстановительного периода | | 56,58 ± 5,5 | 17,52 ±0,33* | 92,5 ±5,1 |

Примечание: * - обозначена степень достоверности при P < 0,05 по сравнению с контролем.

За 30-ти суточный восстановительный Период содержание ДК и МДА в крови животных снижалось, однако оставалось выше контрольных показателей на 20,4% и 32,8% соответственно, а уровень каталазы приближался к норме.

Таким образом, на начальном этапе эксперимента не происходит накопления продуктов ПОЛ и даже отмечается некоторое уменьшение их концентрации в крови. Более длительное воздействие ССГ приводит к нарушению в системе ПОЛ - АОЗ в сторону усиления пероксидации и снижению активности антиоксидантных ферментных систем.

**Особенности формирования гипоксического состояния у экспериментальных животных в условиях хронического воздействия ССГ.**

По результатам эксперимента, количество эритроцитов к 60-м суткам наблюдения увеличилось на 27,3%, концентрация общего гемоглобина снизилась на 5,9%, при одновременном уменьшении концентрации оксигемоглобина на 8,3% и увеличении содержания сульф- и метгемоглобина на 100% и 34,4% соответственно (таблица 2). Такое повышение количества эритроцитов, на фоне их гипохромии, вероятно, связано с активацией эритропоэза, который является компенсаторно - приспособительной реакцией к развивающейся гипоксии.

**Таблица 2**

**Количественное изменение эритроцитов, гемоглобина и его соединений в крови при хронической интоксикации ССГ в концентрации 3 мг/м$^3$ (по сероводороду) (M±m;n=12)**

| Условия опыта | | Показатели | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Эритроциты ($10^{12}$/л) | Hb (г/л) | $HbO_2$ (г/л) | MetHb (г/л) | SulHb (г/л) |
| Контроль | | 6,73±0,22 | 149,2 + 0,76 | 146,410,23 | 3,210,48 | 0,610,13 |
| Сроки интоксикации | 14 сут. | 6,8210,24 | 150,7811,12 | 145,2610,35 | 3,310,56 | 1,1+0,22* |
| | 30 сут. | 7,0110,17 | 130,3810,94* | 124,7210.22* | 4,8 10,42* | 1,310,53* |
| | 60 сут. | *8,5710,31* | 140,0910,63* | 134,2510,15* | 4,3 10,34* | 1,210,31* |
| | 90 сут. | 6,5710,27 | 106,6010,82* | 96,1410,44* | 7,5 10,58* | 2,4 10,38* |
| | 120 сут. | 4,7010,10* | 98,7810,24* | 87,9410,37* | 8,0+1,25* | 2,610,98* |
| ЗО сут. восстановит, периода | | 4,5610,21* | 95,9210,45* | 84,7810,54* | 8,210,77* | 2,4 10,57* |

Примечание: * - обозначена степень достоверности по сравнению с контролем при $P < 0,05$.

Начиная с 3-го месяца хронического воздействия ССГ и до конца наблюдения, количество эритроцитов снизилось на 30,13%, уровень общего гемоглобина на 29,1%, при повышении сульфгемоглобина на 333,3% и метгемоглобина на 150% (таблица 2). Эритропения, наблюдаемая в этой фазе, очевидно, обусловлена срывом механизмов компенсации, причиной которых послужило развитие глубокой гипоксии с блокадой катализаторов в результате образования комплекса FeS, что согласуется с данными ряда исследователей (Збуржинский В.К., 1962; Иваненко Н.А., 1976).

В течение 30 суточного восстановительного периода количество эритроцитов относительно контроля было снижено на 32,3%, общего гемоглобина - на 33,7%, оксигемоглобина - на 42,1%. Оставалось высоким содержание сульф - и метгемоглобина, которые превышали «норму» на 300% и 156% соответственно.

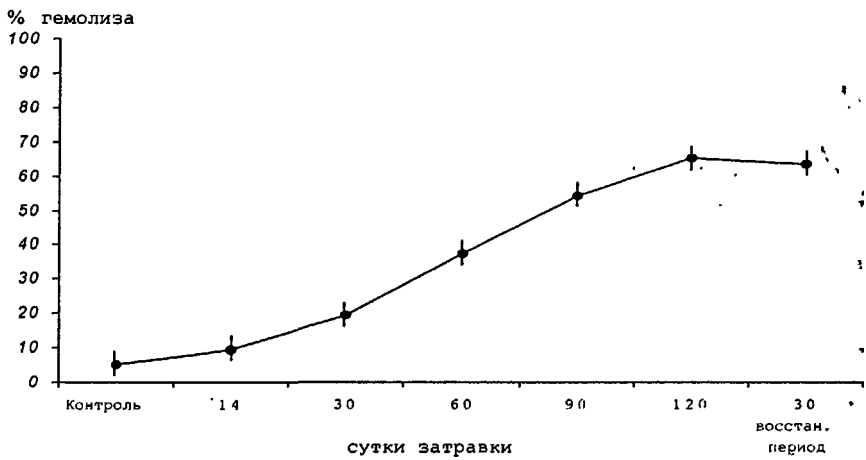



**Рис.1. Влияние хронического воздействия ССГ на перекисную резистентность эритроцитов (%)($M \pm m$; $n = 12$)**

Развитие анемии к концу эксперимента, по нашему мнению, связано также с перекисным гемолизом эритроцитов, показателем чего служит прогрессивное снижение их перекисной резистентности (рис.1). Этот показатель к концу 4-го месяца эксперимента составил 65,1 ± 0,8% (при контроле 4,95 ± 0,6%).

Вместе с тем, в формировании гипоксии чрезвычайно большое

значение приобретают процессы мобилизации гликолиза, конечным продуктом которого, как известно, является молочная кислота (Сейц И.Ф., 1961; Ленинджер А., 1966). Так, по результатам нашего наблюдения уровень молочной кислоты к концу эксперимента превышал контрольные показатели на 99,7% и составил 6,19 ± 0,39 ммоль/л, концентрация пировиноградной кислоты повышалась на 30,8% (0,17±0,02 мсчвыуц32моль/л при контроле 0,13±0,01 ммоль/л), а отношение М/П составило 36,4±2,39%, при контроле 23,8±2,87% (таблица 3).

Таблица 3

Изменение концентраций молочной, пировиноградной кислот в крови и процентное отношение этих кислот при хроническом воздействии ССГ в концентрации 3 мг/ м$^3$ ( по сероводороду) (M±m;n=12)

| Условия опыта | | Показатели | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Молочная кислота (ммоль/л) | Пировиноград-ная кислота (ммоль/л) | Отношение М/П (%) |
| Контроль | | 3,10 ±0,35 | 0,13 ±0,01 | 23,8 ±2,87 |
| Сроки интоксикации | 14 суток | 2,74 ±0,42 | 0,09 ± 0,02 | 30,4 ±3,14 |
| | 30 суток | 3,56 ±0,33 | 0,13 ±0,04 | 27,4 ± 2,92 |
| | 60 суток | 4,36 ±0,56 | 0,14 ±0,03 | 31,1 ±3,02* |
| | 90 суток | 5,37 ± 0,47* | 0,15 ± 0,01 | 35,8 ±2,84* |
| | 120 суток | 6,19 ±0,39* | 0,17 ±0,02* | 36,4 ± 2,39* |
| 30 суток восстановительн. периода | | 5,83 ± 0,27* | 0,15 ±0,03 | 38,9 ±3,08* |

Примечание: * - обозначена степень достоверности по сравнению с контролем при P < 0,05.

Таким образом, при длительном воздействии ССГ в концентрации 3 мг/м$^3$ (по сероводороду) у крыс развивается гемическая гипоксия, в формировании которой решающее значение играет угнетение эритропоэза и развитие сульф- и метгемоглобинемии, а также тканевая, показателем чего служит повышение в крови продуктов гликолиза.

**Динамика показателей эндогенной интоксикации при хроническом воздействии серосодержащими поллютантами.**

Во все сроки наблюдения показатели эндотоксемии превышали контрольные результаты. К концу эксперимента ИТ превышал контроль на 16%, концентрация ВЫ и СММ плазмы на 41,1%, а ВН и СММ эритроцитов на 20,2%. Содержание ОП плазмы увеличилось относительно контрольных данных на 38,9%, а ОП эритроцитов на 25,6% (таблица 4).

Уровень ВН и СММ и ОП в моче достоверно увеличивался со второго месяца интоксикации. Максимальная концентрация ВН и СММ мочи и ОП отмечалась к концу 3-го месяца эксперимента, когда их уровень вырос соответственно на 30,5% и 23,1%.

К концу 4-го месяца наблюдения концентрация ВН и СММ и ОП в моче снижалась при продолжающемся нарастании этих веществ в крови, особенно в плазме, что возможно связано с нарушением экскреторной функции почек.

**Структурный анализ сыворотки крови крыс при длительной ингаляции ССГ посредством клиновидной дегидратации.**

Тяжесть состояния организма при хронической интоксикации ССГ обусловлена каскадом патологических реакций, образующих порочный круг, в поддержании которого большое значение имеет активация процессов ПОЛ, развивающаяся гипоксия смешанного характера и синдром эндогенной интоксикации. Продукты нарушенного метаболизма поступая в биологические жидкости организма и, в частности, в плазму крови приводят к нарушению физиологического ритма химической активности его структур, что четко отражается в морфологической картине твердой фазы биожидкости (Шабалин В.Н., Шатохина С.Н., 2000).

Наши наблюдения показали, что уже через две недели эксперимента в фациях сыворотки крови **у** 91,7% крыс отмечались жгутовые трещины - признаки гипоксии, которые определялись как в центральной, так и в промежуточной области. Радиальные трещины имели различную величину, толщину и направление, однако в целом системная организация сыворотки крови сохраняла определенный порядок и данный тип фаций был отнесен к «упорядоченному» (таблица 5).

Таблица 4

Показатели эндогенной интоксикации при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа (M ± m; n = 12)

| Показатели эндотоксикации | Контроль | Сроки интоксикации | | | | | 30 суток восстановительного периода |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 14 ' суток | 30 суток | 60 суток | 90 суток | 120 суток | |
| ВН и СММ плазмы (усл ед.) | 12,9±0,20 | 13,2 ±0,62 | 13,9 ±0,40 | 15,4±0,30* | 16,8 ±0,40* | 18Д±0,40* | 14,9 ±0,40* |
| ВНиСММ эрктроиктов (усл. еа) | 26,2 ±0,09 | 27,6 ±0,25 | 29,1 ±0,80* | 303 ±038* | 31,2 ±0,61* | 31,5±0,19* | 283 ±0,13 |
| ВН и СММ мочи (усп.ед) | 21,0±1,4 | 21,2 ±1,0 | 22,4 ±1,0 | 253 ±1,6* | 27,4 ± 13* | 25,7 ±0,09* | 23,2 ±1,1 |
| Индекс токсемии (усл ед) | 0,50±0,02 | 0,48 ±0,02 | 0,48 ±0,09 | 0,51 ±0,02 | 0,54 ±0,08* | 0,58 ±0,04* | 0,52 ±0,04 |
| ОП плазмы (г/л) | 0,54 ±0,07 | 0,56 ±0,09 | 0,58 ±0,03 | 0,62 ±0,04* | 0,68 ±0,05* | 0,75 ±0,07* | 0,60 ±0,01* |
| ОП эритроцитов (г/л) | 0,86 ±0,04 | 0,90 ±0,09 | 0,97 ±0,06* | 1,00±0,11* | 1,05 ±0,03* | 1,08 ±0,03* | 0,94 ±0,06* |
| ОП мочи (г/л) | 0,13 ±0,02 | 0,13 ±0,06 | 0,14 ±0,04 | 0,14 ±0,08 | 0,16 ±0,03 | 0,15 ±0,02 | 0,14 ±0,05 |

Примечание: * - обозначена степень достоверности по сравнению с контролем при P < 0,05.

**Таблица 5**

**Распределение видов патологических образований в фациях сыворотки крови у крыс при длительном воздействии ССГ (n = 12)**

| Условия эксперимента | | Патологические структуры (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Жгутовые | Трехлучевые | Гребешковые | Трещины «конусы» и «серебра» | Токсические бляшки |
| Контроль | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Сроки эксперимента | 14 суток | 91,7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 30 суток | 100 | 100 | 8,3 | 0 | 8,3 |
| | 60 суток | 100 | 100 | 16,7 | 0 | 33,3 |
| | 90 суток | 100 | 100 | 33,3 | 8,3 | 41,7 |
| | 120 суток | 100 | 100 | 50 | 25 | 75 |
| 30 суток восстановительного периода | | 25 | 58,3 | 0 | 0 | 0 |

Через 30 суток наблюдения структуры типа жгута были более выражены, что характеризовалось появлением в центральной зоне фации жгутовых образований, закручивающихся в 2 - 3 кольца и образующих крупные спирали. В 8,3% случаев **в** краевой зоне фации отмечались гребешковые структуры - признак нарушения микроциркуляции и ангиоспазма и бляшкообразные структуры - признак интоксикации. В целом тип фаций сохранял упорядоченность при наличии выраженных патологических структур (рис. 2). Таким образом, структурный анализ сыворотки крови методом клиновидной дегидратации, на ранних этапах интоксикации ССГ в предельнодопустимых концентрациях, отражает ее ведущие механизмы. Биохимические методы исследования в данные сроки достоверных изменений не показывают.

К концу эксперимента отмечались более выраженные нарушения структурообразования фаций. Фации этих животных имели низкий уровень структурирования, были четко разделены на две зоны (промежуточная зона отсутствовала или была слабовыражена) (рис 2). Продольные трещины располагались иррадиально. В центральной зоне у всех животных большое количество мелких жгутовых образований.



а



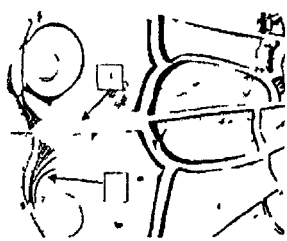
б



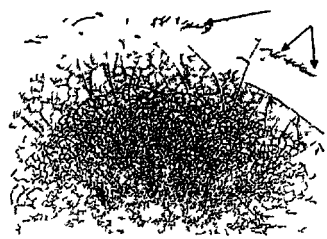
в



г



д



е

Рис 2 Фации сыворотки крови крыс при хроническом воздействии ССГ в концентрации 3мг/м$^{1}$(а - интактное животное, х 10, б - фрагмент фации - жгутовые блоки в центральной зоне, 30 сутки наблюдения, х 50 в - локальные концентрические волны в краевой зоне фации, 60 сутки наблюдения, х 10, г - фрагмент фации - «токсические бляшки», 90 сутки наблюдения, х 25, д - фрагмент фации - трещина «конус» (а), трещины «серебра» (б) 120 сутки наблюдения, х 45, е - фрагмент фации - «гребешковые структуры», 120 сутки наблюдения х 25

В краевой зоне у 50% крыс в фациях сыворотки крови отмечались гребешковые структуры, у 75% - токсические бляшки (таблица 5). Структурная организация сыворотки крови в 100% случаев имела «депрессивный» характер.

Тридцатисуточный восстановительный период показывает, что у большинства животных происходит восстановление структуропостроения фаций и исчезают признаки интоксикации и гипоксии, что согласуется с литературными данными об отсутствии кумулятивного эффекта у сероводорода (Yant W.P., 1930; Ahlborg G., 1951).

Выявленная нами тождественность морфоструктурного анализа сыворотки крови и ее биохимических показателей позволяет оценить информативность метода клиновидной дегидратации и использовать его для диагностики тяжести и степени выраженности интоксикаций ССГ.

**Экспериментальное обоснование применения «Олифена» при хроническом воздействии ССГ.**

Учитывая основные физиологические механизмы воздействия ССГ, для коррекции возникающих нарушений нами был использован «Олифен». Этот препарат нового поколения обладает выраженным антигипоксантным, антиоксидантным и антитоксическим действием (Медведев Ю.В., Толстой А.Д., 2000), однако'его применение при хронической интоксикации ССГ в доступной нам литературе не найдено.

Для оценки протекторного действия «Олифена» использовался метод клиновидной дегидратации, а также биохимические параметры крови (концентрация МДА крови, отношение молочной и пировиноградной кислот, а также индекс токсемии), которые и составили основу «диагностической панели» (таблица 6).

За весь период наблюдения у животных обеих групп отмечались признаки гипоксии и интоксикации. Однако если в 1-ой группе структуры типа жгута и токсические бляшки наблюдались в начальные сроки воздействия ССГ, то во 2-ой группе животных, получавших «Олифен», эти признаки имели меньшую выраженность.

На фоне препарата «Олифен» к концу эксперимента фации сыворотки крови 41,7% животных сохраняли радиальный ритм, у 33,3% крыс фации имели «депрессивный» характер. В те же сроки в 1-ой группе «депрессивный» характер фаций отмечался в 100% случаев. Выраженность патологических структур в фациях второй группы животных, получавших препарат коррекции, меньше, чем в первой (таблица 7). Морфоструктурные изменения сыворотки крови подтверждаются и биохимическими показателями.

За 30-ти суточный восстановительный период 66,7% фаций сыво-

ротки крови крыс, получавших препарат коррекции, имели упорядоченный характер. Признаки гипоксии отмечались только в 8,3% случаев, а токсические бляшки не определялись. Отмечалось так же достоверное восстановление биохимических показателей крови (таблица 6).

**Таблица 6**

**Биохимические показатели крови крыс при хроническом воздействии ССГ, в концентрации Змг/м$^3$ (по сероводороду), на фоне применения фармпрепарата «Олифен» (M ± m; n = 12)**

| Условия эксперимента | | | Показатели | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | МДА (нмоль/мл) | Отношение М/П • (%) | Индекс токсемии (усл.ед) |
| Контроль | | | 13,19 ±0,09 | 23,8 ±2,87 | 0,50 ± 0,02 |
| Контроль+(Олифен) | | | 12,92 ±0,02 | 23,2 ±2,03 | 0,49 ± 0,09 |
| Сроки интоксикации | 14 суток | 3 мг/м$^1$ | 10,12±0,18 | 30,4 ±3,14 | 0,48 ± 0,02 |
| | | 3 мг/м$^1$ + Олифен | 9,81 ±0,25 | 28,1 ±2,73 | 0,48 ± 0,05 |
| | 30 суток | 3 мг/м$^1$ | 15,94 ±0,14 | 27,4 ± 2,92 | 0,48 ± 0,09 |
| | | 3 мг/м$^1$ + Олифен | 14,10 ±0,22 | 25,8 ±1,80 | 0,48 ± 0,03 |
| | 60 суток | 3 мг/м$^3$ | 19,46 ±0,29 | 31,1 ±3,02 | 0,51 ±0,02 |
| | | 3 мг/м$^1$ + Олифен | **15,10 ± 0,12*** | 28,5 ± 2,54 | . 0,49 ± 0,07 |
| | 90 суток | 3 мг/м$^1$ | 24,95 ±0,17 | 35,8 ±2,84 | : 0,54 ± 0,08 |
| | | 3 мг/м$^1$ + Олифен | 19,51 ±0,32* | 29,4 ±1,38* | 0,50 ± 0,03 |
| | 120 суток | 3 мг/м$^1$ | 25,14 ±0,24 | 36,4 ± 2,39 | 0,58 ± 0,04 |
| | | 3 мг/м$^1$ + Олифен | 21,11 ±0,20* | 31,7+1,92* | 0,52 ±0,01* |
| 30 суток восстановительного периода | | 3 мг/м$^1$ | 17,52 ±0,33 | 38,9 ± 3,08 | 0,52 ± 0,04 |
| | | 3 мг/м$^1$ + Олифен | 14,83 ±0,51* | 32,6 ±1,87* | 0,50 ± 0,07 |

Примечание: * - обозначена степень достоверности при P < 0,05 по сравнению с соответствующей группой животных, не получавших «Олифен».

**Таблица 7**

**Распределение видов патологических образований в фациях сыворотки крови у крыс при хроническом воздействии ССГ на фоне препарата «Олифен» (п = 12).**

| Условия эксперимента | | | Патологические структуры (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Жгутовые | Трехлучевые | Гребешковые | Трещины «конусы» и «серебра» | Токсические бляшки |
| Контроль | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Контроль + Олифен | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Сроки эксперимента | 14сут | 3 мг/м$^1$ | 91,7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 3 мг/м^Олифен | 75 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ЗОсуг | 3 мг/м' | 100 | 100 | 8,3 | 0 | 8,3 |
| | | 3 мг/м^Олифен | 100 | 75 | 0 | 0 | 0 · |
| | 60 сут | 3 мг/м$^1$ | 100 | 100 | 16,7 | 0 | 33,3 |
| | | 3 мг/м'+Олифен | 100 | 100 | 8,3 | 0 | 8,3 |
| | 90 сут | 3 мг/м$^1$ | 100 | 100 | 33,3 | 8,3 | 41,7 |
| | | 3 мг/м^Олифен | 100 | 100 | 8,3 | 0 | 25 |
| | 120 сут | 3 мг/м$^3$ | 100 | 100 | 50 | 25 | 75 |
| | | 3 мг/м^Олифен | 100 | 100 | 41,7 | 16,7 | 50 |
| 30 суток восстановит, периода | | 3 мг/м$^1$ | 25 | 58,3 | 0 | 0 | 0 |
| | | 3 мг/м^Олифен | 8,3 | 33,3 | 0 | 0 | 0 |

Таким образом, системная организация сыворотки крови крыс, подвергшихся хроническому воздействию ССГ на фоне применения препарата «Олифен», отличается от таковой у крыс, не получавших препарата, более высокой способностью к структурированию и меньшей выраженностью патологических образований. Препарат «Олифен» во все сроки хронического воздействия ССГ показывает свое защитное действие, имеющее отражение в структуропостроении фаций сыворотки крови экспериментальных животных и ее биохимических показателей.

Представленные результаты свидетельствуют **о** принципиальной возможности повышения резистентности организма к химическим компонентам газа с помощью препарата антигипоксического и антиоксидантного действия «Олифен» и раскрывают новые механизмы и пути повышения неспецифической защиты.

## ВЫВОДЫ

1. При хроническом воздействии серосодержащим газом в концентрации 3мг/м$^3$ (по сероводороду) выявляются нарушения в системе ПОЛ - АОЗ, которые сопровождаются прогрессивным увеличением продуктов липопероксидации (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) и угнетением антиоксидантной защиты (снижение каталазной активности) на протяжении всех сроков наблюдения.

2. При воздействии ССГ в малых концентрациях к концу 4 месяца наблюдения у крыс формируется гипоксия смешанного характера: гемическая - в результате эритропении, снижения концентрации гемоглобина и развития сульф- и метгемоглобинемии; тканевая -'за счет активации процессов гликолиза.

3. При хроническом воздействии серосодержащим газом в концентрации 3 мг/м$^3$ (по сероводороду) отмечается нарастание уровня маркеров эндогенной интоксикации (веществ низкой и средней молекулярной массы и олигопептидов в крови и в моче) с первого месяца и, принимающих достоверный характер к концу наблюдения.

4. Организация фаций сыворотки крови крыс в условиях хронического воздействия ССГ характеризуется асимметрией, наличием большого числа жгутовых и трехлучевых трещин, гребешковых структур, трещин «серебра», «конусов», токсических бляшек, количество и выраженность которых зависит от длительности воздействия ССГ.

5. Исследование системной организации сыворотки крови при хроническом воздействии ССГ позволяет получить сведения о формировании гипоксии, нарушении микроциркуляции и эндогенной интоксикации на ранних этапах их развития, что может быть использовано в теоретической и клинической практике.

6. Препарат «Олифен» во все сроки, а особенно на поздних этапах хронического воздействия ССГ, оказывает свое защитное действие, проявляющееся ингибированием процессов ПОЛ, снижением признаков гипоксии и эндогенной интоксикации, а также укорочением восстановительного периода, что отражается биохимическими показателями, составляющими «диагностическую панель», и системной организацией сыворотки крови.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ


1. Тризно Н.Н., Беднов И.А. Некоторые пути коррекции нарушенного функционального состояния в условиях действия экстремальных факторов внешней среды // Проблемы охраны здоровья и окружающей среды: Сб.науч. трудов, посвященный 20-летию ООО «Астраханьгазпром». - Астрахань,2001. - С.266-269.

2. Беднов И.А., Аюпова А.К., Тризно Н.Н., Шур В.Ю. Влияние хронической интоксикации природным газом Астраханского месторождения (ПГАМ) на морфологические параметры и кислородтранспортную систему крови // Материалы Третьей международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке» 29-31 марта 2002 года. - М.,2002. - С. 101.

3. Беднов И.А., Аюпова А.К., Тризно Н.Н., Шур В.Ю. Влияние природного газа Астраханского месторождения (ПГАМ) на структурно - волновые параметры сыворотки крови // Мат. Третьей междунар. науч.-практ. конф. «Здоровье и образование в XXI веке» 29-31 марта 2002 года: - М.,2002. - С. 101 - 102.

4. Беднов И.А. Об эффективности метода фармпрофилактики для повышения устойчивости организма к гипоксии // Тез. докл. Первой Астраханской обл.науч.- практ.конф. «Лекарство и здоровье человека» - Астрахань: Комитет по фармацевтической деятельности администрации Астраханской области, 2002. - С. 16-17.

5. Беднов И.А. Влияние поливитаминного комплекса «Витабаланс - 2000» на биофизические показатели тканей при воздействии серосодержащих токсикантов // Тез. докл. Первой Астраханской обл.науч.- практ.конф. «Лекарство и здоровье человека» - Астрахань: Комитет по фармацевтической деятельности администрации Астраханской области, 2002. - С.22-23.

6. Беднов И.А. Антиоксидантные свойства поливитаминного комплекса «Витабаланс - 2000» при хронической интоксикации серосодержащим газом // Тез. докл. Первой Астраханской обл.науч.-практ.конф. «Лекарство и здоровье человека» - Астрахань: Комитет по фармацевтической деятельности администрации Астраханской области, 2002.-С.38.

7. Тризно Н.Н., Беднов И.А., Резаев А.А. Морфологические особенности биожидкостей организма крыс при хроническом воздействии серосодержащего газа // Вестник новых медицинских технологий. - 2ООЗ.-Т.Х,№1-2.-С.23-24.

8. Беднов И.А., Тризно М.Н. Информативность метода клино-

видной дегидратации биожидкостей при токсическом воздействии серосодержащего газа // Медицинский академический журнал. - 2003. - Т.3, №3, приложение 4. - С.12-13.

9. Тризно Н.Н., Беднов И.А., Шур В.Ю. Изменение уровня молекул средней массы и системной организации биожидкостей при хроническом воздействии серосодержащих поллютантов // Медицинский академический журнал. - 2003. - Т.3, №3, приложение 4. - С.31-32.

10. Тризно Н.Н., Беднов И.А. Современные подходы диагностики и профилактики экопатологии // Мат. XXI Междунар.симпоз. «Эколого-физиологические проблемы адаптации». М.; Изд-во Российского университета дружбы народов, 2003. - С.548-550.

11. Беднов И.А., Тризно Н.Н., Аюпова А.К., Салихов М.Н. Морфоструктурный анализ сыворотки крови крыс при хронической интоксикации серосодержащим газом // Мат. III Всероснауч.-практ. конф. «Функциональная морфология биологических жидкостей». - М.,2004. -С55-56.

177 12

РНБ Русский фонд

2005-4
14832

Тираж 100 экз. Заказ № 991. Подписано в печать 27.09.2004.

Издательство Астраханской государственной медицинской академии,
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121