

набухание и расщепление коллагеновых волокон, отек гладкомышечных клеток в трабекулах и вакуолизация их ядер. Отмечается полнокровие артериальных и особенно венозных сосудов. В просветах некоторых артерии имеются редко наблюдаемые пристеночные тромбы. Синусоиды резко расширены. Под капсулой, а также в центральных отделах паренхимы, выявляются кровоизлияния. Наблюдается полнокровие красной пульпы, в большинстве случаев полнокровна и белая пульпа. В участках некротических и некробиотических изменений структура как красной, так и белой пульпы дезорганизована.

Во время клинической смерти от травматического шока по Кеннону в селезенке ювенильных собак по сравнению с половозрелыми собаками изменения выражены слабее. Коллагеновые волокна трабекулярного аппарата в некоторых случаях набухшие. В единичных венозных сосудах встречаются агрегаты из эритроцитов; в некоторых случаях отмечается резкий отек стенки артерии. Гистоструктура лимфоидных узелков селезенки относительно сохранена, местами наблюдается гиперхроматоз лимфоцитов. В красной пульпе выявляются некробиотические изменения единичных ретикулярных клеток.

Сравнение результатов морфометрического исследования показало, что в обеих группах собак по сравнению с контролем отмечается статистически достоверное уменьшение средней доли лимфоидных узелков селезенки [контроль – $30,3 \pm 1,86\%$, половозрелые собаки – $18,7 \pm 1,4\%$, ювенильные собаки – $24 \pm 1,6\%$]. По сравнению с контролем в селезенке половозрелых собак статистически достоверно уменьшается количество лимфоидных узелков, а в селезенке ювенильных собак наметилась лишь тенденция к уменьшению этой величины, но эта разница статистически недостоверна [контроль – $8,7 \pm 2,1$, половозрелые собаки – $4 \pm 0,9$, ювенильные собаки – $5,3 \pm 1,3$]. Не отмечается статистически достоверная разница при сравнении результатов количественного исследования селезенки ювенильных и половозрелых собак при травматическом шоке.

Заключение

При клинической смерти от травматического шока, в селезенке экспериментальных собак, независимо от возраста, наблюдаются однотипные, неспецифические изменения, разница состоит только в глубине их выраженности; степень поражения селезенки половозрелых собак превалирует над изменениями, которые обнаружены у ювенильных собак.

Список литературы

1. Нигуляну В.И. Некоторые особенности метаболической реакции селезенки при тяжелой механической травме // Экстремальные состояния и вопросы сердечно-сосудистой патологии. – Кишинев: Штиинца, 1976. – С. 26–27.
2. Петров И.Р. Необратимые изменения при шоке и кровопотере / И.Р. Петров, Г.Ш. Васадзе. – Л.: Изд-во Медицина, Ленинградское отделение. – 2-е изд. – 1972. – 255 с.

3. Ухлин В.А. Морфологические изменения в сердечной мышце, печени и почках при тяжелом травматическом шоке у растущего и взрослого организма // Тр. Горьковского мед. ин-та. – Горький, 1976. – Вып. 80. – С. 20–34.

4. Atraumatic splenic rupture cases presenting with hemorrhagic shock and coagulopathy treated by splenic artery occlusion using a microballoon catheter before splenectomy / Y. Matsumara, J. Matsumoto, T. Kurita et al. // J Surg Case Rep. – 2015. – № 10. – P. 1–3.

5. Cannon W. B. Traumatic shock / W. B. Cannon. – New York London Appleton, 1923. – 201 p.

6. Complexities of Geriatric Trauma Patients / T. Dalton, M.R. Rushing, M.E.A. Escott, B.J. Monroe // JEMS. – 2015. – Vol. 40, № 11 (2).

7. Long-term outcomes after severe shock / C.M. Pratt, E.L. Hirshberg, J.P. Jones et al // Shock. – 2015. – Vol. 43, № 2. – P. 128–132.

8. The epidemiology of trauma-related mortality in the United States from 2002 to 2010 / R.G. Sise, R.Y. Calvo, D.A. Spain et al. // Trauma Acute Care Surg. – 2014. – Vol. 76, № 4. – P. 913–919.

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СПЕКТР БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ДИХЛОРЕТАНОМ

Срубиллин Д.В., Еникеев Д.А., Мышкин В.А.,
Антипина А.А., Сидорова Е.Ю.

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный
медицинский университет» Минздрава России,
Уфа, e-mail: srubilin66@mail.ru

Считается, что основным патогенетическим звеном токсического действия ДХЭ на организм является поражение печени, поскольку именно этот орган играет ведущую роль в процессе его превращения. Воздействие хронической интоксикации ДХЭ на нервную систему изучено недостаточно. Нервная ткань характеризуется высоким содержанием и разнообразием липидных соединений, которые определяют ее морфологическую гетерогенность, метаболизм и функциональную активность. Фосфолипиды являются главными липидными компонентами клеточных мембран, они создают достаточно стойкие двухслойные мембранные структуры, обладающие в то же время необходимой текучестью и обеспечивающие нормальную работу белковых мембранных структур, регулирующих проницаемость ионов и веществ.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы являлось выяснение некоторых патогенетических механизмов нарушения состояния клеточных мембран головного мозга крыс при хронической интоксикации ДХЭ, путем исследования изменения фосфолипид-фосфолипидных соотношений.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 48 здоровых половозрелых неинбредных белых крысах-самцах массой 180–220 г, разделенных на 3 группы: 1-я – контрольная ($n = 16$), 2-я и 3-я – животные с моделированной интоксикацией дихлорэтаном ($n = 16$ в каждой группе) соответственно на 30 и 60 сутки исследования. Хроническая интоксикация дихлорэтаном достигалась ежедневным

энтеральным введением токсиканта в растворе оливкового масла в дозе 5 мг/кг (0,01 LD₅₀) в течение 60 суток.

Фракции фосфолипидов (ФЛ) получали методом тонкослойной хроматографии [2, 5]. Количество отдельных фракций ФЛ определяли по содержанию липидного фосфора и выражали в процентах. Общие ФЛ вычисляли по сумме отдельных фракций. Обработку полученных результатов проводили с применением методов вариационной статистики.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ полученных результатов, представленный в таблице, свидетельствует о значительных качественных и количественных изменениях в фосфолипидном составе полушарий головного мозга крыс на 30 сутки хронической интоксикации ДХЭ на фоне незначительного уменьшения содержания суммарных фосфолипидов (СФЛ). Разделение смеси фосфолипидов полушарий головного мозга крыс экспериментальных групп показало наличие семи компонентов: фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ), фосфатидилсерина (ФС), сфингомиелина (СМ), лизофосфатидилхолина (ЛФХ), фосфатидные кислоты (ФК), монофосфоинозитид (МФИ).

При изучении фосфолипидного спектра наблюдалось перераспределение состава ФЛ

в сторону накопления ЛФХ, СМ, ФС и снижения доли ФХ и ФЭ. Анализ фосфолипидного состава выявил снижение содержания легкоокисляемой фракции фосфатидилхолина (ФХ) на 7,4% ($p > 0,05$) с одновременным ростом образования ЛФХ на 24,6% ($p < 0,05$), который является специфическим маркером фосфолипидной активности. Увеличение коэффициента ЛФХ/ФХ на 32,2% ($p < 0,05$) свидетельствует об интенсификации процессов деацилирования фосфолипидов, при котором образуются неэстерифицированные жирные кислоты, вступающие в окислительные процессы, связанные с активацией ПОЛ и образованием малонового диальдегида. Недостаток ФХ в наружном слое мембран эритроцитов компенсировался за счет повышения количества СМ. Сфингомиелин является медленно обменивающимся ФЛ головного мозга, не содержащим полиеновые кислоты. В силу высокой насыщенности сфингомиелина в кластеры, которые образует этот фосфолипид в мембране, встраивается большое количество холестерина, что влечет за собой уменьшение проницаемости клеточной мембраны, нарушение процессов активного транспорта, переноса веществ [6]. При интоксикации ДХЭ коэффициент ФХ/СМ, характеризующий уровень перераспределения фосфолипидных фракций

Содержание отдельных представителей фосфолипидов в больших полушариях головного мозга крыс при хронической интоксикации ДХЭ (M ± m)

Исследуемый показатель	Группы животных		
	1-я группа, (n = 16)	2-я группа, (n = 16)	3-я группа, (n = 16)
Суммарные фосфолипиды, мкг Р на г влажной ткани	2167,5 ± 26,95	2006,7 ± 69,45*	1785,1 ± 29,0*^
Фракции ФЛ			
ЛФХ	мкг Р на г влажной ткани	54,4 ± 4,3	70,2 ± 4,93
	в % от липидного фосфора	2,52 ± 0,21	3,14 ± 0,13*
ФХ	мкг Р на г влажной ткани	944,04 ± 28,7	779,66 ± 25,26
	в % от липидного фосфора	43,53 ± 1,05	40,33 ± 1,06
ФЭ	мкг Р на г влажной ткани	622,78 ± 14,7	452,15 ± 16,29
	в % от липидного фосфора	28,72 ± 0,49	24,13 ± 0,51*
ФС	мкг Р на г влажной ткани	218,85 ± 11,9	167,3 ± 11,87
	в % от липидного фосфора	10,14 ± 0,64	9,36 ± 0,62^
СМ	мкг Р на г влажной ткани	168,03 ± 11,17	168,38 ± 7,4
	в % от липидного фосфора	7,74 ± 0,49	9,44 ± 0,41*
МФИ	мкг Р на г влажной ткани	118,13 ± 6,56	89,76 ± 7,63
	в % от липидного фосфора	5,49 ± 0,29	5,02 ± 0,4^
ФК	мкг Р на г влажной ткани	40,93 ± 2,63	57,64 ± 5,4
	в % от липидного фосфора	1,89 ± 0,11	3,22 ± 0,28*
Коэффициент ЛФХ/ФХ, усл. ед.	0,059 ± 0,0054	0,078 ± 0,003*	0,091 ± 0,007*
Коэффициент ФХ/СМ, усл. ед.	5,84 ± 0,5	4,57 ± 0,3*	4,73 ± 0,33
Коэффициент ФЭ/ФС, усл. ед.	2,92 ± 0,2	1,69 ± 0,062*	2,8 ± 0,22^
Коэффициент ФХ/ФК, усл. ед.	23,54 ± 1,24	16,7 ± 1,44*	14,35 ± 1,3*
Коэффициент ФЭ + ФС/ФХ + СМ, усл. ед.	0,76 ± 0,066	0,78 ± 0,022	0,66 ± 0,029*^

Примечания: * – достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с первой (контрольной) группой в процентном соотношении от липидного фосфора;

^ – достоверно ($p < 0,05$) 3 – группы по сравнению со 2-й группой в процентном соотношении от липидного фосфора.

внутри мембранного бислоя, составил 4,57 условных единиц. Снижение этого коэффициента на 21,7% ($p < 0,05$) в сравнении с группой здоровых животных свидетельствует об уменьшении жидкостных свойств и увеличению микровязкости липидной фазы мембраны.

Фосфолипидные фракции ФЭ и ФС характеризуют внутренний монослой мембраны. Количество ФЭ уменьшилось на 16,0% ($p < 0,001$), а содержание ФС возросло на 41,8% ($p < 0,001$). Расчет коэффициента ФЭ/ФС показал, что при интоксикации ДХЭ его величина составляет 1,69 усл. ед., что ниже показателей контрольной группы на 42,1% ($p < 0,001$). Увеличение ФС на фоне снижения содержания ФХ и ФЭ является защитно-приспособительной реакцией клеток, обеспечивающей регуляцию микровязкости липидного компонента мембраны [1, 3] и, в какой-то мере, увеличение ФС частично нивелировало потерю ФХ и ФЭ. Повышение количества ФС возможно за счет реакции обмена азотистыми основаниями между ФХ, ФЭ и ФС, осуществляемыми холин-специфической и этанол-специфической фосфатидилсеринсинтетазами [3]. В условиях нашего эксперимента снижается коэффициент соотношений ФХ/ФК на 29,1% ($p < 0,01$), что свидетельствует о существенном подавлении процессов синтеза мембранных глицеролипидов. Известно, что ФК обладают высокой скоростью метаболизма и играют значительную роль в биосинтезе других фосфолипидов [3]. Поэтому повышение ФК является следствием как деградации фосфолипидов, так и результатом нарушения синтетических процессов. Выявленная модификация фосфолипидного матрикса клетки свидетельствует о структурно-функциональной несостоятельности цитоплазматической мембраны.

Таким образом, на 30 сутки хронической интоксикации ДХЭ у крыс развиваются адаптационные изменения в фосфолипидном спектре головного мозга, однако при этом превалирует деградация фосфолипидов. Полагают, что деградация фосфолипидного состава является одной из причин повышения ХС в мембране при патологии. В результате повышенной активности фосфолиполиза и свободно-радикального окисления происходит разрушение фосфолипидных молекул, вследствие чего уменьшается их содержание в мембране, замещаясь на молекулы ХС [4].

На 60 сутки хронической интоксикации ДХЭ направленность изменений в фосфолипидном составе полушарий головного мозга была однотипной с 30 сутками интоксикации, но эти изменения были более выраженными. Уменьшение содержания суммарных фосфолипидов составило 17,64% ($p < 0,05$). Однако, снижение содержания ФЭ сопровождалось одновременным уменьшением количества ФС на 34,6% ($p < 0,001$) относительно 2-й группы животных. Данное обстоятельство можно связать с тем, что они наиболее быстро подвергаются окислению свободными

радикалами при усилении процессов перекисного окисления липидов. Снижение содержания ФС, а также значительное накопление ФК свидетельствует о делипидизации мембран, что можно трактовать как срыв защитно-приспособительных реакций. Содержание монофосфоинозитида на 60 сутки хронической интоксикации ДХЭ снизилось на 22,77% ($p < 0,05$) относительно животных 2-й группы. Фосфоинозитиды и их метаболиты принимают участие в реализации действия нейромедиаторов на молекулярном уровне, а также являются одним из поставщиков арахидоновой кислоты и эйкозаноидов и, тем самым, играют важную роль в обеспечении нормального функционирования нервных клеток [7, 8].

Важным показателем, характеризующим лабильность липидного бислоя, служит коэффициент асимметрии $(ФЭ + ФС)/(ФХ + СМ)$. Отношение суммы фосфолипидов с меньшей насыщенностью жирных кислот, которые располагаются преимущественно во внутреннем монослое липидного бислоя мембран, к фосфолипидам с большей насыщенностью, которые располагаются во внешнем монослое, позволяет получить представления о жидкостности мембраны. На 60 сутки хронической интоксикации ДХЭ значение коэффициента асимметрии ниже контрольной величины на 13,2% ($p < 0,05$), что обуславливает повышение насыщенности липидного бислоя и увеличение микровязкости.

Таким образом, заключая в целом полученные результаты, следует отметить, что у крыс при хронической интоксикации ДХЭ наблюдаются структурные нарушения мембран нервных клеток. Выявленные нарушения клеточных мембран являются важным звеном в патогенезе нейротоксического действия при хронической интоксикации ДХЭ.

Список литературы

1. Андреева Н.Н. Коррекция мексидолом постреанимационных изменений липидного обмена мозга / Н.Н. Андреева, И.В. Мухина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т.68, № 3. – С. 37–41.
2. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 324 с.
3. Климов А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева. – СПб.: Питер, 1999. – 505 с.
4. Кравец Е.Б. Липидный состав и активность Na,K-АТФазы мембраны эритроцитов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа при дислипидемиях / Е.Б. Кравец, Е.А. Степовая, Т.Ю. Кощевец и др. // Сахарный диабет. – 2010. – № 1. – С. 41–44.
5. Молочкина Е.М. Количественное определение состава фосфолипидов методом тонкослойной хроматографии // Исследование синтетических и природных антиоксидантов in vitro и in vivo. – М.: Наука, 1992. – С. 100–102.
6. Новгородцева, Т.П. Состав липидов эритроцитов крыс при развитии фиброза печени в условиях алиментарной дислипидемии / Т.П. Новгородцева, Ю.К. Караман, Н.В. Бивалькевич, Н.В. Жукова // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т.30, № 1. – С. 53–57.
7. Сунайкина, О.А. Иммуномодулирующие эффекты совместного применения регуляторов энергетического обмена и полиненасыщенных фосфолипидов / О.А. Сунайкина, М.В. Павлова, К.И. Сунайкин // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 359.
8. Reisberg B. A 24-Week Open-Label Extension Study of Memantine in Moderate to Severe Alzheimer Disease / B. Reisberg, R. Doody, A. Stoffler et al. // Arch. Neurol. – 2006. – Vol. 63. – P. 49–54.