

Как видно из данных таблицы 3, наиболее частыми изменениями на ЭКГ явились блокады ножек пучка Гиса и диффузные изменения в миокарде, синдром укороченного интервала PQ.

Всем пациентам было проведено ультразвуковое исследование сердца, при котором было выявлено, что у 10 (33,3 %) детей ВПС сочетался с малыми аномалиями развития сердца: аномальная срединная трабекула ЛЖ — 3 (11,1 %), предельно широкий корень аорты — 1 (3,7 %), повышенная трабекулярность ЛЖ — 1 (3,7 %), минимальная дилатация корня аорты — 1 (3,7 %), аномальная базальная хорда ЛЖ — 2 (7,4 %), пролапс митрального клапана — 1 (3,7 %).

Было проанализировано лечение, которое дети получали в стационаре. Кардиотрофная терапия (калийполяризующая смесь, милдронат, аспаркам, оротат калия, рибоксин) проводилась 27 (90 %) больным. Диуретики (верошпирон, фуросемид) получали 2 (6,7 %) детей. Ингибиторы АПФ (каптоприл, эналаприл) были назначены 6 (20 %); антикоагулянтная терапия (варфарин) проводилась 2 (6,7 %) детям, препараты, улучшающие мозговое кровообращение (гломексин, пирацетам, винпоцетин) получали — 13 (43,3 %) больных, седативные препараты назначались 6 (20%) детям, витаминотерапия проводилась 13 (43,3 %) пациентам, курс антибактериальной терапии был проведен 3 (10 %) детям.

Все дети были выписаны с улучшением.

### **Выводы**

1. ВПС встречались одинаково часто среди девочек и мальчиков. Среди прооперированных детей преобладали жители Гомельской области.

2. Наиболее частыми пороками явились дефекты межпредсердной и межжелудочковой перегородок. Большинство детей были прооперированы в первые 5 лет жизни.

3. При поступлении в стационар чаще других встречались жалобы на боли в области сердца, одышку при физической нагрузке, головную боль, слабость, потливость, быструю утомляемость. У половины пациентов были выявлены признаки сердечной недостаточности I степени. Трое детей лечились в связи с развитием инфекционного кардита.

4. Наиболее частыми изменениями при ЭКГ исследовании явились блокады ножек пучка Гиса и диффузные изменения в миокарде. У трети детей порок сочетался с малыми аномалиями развития сердца.

5. Продолжительность госпитализации, в среднем, составила 15 дней. Все дети получали кардиотрофную терапию, симптоматическое лечение и выписаны с улучшением.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Белоконь, Н. А. Врожденные пороки сердца / Н. А. Белоконь, В. П. Подзолков. — М.: Медицина, 1991. — 351 с.
2. Основы кардиологии детского возраста: справочник / под ред. Р. Э. Мазо. — Минск: Навука і тэхніка, 1991. — 383 с.
3. Мутафьян, О. А. Пороки и малые аномалии сердца у детей и подростков / О. А. Мутафьян. — СПб.: СПбМАПО, 2005. — 480 с.

**УДК: 61:577.3**

## **КОМПЛЕКСНЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СО СВОБОДНЫМИ РАДИКАЛАМИ КИСЛОРОДА (МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА. ЧАСТЬ 1 — ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА)**

**Игнатенко В. А., Калинин А. Л., Евтухова Л. А.**

**Учреждение образования**

**«Гомельский государственный медицинский университет»**

**г. Гомель, Республика Беларусь**

Биологические мембраны выполняют множество функций, нарушение любой из которых может привести к изменению жизнедеятельности клетки, лежать в основе развития различных заболеваний и даже их гибели. Наиболее тяжелые последствия вызывает повреждение липидного слоя (или бислоя) мембран. Липидный слой клеточной и

внутриклеточных мембран выполняет 2 основные функции — барьерную и матричную (структурную). Повреждение барьера приводит к нарушению регуляции внутриклеточных процессов и тяжелым расстройствам клеточных функций. С другой стороны, липидный слой мембран формирует в клетке особую жидкую фазу. На поверхности раздела водной и липидной фаз, а также внутри липидной фазы «плавают» многочисленные ферменты, многие субстраты биохимических реакций, белковые клеточные рецепторы, гликолипиды и гликолипопротеиды, образующие гликокаликс. Во многих клетках до 80 % белков встроены в мембраны или связаны с их поверхностью. Липидный бислой выполняет, таким образом, роль структурной основы или матрицы для всех этих белковых, липопротеидных, гликопротеидных и гликолипидных компонентов мембран. От свойств липидной фазы мембран, таких, как вязкость, поверхностный заряд, полярность, зависит работа мембранных ферментов и рецепторов.

В экспериментах на отдельных клетках показано, что существует всего 4 основных процесса, которые непосредственно обуславливают нарушение целостного липидного бислоя в патологии [1]: перекисное окисление липидов, действие мембранных фосфолипаз, механическое (осмотическое) растяжение мембраны, адсорбция на бислое полиэлектролитов, включая некоторые белки и пептиды.

Чтобы понять роль этих процессов в развитии патологического состояния, надо знать химические и физические условия протекания каждого из них, пути их регуляции в живой клетке и причины ее нарушения, характер повреждения свойств мембран под действием данного процесса, биологические последствия такого повреждения мембран для жизнедеятельности клетки и организма в целом.

Рассмотрим это на примере наиболее изученного процесса — перекисного окисления (пероксидации) липидов (ПОЛ) под действием свободных радикалов. Основные радикалы, образующиеся в клетках — это радикалы кислорода (супероксид и гидроксильный радикал), монооксид азота, радикалы ненасыщенных жирных кислот, радикалы, образующиеся в окислительно-восстановительных реакциях (например, убихинол). Радикалы образуются также при действии ультрафиолетовых (УФ) лучей ионизирующего излучения, ультразвука (УЗ) и в ходе метаболизма некоторых чужеродных соединений (ксенобиотиков), в том числе некоторых препаратов.

Реакция цепного окисления липидов протекает в 4 стадии, которые получили название инициирование, продолжение, разветвление и обрыв цепи:

1. *Инициирование цепи.* Радикалом инициатором цепного окисления липидов считают радикал гидроксила  $\text{HO}^\bullet$ , будучи небольшой по размеру незаряженной частицей, способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с молекулой ненасыщенной жирной кислоты LH, образует радикал ненасыщенной кислоты  $\text{HO}^\bullet + \text{LH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{L}^\bullet$  (липидный радикал).

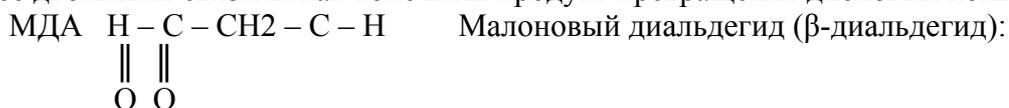
2. *Продолжение цепи.*  $\text{L}^\bullet + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}^\bullet$  (липиддиоксид)  $\text{LOO}^\bullet + \text{LH} \rightarrow \text{L}^\bullet + \text{LOOH}$  или  $\text{L}^\bullet + \text{HO}_2 \rightarrow \text{LOOH}$  (гидродииоксид липида).

3. *Разветвление цепи.* Реакции расщепления LOOH с образованием радикала. При физиологических температурах она протекает с заметной скоростью либо под действием УФ-излучения, либо в присутствии  $\text{Fe}_2^+$ .  $\text{LOOH} + \text{Fe}_2^+ \rightarrow \text{Fe}_3^{++} + \text{HO}^- + \text{LO}^\bullet$  (липоксил)  $\text{LO}^\bullet + \text{LH} \rightarrow \text{LOH} + \text{L}^\bullet$  новая цепь окисления и представляет собой цепную реакцию перекисного окисления липидов.

4. *Обрыв цепей.* Прежде всего, реакции «квадратичного обрыва, реакции между 2-мя радикалами и в результате взаимодействия свободных радикалов с антиоксидантами (InH), ионами металлов переменной валентности (например,  $\text{Fe}^{2+}$ )  $\text{LOO}^\bullet + \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ \rightarrow \text{LOOH} + \text{Fe}^{3+}$ ;  $\text{LOO}^\bullet + \text{InH} \rightarrow \text{In}^\bullet + \text{LOOH}$ ;  $\text{LOO}^\bullet + \text{LOO}^\bullet \rightarrow$  молекулярные продукты + фотон и т. д.

К первичным продуктам ПОЛ относятся циклические эндоперекиси и алифатические моно- и гидроперекиси, так называемые липоперексиды и диеновые конъюгаты [2].

Как правило, процессы ПОЛ оцениваются по скорости и количеству образования одного из конечных продуктов окисления — малонового диальдегида (МДА) являющийся вторичным продуктом ПОЛ, который образуется только из жирных кислот с 3-мя и более двойными связями как конечный продукт превращения диеновых конъюгатов.



Активность МДА поддерживается на определенном уровне при участии ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ), что позволяет говорить о перекисном гомеостазе. Нормальная концентрация в крови — 2,5–6,0 мкМ/л. Увеличение концентрации — свидетельство усиленного ПОЛ и срыва АОЗ [3].

Накопление в организме продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, МДА, шиффовых оснований) [4] и развитие эндотоксикоза приводит к стимуляции монооксигеназной системы, изменениям реакции липидного, гормонального, иммунного, микроэлементного, нейромедиаторного статусов, числа мест связывания и средства рецепторов к лигандам, истощению антиоксидантной системы [5].

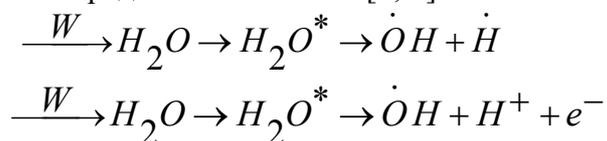
### **Цель**

Обучение студентов методике определения продуктов перекисного окисления липидов на моделях.

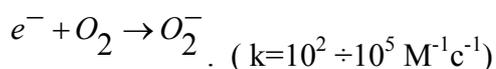
### **Методы**

В качестве моделей взяты жидкие водные взвеси эритроцитов содержащиеся в 0,15 М NaCl или растворы альбумина в буферных системах. Данные среды подвергаются действию УЗ, частотой 880 кГц, интенсивностью 1 Вт/см<sup>2</sup> или УФ, или в жидкие среды добавляют соли металлов переменной валентности и пероксид водорода.

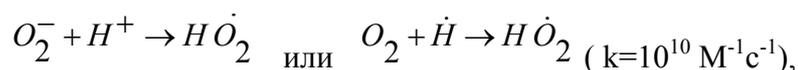
В моделях происходят следующие процессы. Известно, что распространяясь в среде, УЗ волны оказывают на нее действие как носитель энергии. Поглощенная H<sub>2</sub>O энергия приводит к образованию радикалов по схеме [6; 7]:



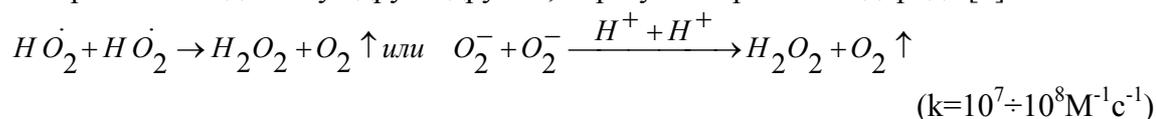
Образовавшийся электрон может взаимодействовать с водой, и тогда появляется гидратированный электрон, который может существовать в водной среде до 600 пикосекунд [8]. В этом случае при наличии в растворе молекул кислорода вероятен процесс образования супероксида по реакции:



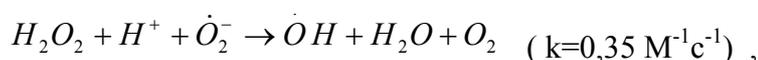
В свою очередь  $\text{O}_2^-$ , взаимодействуя с  $\text{H}^+$ , образует супероксид:



которые взаимодействуя друг с другом, образуют перекись водорода [9]:



который может инактивироваться при взаимодействии с  $\text{O}_2^-$

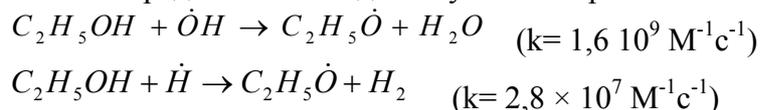


образуя гидроксильный радикал  $\dot{O}H$  или с  $\dot{O}H$ , образуя супероксид  $\dot{H}O_2$ :

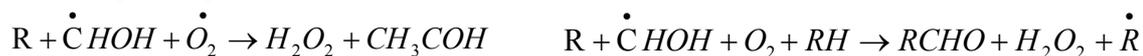
$$H_2O_2 + \dot{O}H \rightarrow H_2O + \dot{H}O_2 \quad (k = 4,5 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}).$$

В работе [10] показаны превращения этилового спирта при взаимодействии со свободными радикалами. Известно, что радикалы Н и ОН взаимодействуют с молекулами этилового спирта с константами скорости  $K = 2,8 \times 10^7$  и  $K = 1,6 \cdot 10^9 \text{ M}^3 / (\text{кмоль} \cdot \text{с})$  соответственно, а гидратированный электрон — с  $K = 10^5 \text{ M}^3 / (\text{кмоль} \cdot \text{с})$  [11] и с (определенной методом импульсного фотолиза) [12]  $K = 4 \times 10^2 \text{ M}^3 / (\text{кмоль} \cdot \text{с})$ .

Известно, что гидроксильный радикал взаимодействует со спиртами по схеме:



В водном растворе  $C_2H_5OH$  под действием УЗ или УФ вследствие высокой упругости паров спирта происходит перехват радикалов с образованием  $C_2H_5\dot{O}$  радикала спирта. При этом в УЗ поле при увеличении концентрации кислорода происходит его взаимодействие с альфа-гидроксиэтильным радикалом спирта с константой  $K = 4,3 \times 10^9 \text{ M}^3 / (\text{кмоль} \cdot \text{с})$  [13] с последующим образованием уксусного альдегида, уксусной кислоты и водород пероксида:

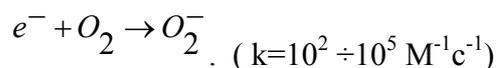


С увеличением концентрации кислорода выход уксусного альдегида возрастает.

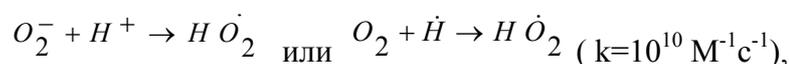
В этом случае этанол выполняет роль перехватчика гидроксильных радикалов, и только через определенное время в системе образуется водород пероксид.

Аналогичные превращения происходят в водной среде при действии ионизирующего излучения и металлов переменной валентности с водород перексидом. Свободные радикалы образуются в водной фазе и при наличии липидов становятся источниками ПОЛ. При действии УФ для возникновения свободных радикалов необходимо наличие ароматических веществ, которые под действием УФ становятся источниками гидратированных электронов.

Например, Три +  $h\nu$  (297 нм)  $\rightarrow$  Три\*  $\rightarrow$  Три\*+e<sup>-</sup>, где Три\* — возбужденное состояние триптофана, Три\*<sup>-</sup> — ионизированное состояние молекулы триптофана, e<sup>-</sup> — гидратированный электрон. При наличии в растворе молекул кислорода вероятен процесс образования супероксида по реакции:



В свою очередь  $O_2^-$ , взаимодействуя с  $H^+$ , образует супероксид:



Который взаимодействуя с липидами инициирует ПОЛ. Аналогичные процессы происходят и при наличии спиртов в растворах.

Порядок выполнения работы

**Оборудование.** Терапевтический ультразвуковой аппарат частотой 880 кГц, интенсивностью 0,2–1,0 Вт/см<sup>2</sup>, регулируемый по температуре термостат, водяная баня 100°С, КФК-3 или спектрофотометр СФ-46, лабораторная центрифуга 8000–16000 об/мин, мощный УФ излучатель, кюветы и сосуды для жидкостей штатив, раствор белка, взвесь эритроцитов, дистиллированная вода, навески солей металлов переменной валентности (комплекс с ЭДТА), пероксид водорода, физиологический раствор, фосфатные буфера рН-6,8 или 7,0 и 8,2, сефадекс G-25.

Примечание:

1. Для облучения сред УЗ берут взвесь эритроцитов 0,01 по количеству клеток в 1 мл от исходной, объем среды подвергаемой облучению 5 мл; для облучения белка УЗ берут концентрации  $10^{-4}$ – $10^{-5}$  М/мл

Обработка сред УЗ происходит следующим образом. УЗ излучатель терапевтического аппарата опускают сверху в облучиваемые среды на 5 мл в погруженное положение. Облучаемые среды находятся в стеклянном сосуде, который охлаждается проточной водой от термостата. Облученные пробы исследовались по методикам описанным ниже.

2. В случае воздействия на исследуемые объекты УФ, облучаемые среды находились в стеклянных сосудах охлаждаемых проточной водой от термостата и закрытые сверху кварцевыми стеклами, через которые происходило воздействие УФ. Между кварцевым стеклом и излучателем УФ находился кварцевый сосуд через который протекала вода для поглощения теплового, инфракрасного излучения лампы.

3. При использовании ионов переменной валентности в исследуемые среды растворял металлы (в присутствии ЭДТА) в концентрациях от 1 до 2-х порядков больше чем концентрация исследуемых проб и пероксид водорода в концентрации на 2–3 порядка больше, чем концентрация металла.

Пробы на которые воздействовали различным способом, инициируя образование свободных радикалов, исследовались по методикам описанным ниже.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Аркачев // Наука. — 1972. — С. 272.
2. Курашвили, Л. В. Современное представление о перекисном окислении липидов и антиоксидантной системе при патологических состояниях: метод. пособие / Л. В. Курашвили, Г. А. Косой, И. Р. Захарова. — Пенза: Инс-т усоверш. врачей МЗ РФ, 2003. — 32 с.
3. Банкова, В. В. Роль малонового диальдегида в регуляции перекисного окисления липидов в норме и патологии: автореферат дис. ... д-ра биол. наук / В. В. Банкова. — М., 1990.
4. Болдырев, А. А. Проблемы анализа эндогенных продуктов ПОЛ / А. А. Болдырев // Итоги науки и техники. — 1986. — Т. 18. — 134 с.
5. Intraluminal increase of superoxide anion follow transient focal cerebral ischemia in rats / T. Mori [et al.] // Brain Res. — 1999. — Vol. 8, № 2. — P. 350–357.
6. Маргулис, М. А. Звукохимические реакции и сонолюминесценция / М. А. Маргулис. — М.: Химия, 1986. — С. 285.
7. Маргулис, М. А. Основы звукохимии / М. А. Маргулис. — М.: Высш. шк., 1984. — С. 271.
8. Маргулис, М. А. О возникновении гидратированных электронов в поле ультразвуковых волн / М. А. Маргулис, А. Н. Малцев // Журнал физической химии. — 1968. — Т. 42, № 10. — С. 2660–2663.
9. Химия и ультразвук / под ред. А. С. Козьмина. — М.: Мир, 1993. — С. 560.
10. Freeman, G. R. Radiation chemistry of ethanol: A review of data on yields, reactions rates parameters and spectral properties of transients / G. R. Freeman // NSRDS-NBS. — 1974. — № 48. — P. 56.
11. Hart, E. T. A review of the radiation chemistry of the hydrated electron in aqueous solution / E. T. Hart, J. K. Thomas, S. A. Gordon // Radiat. Res. — 1964. — Vol. 21, № 4. — P. 74–87.
12. Anbar, M. Selected specific rates of transients from water in aqueous solution. 1. Hydrated electron / M. Anbar, M. B. Ross // NSRDS-NBS. — 1973. — № 43. — P. 1–59.
13. Adams, G. E. Pulse radiolysis studies on the oxidation of organic radicals in aqueous solution / G. E. Adams, R. L. Willson // Trans. Faraday Soc. — 1969. — Vol. 65, № 9. — P. 2981–2987.

УДК: 61:577.3

## КОМПЛЕКСНЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СО СВОБОДНЫМИ РАДИКАЛАМИ КИСЛОРОДА (МЕДИЦИНСКАЯ БИОФИЗИКА. ЧАСТЬ 2 — МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОН РАДИКАЛОВ И ДИЕНОВЫХ КОНЬЮГАТОВ

Игнатенко В. А., Калинин А. Л., Евтухова Л. А.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Специфическое действие ионизирующего излучения (энергии: УЗ, УФ, ионы металлов переменной валентности с  $H_2O_2$ ) на биологические объекты реализуется через радикальные продукты образованные из воды. При этом механизм действия ионизирующей энергии проходит следующие стадии: физическую, физико-химическую, химическую и биологическую.