

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 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).

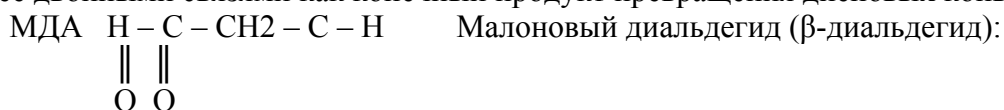
2. *Продолжение цепи.* $\text{L}^\bullet + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}^\bullet$ (липиддиоксид) $\text{LOO}^\bullet + \text{LH} \rightarrow \text{L}^\bullet + \text{LOOH}$ или $\text{L}^\bullet + \text{HO}_2 \rightarrow \text{LOOH}$ (гидродииоксид липида).

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 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, 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].

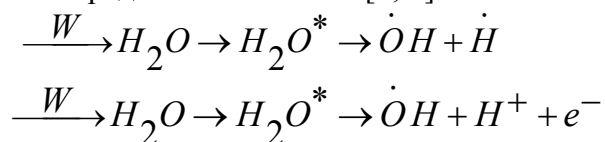
Цель

Обучение студентов методике определения продуктов перекисного окисления липидов на моделях.

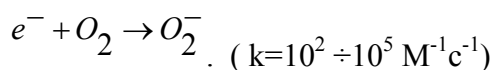
Методы

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/см² или УФ, или в жидкие среды добавляют соли металлов переменной валентности и пероксид водорода.

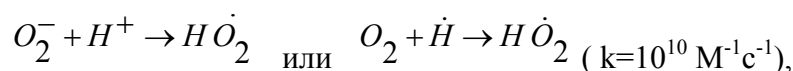
В моделях происходят следующие процессы. Известно, что распространяясь в среде, УЗ волны оказывают на нее действие как носитель энергии. Поглощенная H₂O энергия приводит к образованию радикалов по схеме [6; 7]:



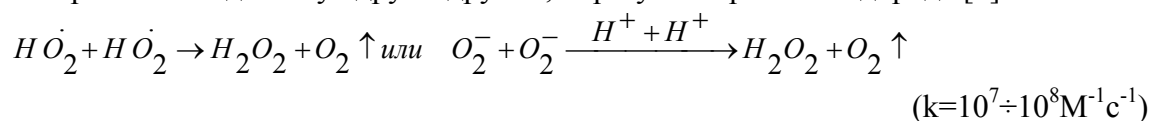
Образовавшийся электрон может взаимодействовать с водой, и тогда появляется гидратированный электрон, который может существовать в водной среде до 600 пикосекунд [8]. В этом случае при наличии в растворе молекул кислорода вероятен процесс образования супероксида по реакции:



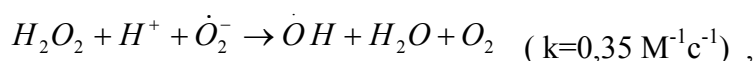
В свою очередь O_2^- , взаимодействуя с H^+ , образует супероксид:



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



который может инактивироваться при взаимодействии с O_2^-

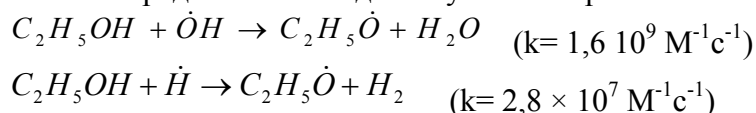


образуя гидроксильный радикал $\dot{O}H$ или с $\dot{O}H$, образуя супероксид $\dot{H}O_2$:

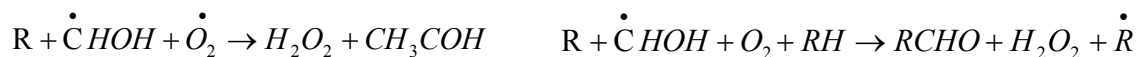
$$H_2O_2 + \dot{O}H \rightarrow H_2O + \dot{H}O_2 \quad (k = 4,5 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}).$$

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 $K = 1,6 \cdot 10^9 \text{ M}^3 / (\text{кмоль с})$ соответственно, а гидратированный электрон — с $K = 10^5 \text{ M}^3 / (\text{кмоль с})$ [11] и с (определенной методом импульсного фотолиза) [12] $K = 4 \times 10^2 \text{ M}^3 / (\text{кмоль с})$.

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 $K = 4,3 \times 10^9 \text{ M}^3 / (\text{кмоль с})$ [13] с последующим образованием уксусного альдегида, уксусной кислоты и водород пероксида:

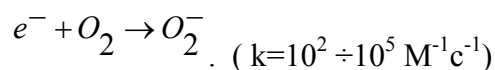


С увеличением концентрации кислорода выход уксусного альдегида возрастает.

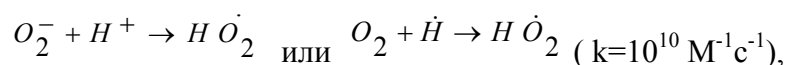
В этом случае этанол выполняет роль перехватчика гидроксильных радикалов, и только через определенное время в системе образуется водород пероксид.

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, $\text{Три} + h\nu (297 \text{ нм}) \rightarrow \text{Три}^* \rightarrow \text{Три}^{\bullet} + e^-$, где Три^* — возбужденное состояние триптофана, Три^{\bullet} — ионизированное состояние молекулы триптофана, e^- — 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/см², 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.