

**МЕДИЦИНА,
ФАРМАКОЛОГИЯ,
БИОТЕХНОЛОГИИ:
НАУЧНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ,
РАЗРАБОТКИ И
ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ПРАКТИКА**

**Бобрик Ю.В., Богачева Н.В., Кутя С.А.,
Лелевич С.В., Мороз Г.А.**

www.scipro.ru

НАУЧНАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ НАУКА

Медицина, фармакология, биотехнологии:
научные исследования, разработки и
профессиональная практика

Монография

УДК 61

ББК 5

М42

Рецензент: Шнюкова Татьяна Викторовна - кандидат медицинских наук, врач-кардиолог высшей категории, доцент кафедры общей врачебной практики (семейной медицины) с курсами гериатрии и физиотерапии ФПК и ППС ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Авторы:

Бобрик Ю.В., Богачева Н.В., Кутя С.А., Лелевич С.В., Мороз Г.А.

Медицина, фармакология, биотехнологии: научные исследования, разработки и профессиональная практика [Электронный ресурс]: монография. – Эл. изд. - Электрон. текстовые дан. (1 файл pdf: 69 с.). - Нижний Новгород: НОО "Профессиональная наука", 2019. – Режим доступа: <http://scipro.ru/conf/monographmedicine2.pdf>. Сист. требования: Adobe Reader; экран 10".

ISBN 978-5-907072-68-8

Монография посвящена инновациям, экспериментальным и фундаментальным исследованиям в области медицины и фармакологии.

Материалы монографии будут полезны преподавателям, научным работникам, специалистам предприятий, медицинских и учреждений, а также студентам, магистрантам и аспирантам.

При верстке электронной книги использованы материалы с ресурсов: Designed by Freepik, Canva.

ISBN 978-5-907072-68-8



© Авторский коллектив, 2019 г.

© Издательство НОО Профессиональная наука, 2019 г.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Введение</i>	5
Глава 1. Экспериментальная оценка возможности использования дексаметазона для моделирования состояния иммуносупрессии в организме нелинейных мышей	8
Глава 2. Эффекты систематических экспериментальных гравитационных перегрузок, проявляющихся морфофункциональными преобразованиями в надпочечных железах и тимусе.....	18
Глава 3. Экспериментальные аспекты морфиновой наркомании..	34
<i>Заключение</i>	56
<i>Библиографический список</i>	57
<i>Сведения об авторах</i>	67

Введение

Современная медицина показывает достойные результаты: люди живут дольше, процесс лечения ускоряется, медицинские учреждения снабжены современным оборудованием, а специалисты для лечения пациентов используют методы, обоснованные доказательной практикой.

Доступ к медицинскому обслуживанию был и является важным аспектом политики общественного здравоохранения во многих странах. Доступ к здравоохранению базируется на: фундаментальном праве на здравоохранение, ограниченности ресурсов и государственной политике в области здравоохранения, основанной на практике. Одним из аргументов в пользу данных постулатов является предположение, что современная система здравоохранения может быть фактически неэффективной или даже опасной для здоровья пациента.

В данной монографии авторами рассмотрены ценности, достижения и инновации современной традиционной, дополнительной медицины и фармакологии.

В первой главе автор рассматривает вопрос экспериментальной оценки возможности использования дексаметазона для моделирования состояния иммуносупрессии в организме нелинейных мышей

Доказанный эффект дексаметазона вызывать снижение показателей клеточного иммунитета с успехом можно использовать для разработки модели иммуносупрессии. Данную модель можно применить для воспроизведения антропонозных инфекций, для отработки схем лечения при воспроизведении модели осложненной гнойной инфекции, для оценки иммуномодулирующего действия новых иммунобиологических препаратов.

Во второй главе авторы исследуют такой вопрос, как «Эффекты систематических экспериментальных гравитационных перегрузок, проявляющихся морфофункциональными преобразованиями в надпочечных железах и тимусе». Одной из важнейших проблем изучения жизнедеятельности организма является исследование его адаптации к различным экоантропогенным факторам. Резко возросший уровень развития авиации и космонавтики в конце прошлого столетия привел к появлению чрезмерных режимов ускорений и перегрузок, воздействующих на человека, управляющего летательными аппаратами. Как любое воздействие, гравитационные перегрузки обладают определенным дозозависимым эффектом. Величина перегрузки, длительность и повторяемость определяют конечный результат –

адаптацию, активацию и повышение устойчивости или срыв адаптации и снижение резистентности организма не только к действию данного фактора, но и других внешних воздействий. Немаловажное значение при этом имеет и возраст биологического объекта. Поэтому, в настоящее время проблема влияния гравитационных перегрузок на организм и разработка мер, повышающих устойчивость к их воздействию, находится в центре внимания специалистов в области космической биологии и авиационной медицины.

По данным на действие гипергравитации реагируют, прежде всего, его главные регуляторные системы, и в частности, эндокринная и иммунная.

В третьей главе автор рассказывает о экспериментальных аспектах морфиновой наркомании. В последнее время проблема наркоманий приобретает все большую актуальность в связи с эпидемиологической и социальной опасностью данной патологии. Отсутствие точных научных данных о патогенезе этого заболевания, методов ранней диагностики и профилактики, а также трудности лечения определяют необходимость дальнейшего целенаправленного и детального его изучения.

Представления о патогенезе морфиновой наркомании претерпели в последнее время определенную эволюцию в связи с достижениями в области наркологии, биохимии, нейрохимии и молекулярной биологии. Важным в практическом отношении является изучение токсического действия морфина на отдельные органы и ткани, анализ разнообразных метаболических отклонений, патогномоничных для данного психоактивного вещества (ПАВ), а также поиск эффективных способов их предупреждения и коррекции. В последнее время большое внимание уделяется фундаментальным исследованиям наркоманий. При абсолютной этиологической ясности проблемы патогенетическая суть данной патологии до сих пор остается неразрешимым, дискуссионным вопросом. В то же время хорошо известно, что только знание патогенеза заболевания может обеспечивать разработку эффективных методов лечения и профилактики.

Среди многочисленных висцеральных поражений, которые оказывают влияние на общую продолжительность жизни при морфиновой наркомании, патологии печени отводится ведущее место. Функциональное состояние данного органа играет важную роль в патогенезе этого заболевания. Помимо того, что печень является главной мишенью для наркотика, это еще и основной орган, ответственный за гомеостаз и энергетический обмен в организме. Установление нарушений данного обмена при действии морфина позволит приблизиться к пониманию событий на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях.

Другой важный аспект влияния наркотика на организм – поражения скелетной мускулатуры. При этом может теряться значительная часть массы мышечной ткани, причиной потери которой является нарушение синтеза мышечных белков. Данный процесс сопровождается развитием острой миопатии. Клинически это проявляется болезненной отечностью мышечной ткани, миоглобинурией, ростом активности сывороточной креатинкиназы, некрозом и острой почечной недостаточностью. Экспериментальных работ по изучению состояния метаболизма глюкозы в мышечной ткани при действии морфина крайне мало, что обуславливает важность исследований в данном направлении.

Авторский коллектив:

Богачева Н.В. (Глава 1. Экспериментальная оценка возможности использования дексаметазона для моделирования состояния иммуносупрессии в организме нелинейных мышей)

Мороз Г.А., Кутя С.А., Бобрик Ю.В. (Глава 2. Эффекты систематических экспериментальных гравитационных перегрузок, проявляющихся морфофункциональными преобразованиями в надпочечных железах и тимусе)

Лелевич С.В. (Глава 3. Экспериментальные аспекты морфиновой наркомании)

Глава 1. Экспериментальная оценка возможности использования дексаметазона для моделирования состояния иммуносупрессии в организме нелинейных мышей

Дексаметазон входит в перечень жизненно важных лекарственных препаратов для медицинского применения¹. Основным направлением его использования в практической медицине являются аутоиммунные (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, системные васкулиты и т.д.), аллергические заболевания (поллиноз, бронхиальная астма, отек Квинке, крапивница и т.д.), заболевания крови (болезнь Ходжкина, лейкоз, лейкопения), а также состояния организма, требующие подавления иммунной системы после трансплантации органов и тканей²³⁴.

Кроме практического использования, основываясь на основном эффекте препарата вызывать снижение показателей клеточного иммунитета, дексаметазон с успехом можно использовать для разработки экспериментальной модели иммуносупрессии. Целесообразность разработки модели иммуносупрессии на лабораторных животных для проведения экспериментальных исследований показана в работах при использовании таких препаратов как гидрокортизон, азатиоприн, циклофосфамид и др.⁵⁶⁷

Обоснованность использования модели иммуносупрессии, созданной при помощи вышеуказанных препаратов, показана в работах при разработке воспроизводимой модели осложненного заживления кожных ран у

¹ Распоряжение Правительства РФ № 2323-р от 23 октября 2017 г. «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2018 год». Приложение № 1.

² Комердус И.В., Будул Н.А., Чеканова А.В. Системное действие глюкокортикоидных препаратов: в помощь врачу общей практики (обзор литературы) // Русский медицинский журнал. 2017; 25 (1): 45-48.

³ Сигидин Я.А., Гусева Н.Г., Иванова М.М. Диффузные болезни соединительной ткани. М. : Медицина, 2004. 640 с.

⁴ Алексеев А.А. Клиническое применение глюкокортикоидов // Материалы форума, посвященного 80-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, профессора Папаяна, 2016. С. 74.

⁵ Ковшик И.Г., Мельникова Е.В., Пантелеева Н.Г., Тендитник М.В., Шурлыгина А.В., Труфакин В.А. Влияние различных суточных режимов введения ИЛ-2 на иммунный статус мышей СВА в модели циклофосфановой иммуносупрессии // Аллергология и иммунология. 2007; 8 (1): 5.

⁶ Жамсаранова С.Д., Гонгаева А.Г. Оценка иммунобиологической эффективности аутолизатов селезенки яков на модели азатиоприновой иммуносупрессии // Acta Biomedica Scientifica. 2012; 4-1 (86): 190-192.

⁷ Мальдов Д.Г., Ильичев А.В., Лебединская Е.А., Фадеева Е.В., Лебединская О.В., Ахматова Н.К., Четвертных В.А., Годовалов А.П., Мелехин С.В., Киселевский М.В. Действие тимфорта на мононуклеарные лейкоциты и лимфоидные органы мышей на фоне введения циклофосфана // Медицинская иммунология. 2011; № 13 (2, 3): 133-138.

мышей, оценке действия низкомолекулярного катионного пептида варнерина на экспериментально созданной модели катетерассоциированной инфекции, при оценке белка в сыворотке крови при индуцированной иммуносупрессии разной степени тяжести и т.д.⁸⁹.

Наиболее обосновано использование биологической модели иммуносупрессии для воспроизведения антропонозных инфекций, которые протекают только в организме человека. Экспериментальное моделирование антропонозных инфекций на лабораторных животных дает возможность подробно изучать патогенез инфекционного процесса и клиническую картину заболевания, выявлять участие микроорганизма в инициации инфекционного процесса, а также прогнозировать исход заболевания в случае экспериментального изучения новых лекарственных препаратов¹⁰.

Кроме этого, модель животного с состоянием иммуносупрессии с успехом можно использовать для оценки иммуномодулирующего действия новых иммунобиологических препаратов.

Все вышесказанное определяет актуальность и цель работы – изучить возможность использования дексаметазона для создания экспериментальной модели иммуносупрессии на нелинейных мышах.

Материалы и методы. В качестве биологической модели использовали 20 нелинейных белых мышей обоего пола весом 15-20 г.

Создание состояния иммуносупрессии на нелинейных мышах проводили при помощи дексаметазона в ампулах 4 мг/мл (ОАО «ДАЛЬХИМФАРМ», Хабаровск).

Выделения селезенки у мышей проводили на препаровальном столике, для чего мышь фиксировали металлическими иглами. Для вскрытия использовали остроконечные и тупые ножницы, пинцеты, корнцанги, чашки Петри. Извлеченную селезенку помещали в металлические ситечки и выделяли мононуклеары механическим путем, используя стеклянные палочки. Кроме этого в работе по выделению мононуклеаров из селезенки использовали пробирки типа «Эппендорф» («Eppendorf», Германия), пластиковые

⁸⁹ Варюшина Е.А., Анциферова М.А., Александров Г.В., Минаева Е.Н., Пигарева Н.В., Петров А.В., Конусова В.Г., Исаева Е.Н., Бокованов В.Е., Котов А.Ю., Казаков А.А., Демьянов А.В., Симбирцев А.С. Модель осложненного течения раневого процесса у мышей на фоне иммуносупрессии, вызванной введением гидрокортизона // Цитокины и воспаление. 2004; 3 (4): 14 – 20.

⁹⁰ Литвинов В.В., Лемкина Л.М., Фрейнд Г.Г., Коробов В.П. Морфологическая характеристика действия низкомолекулярного катионного пептида варнерина на модели катетер-ассоциированной инфекции в условиях иммуносупрессии // Современная медицина: актуальные вопросы. 2014; 27: 114 – 120.

¹⁰ Богачева Н.В., Охапкина В.Ю., Пяткова Н.В., Федотов А.К., Кучеренко А.С. Экспериментальное изучение иммуномодуляторов на эффективность применения вакцины бруцеллезной живой сухой // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; Т. 15. № 2 (87): 84-92

пробирки емкостью 15 мл («Gongdong», Китай), раствор Хэнкса («Thermo Fisher Scientific», США), весы («ТехноГарант», Россия), 96 % этиловый спирт (ГОСТ 18300-87). Процедуру выделения проводили в холодных условиях, создавая их при помощи кусочков льда, помещенных в чашки Петри с раствором Хэнкса.

Для выделения лимфоцитов селезенки лабораторных животных использовали раствор фиколл-урографина $\rho=1,083$ г/мл («ПанЭко», Россия), фосфатно-солевой буфер с pH 7,2-7,4 («Росмедбио», Россия), одноканальные автоматические пипетки объемом 2,5-10 мкл, 200 мкл, 1000 мкл («Eppendorf» Германия), центрифужные пробирки («Gongdong», Китай), настольную центрифугу («Beckman Coulter», США).

Микроскопию и подсчет, выделенных из селезенки клеток, проводили в камере Горяева («Росмедбио», Россия), используя микроскоп («Микмед-2», Россия).

Определение уровня содержания лимфоцитов в периферической крови животных проводили на проточном цитофлуориметре «Navios» («Beckman Coulter», США) с использованием моноклональных антител CD45PE-Cy5, CD3-PE-Cy7, CD4-APC, CD19-FITC («Beckman Coulter», США). Для подсчета абсолютного количества лимфоцитов использовали референсные частицы Flow-Count Fluorospheres («Beckman Coulter», США).

Для определения фагоцитарной активности мононуклеаров использовали пекарские дрожжи («S. cerevisiae», Россия).

Для культивирования дрожжей использовали чашки Петри со средой Сабуро, анаэроостат АЭ-01 («Ники-МЛТ», Россия), термостат («SANYO INCUBATOR», Япония), бактериальные пипетки, шпателя.

Культивирование биологического материала (кала), полученного от животных с состоянием иммуносупрессии, проводили на питательных средах Эндо, лактобакагаре, бифибумагаре, мясопептонным агаре, содержащем 5% эритроциты барана, селективной питательной среде для пептострептококков и др. Для выращивания анаэробов использовали анаэроостат («Анаэроостат АЭ-01»). Анаэробные условия создавали при помощи газогенераторных пакетов («HiMedia Laboratories», Индия). Микроскопию мазков проводили с помощью микроскопа («Микмед-2», Россия). Биохимическую идентификацию микроорганизмов проводили, используя «Анаэротест-23», Россия, а также среды Гисса («Среда Гисса с индикатором ВР – с маннитом», Россия).

Расчет средних значений и доверительных интервалов проводили с помощью программы «Statistica 6.0». Перед расчетом достоверности различий между средними арифметическими величинами, при уровне значимости 95%, проведена проверка того, что полученные экспериментальные данные подчиняются нормальному закону распределения и дисперсии выборок незначительно отличаются одна от другой.

Обсуждения и результаты. В работе использовали 20 нелинейных мышей обоего пола, полученных из питомника ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, г. Киров: 10 контрольных и 10 опытных. Все работы с животными проводили в соответствии с морально-этическими принципами проведения биомедицинских экспериментов на животных, сформулированными Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) и Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (2000 г.).

На первом этапе рассчитали дозу дексаметазона, которая при введении в организм мыши вызвала бы состояние иммуносупрессии. Дозу дексаметазона рассчитывали, отталкиваясь от максимальной терапевтической дозы для человека (0,1 мг/кг в сутки), пересчитывая ее на мышь на основе данных.¹¹¹² При этом использовали формулу (1):

$$D = d \cdot K, \quad (1)$$

где

D – доза, вводимая мышам;

d – доза, вводимая человеку;

k – отношение коэффициентов ($k_{ч}/k_{м}$) соотношения поверхности тела и массы тела для человека и изучаемого животного (мышь);

Вычисление значения коэффициента k проводили, используя формулы (2, 3, 4):

$$K = k_{ч}/k_{ч} \quad (2);$$

$$k_{ч} = S_{ч}/m_{ч}, \quad (3)$$

где

$m_{ч}$ – масса тела человека, равная 70000 г;

$S_{ч}$ – площадь тела человека, равная, при весе 7000 г, 18000 см²;

¹¹ Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблема нормы в токсикологии (Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). М.: Медицина, 1991. 208 с.

¹² Патент РФ на изобретение № 2 398 596 C2/ 10.09.10. Скарнович М.О., Шишкина Л.Н., Сергеев А.Н., Кабанов А.С., Мазуркова Н.А., Даниленко Е.Д., Масычева В.И., Дроздов И.Г. Способы профилактики и лечения заболеваний, вызванных вирусом гриппа птиц А/Н5N1, с использованием индуктора интерферона и ингибитора нейроминидазы.

$$k_M = S_M/m_M, \quad (4)$$

где

m_M – масса тела мыши, равная 20 г;

S_M – поверхность тела мыши, равная 78 см²;

Таким образом, используя вышеуказанные формулы и значения, рассчитали коэффициент К, который получили равный 15. Для надежности воссоздания состояния иммуносупрессии данный коэффициент был увеличен до 20. По данным Трахенберга И.М. и соавт. интенсивность обмена веществ и скорость метаболизма введенного препарата у мыши массой 15-20 г приблизительно в 15-20 раз выше, чем у человека массой 70-75 кг. Таким образом, 15-20 кратное превышение дозы дексаметазона препаратов при введении мышам относительно доз тех же препаратов при введении человеку адекватно для оценки и сравнения эффектов, вызываемых определенными препаратами у мышей и человека.

Доза дексаметазона, рассчитанная по формуле 1, составила 2 мг/кг в сутки или 40 мкг на 20 мг в сутки, с учетом общестатистического веса мыши.

На втором этапе провели введение дексаметазона опытной группе животных. Препарат вводили, каждому животному в опытной группе трехкратно по 0,1 мл, содержащему 40 мкг дексаметазона, внутривенно.

Исследование действия дексаметазона на организм нелинейных мышей проводили по следующим направлениям:

- провели анализ уровня содержания лимфоцитов в периферической крови;

- оценили влияние дексаметазона на содержание мононуклеаров в периферическом органе иммунной системы – селезенке;

- определили фагоцитарную активность мононуклеаров, выделенных из селезенки;

- оценили влияние дексаметазона на микрофлору кишечника.

Определение содержания лимфоцитов в периферической крови животных, проводили используя моноклональные антитела, меченные флюорохромами, методом проточной цитофлуориметрии. Для этого до и на четвертый день после введения дексаметазона перед процедурой эвтаназии у каждого животного забирали 50 мкл крови из периорбитальной области в пробирку типа «Эппендорф», куда заранее добавляли 2 мкл 0,01 М раствор этилендиаминтетраацетата. Процедуру подготовки крови к исследованию проводили в соответствии с инструкцией по применению моноклональных антител. Результаты определения уровня содержания лимфоцитов в

периферической крови животных на фоне введения дексаметазона на четвертый день относительно начала введения препарата представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1

Динамика содержания лимфоцитов в периферической крови у контрольной и опытной группы мышей на фоне введения дексаметазона

Клетки крови/CD-маркер	Абсолютное количество клеток ($\bar{X} \pm l_{95}$) в контрольной (1) и опытной (2) группах мышей, кл. $\cdot 10^3$ /мкл		Относительное количество клеток ($\bar{X} \pm l_{95}$) в контрольной (3) и опытной (4) группах мышей, %	
	1	2	3	4
Гранулоциты/CD45	12,8 $\pm$ 1,0	11,2 $\pm$ 2,4	96,5 $\pm$ 1,2	97,3 $\pm$ 1,6
Лимфоциты/CD3 ⁺ CD19 ⁺	8,4 $\pm$ 0,8	4,7 $\pm$ 1,4	65,4 $\pm$ 3,5	49,5 $\pm$ 2,4
Т-лимфоциты/CD3 ⁺	5,2 $\pm$ 0,7	3,3 $\pm$ 1,1	61,93 $\pm$ 3,4	52,9 $\pm$ 2,8
В-лимфоциты/CD19 ⁺	2,4 $\pm$ 0,3	1,5 $\pm$ 0,3	29,3 $\pm$ 3,8	46,5 $\pm$ 1,7
Т-лимфоциты хелперы/CD4 ⁺	3,3 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,2	52,8 $\pm$ 1,2	49,7 $\pm$ 1,3
Т-лимфоциты цитотоксические/CD8 ⁺	2,1 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,1	44,7 $\pm$ 1,6	48,1 $\pm$ 0,9

Из данных, представленных в таблице 1, следует, что на фоне введения дексаметазона достоверно снижается общее количество всех популяций и субпопуляций лимфоцитов. Снижение абсолютного количества лимфоцитов происходит преимущественно за счет Т-лимфоцитов, среди последних – за счет Т-лимфоцитов хелперов. Динамика относительных показателей клеток соответствует абсолютным значениям и свидетельствует о сформировавшемся состоянии иммунодефицита в организме животных на фоне введения дексаметазона по выбранной схеме. На 7-й день значение большинства показателей у опытной группы достигли фоновых – в контрольной группе животных.

Для оценки влияния дексаметазона на содержание мононуклеаров в селезенке животных подвергали эвтаназии при помощи эфира. После наступления смерти у животных с соблюдением правил асептики выделяли селезенку. Селезенку стерильным пинцетом помещали в пробирку типа «Эппендорф» с 2 мл охлажденного раствора Хэнкса и взвешивали на аналитических весах. После взвешивания селезенку помещали в металлическое сито из нержавеющей стали и измельчали стерильным пинцетами, стараясь перевести в суспензию возможно большее число клеток.

Полученную от каждой мыши клеточную суспензию собирали в пробирку стерильным шприцом через иголку и выпускали в центрифужную

пробирку. Содержимое всех пробирок доводили раствором Хенкса до одинакового уровня и центрифугировали при режиме 1500 об/мин 10 мин.

По окончании центрифугирования надосадочную жидкость удаляли. Дальнейшее разделение клеток проводили, используя градиент плотности $\rho=1,083$ г/мл.

С этой целью в отдельную пробирку добавляли 1 мл градиента плотности и аккуратно 1:1 наслаивали на него суспензию клеток. Содержимое пробирок центрифугировали, используя тот же режим. По окончании центрифугирования белую суспензию клеток (рисунок 1) собирали в отдельную пробирку и доводили содержимое до 1 мл.

Учитывая высокую концентрацию клеток в 1 мл и сложность их подсчета в камере Горяева, проводили ряд последовательных разведений, после чего заполняли камеру Горяева и проводили подсчет клеток в 50 больших квадрантах камеры Горяева. При расчете концентрации клеток использовали следующую формулу (5).

$$A = B \cdot 10\,000 \cdot K, \quad (5)$$

где

A – концентрация клеток, выделенных из селезенки мышей в 1 мл;

B – 10 000 – стандартный коэффициент при подсчете клеток в 50 квадрантах камеры Горяева;

K – коэффициент разведения клеток перед подсчетом.

Результаты исследования по оценке влияния дексаметазона на состояние селезенки и количественный уровень лимфоцитов в опытной и контрольной группах мышей представлены в таблице 1.2.

Таблица 1.2

Результаты оценки влияния дексаметазона на состояние селезенки и количественный уровень лимфоцитов в опытной и контрольной группах мышей

№ мыши	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{X} \pm l_{95}$
Показатель											
Контрольная группа (n=10)											
Масса селезенки, г	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,18±0,04
Количество лимфоцитов в селезенке, кл 10^8	Н	4,1	25,0	6,2	3,1	3,6	14,0	7,4	5,8	30,5	11,1±6,59
Опытная группа (n=10)											
Масса селезенки, г	0,2	0,1	0,3	0,4	0,2	0,1	0,2	0,1	0,7	0,1	0,24±0,12
Количество лимфоцитов в селезенке, кл 10^8	6,8	5,4	6,3	6,7	13,8	15,7	17,2	8,8	4,0	6,0	9,07±3,1
Примечание – «Н» – выделение клеток не проводилось											

Из данных, представленных в таблице 1.2, следует, что масса селезенки и количество лимфоцитов на фоне введения дексаметазона статистически значимо не изменились.

Отсутствие значимого изменения количества клеток в селезенке на фоне введения дексаметазона в противовес достоверному снижению Т- и В-лимфоцитов в периферической крови мышей может быть связано с кинетикой клеточного цикла спленоцитов и процессами рециркуляции лимфоцитов в организме животных¹³.

Не исключено, что данный факт является положительным, так как, с одной стороны, о чем свидетельствует выраженное снижение всех популяций и субпопуляций лимфоцитов, является подтверждением достигнутой цели работы – разработке биологической модели иммуносупрессии. С другой стороны, о чем свидетельствует отсутствие подавления количественного состава клеток в селезенке, возможности использования разработанной модели иммуносупрессии, с сохраненным иммунным ответом в морфологически неповрежденном периферическом иммунном органе, при проведении экспериментальных исследований, например, для обеспечения наилучшей приживаемости бактериального или вирусного антигена при создании модели антропонозной инфекции в организме лабораторного животного.

Параллельно с оценкой содержания мононуклеаров в селезенке проводили изучение их фагоцитарной активности с использованием пекарских дрожжей

Для определения фагоцитарной активности использовали концентрацию клеток дрожжей $2 \cdot 10^6$ кл./мл. Мононуклеары, выделенные из селезенки каждой мыши из контрольной и опытной (с состоянием иммуносупрессии мышей) групп животных, смешивали 1:1 в эппендорфах с *S. cerevisiae* в концентрации 0,00126 %. Пробирки с содержимым инкубировали в 60 мин при температуре 37 °C. По окончании инкубации 100 мкл смеси из каждой пробирки засевали на чашки Петри, помещали при 37 °C в анаэробическую камеру на 24 ч.

Результат анализа роста колоний и определения концентрации *S. cerevisiae* после воздействия на них мононуклеаров в процессе инкубации показал, что количество колоний и концентрация *S. cerevisiae* меньше в контрольной группе, чем в опытной, которая была подвержена воздействию дексаметазона, соответственно: колоний – $55,8 \pm 6,1$ против $93,9 \pm 11,8$;

¹³ Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 748 с.

концентрация *S. cerevisiae* – $3,5 \cdot 10^8 \pm 0,39 \cdot 10^8$ м.к./мл против $5,9 \cdot 10^8 \pm 0,75 \cdot 10^8$ м.к./мл.

Полученный результат объясняется тем, что в опытной группе активность моноклеаров снижена действием дексаметазона. Моноклеары хуже поглощают антиген в качестве, которого в данной методике был использован микробный препарат *S. cerevisiae*, что проявляется в виде большего количества выросших колоний и определенной концентрации клеток.

Кроме того, проводили оценку влияния дексаметазона на микрофлору кишечника. Кал собирали на пятый день после окончания введения дексаметазона в отдельные пробирки от контрольной и опытной группы мышей. Биологический материал, взятый от каждого животного, массой 1 г. растворяли в 10 мл физиологического раствора, делая далее ряд десятикратных разведений. В чашки с селективной питательной средой вносили по 100 мкл материала из 5, 7 и 9 разведения.

По результатам бактериологического и биохимического исследования были установлены следующие результаты. Патогенных микробов семейства кишечной палочки ни в контрольной ни в опытной группе мышей не выявлено. Типичная, лактозонегативная, гемолитическая кишечная палочка как в контрольной, так и в опытной группах мышей находились в пределах нормы.

Среди условно-патогенных микроорганизмов: выделен *Proteus vulgaris*, количество которого не выходило за пределы нормы (10^4 КОЕ/мл) и было определено как 10^3 КОЕ/мл; количество стафилококка находилось в пределах нормы (в контрольной группе 10^3 КОЕ/мл, в опытной 10^4 КОЕ/мл при норме – не более 10^4 КОЕ/мл); количество энтерококков на фоне применения дексаметазона не изменилось и составило 10^5 КОЕ/мл (при норме 10^5 – 10^8 КОЕ/мл).

Использование препарата из группы глюкокортикоидов в значительной степени повлияло на уровень содержания лакто- и бифидумбактерий. Количество лактобактерий снизилось в опытной относительно контрольной группы с 10^7 КОЕ/мл до 10^6 КОЕ/мл (при норме 10^7 – 10^8 КОЕ/мл), бифидумбактерий с 10^9 КОЕ/мл до 10^8 КОЕ/мл (при норме 10^9 – 10^{10} КОЕ/мл). Кроме этого, на фоне применения дексаметазона значительно увеличился рост клостридий с 10^3 КОЕ/мл до 10^5 КОЕ/мл, хотя общее количество микроорганизмов данного рода не превышало границы нормы; дрожжеподобных грибов рода *Candida* с 10^4 КОЕ/мл до 10^6 КОЕ/мл (при норме не более 10^4 КОЕ/мл); выявлен рост *Bacillus subtilis*– $5 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, которых в норме быть не должно.

Таким образом, по результатам работы оценена возможность использования дексаметазона для создания модели иммуносупрессии.

Доза дексаметазона 40 мкг на животное в сутки при трехкратном введении позволяет снизить общее количество всех популяций и субпопуляций лимфоцитов, а также фагоцитарную активность мононуклеаров селезенки. Подобная модель имеет экспериментальное значение для оценки влияния новых иммуномодуляторов для коррекции состояния иммуносупрессии.

Отсутствие значимого изменения количества клеток в селезенке на фоне введения дексаметазона позволяет рассматривать данную модель иммуносупрессии как модель с сохраненным иммунным ответом в морфологически неповрежденном периферическом иммунном органе. Такая биологическая модель обеспечит наилучшую приживаемость бактериального или вирусного антигена при создании модели антропонозной инфекции в организме лабораторного животного.

Экспериментально подтвержденный факт развития дисбактериоза на фоне использования дексаметазона у нелинейных мышей свидетельствует о возможности развития подобного состояния и у пациентов, нуждающихся в системном назначении глюкокортикоидов. Это обосновывает целесообразность использования разработанной биологической модели иммуносупрессии для отработки схем коррекции дисбактериоза с использованием новых иммунобиологических препаратов.

Глава 2. Эффекты систематических экспериментальных гравитационных перегрузок, проявляющихся морфофункциональными преобразованиями в надпочечных железах и тимусе

Для поддержания гомеостаза эндокринная и иммунная системы образуют единый механизм, играющий важнейшую роль в обеспечении резистентности организма¹⁴. Однако установить закономерности структурно-функциональных изменений в органах эндокринной и иммунной систем человека и степень их взаиморегуляции в условиях летной деятельности достаточно проблематично¹⁵. Если физиологические процессы, протекающие в организме под воздействием гравитационных перегрузок, можно исследовать на человеке, как при плановых обследованиях летного состава, так и в экспериментальных условиях с использованием центрифуг, то морфологические изменения внутренних органов и тканей, возникающие при действии перегрузок можно изучать, лишь на экспериментальных животных¹⁶.

Вышеизложенные факторы и стали основополагающими в выборе темы научной работы и постановке цели исследования – установление закономерностей строения органов эндокринной (надпочечные железы) и иммунной (тимус) систем в возрастном аспекте при систематическом воздействии гравитационных перегрузок.

Материалы и методы исследования. Исследование было проведено на 72 крысах-самцах линии Вистар ювенильного, молодого и зрелого возраста, распределенных на 2 серии опытов (контрольная и экспериментальная), по 36 крыс в каждой. В зависимости от срока эксперимента (10 и 30 дней) крысы каждой серии были разделены на 3 подгруппы.

Гипергравитацию моделировали путем вращения животных в периферических контейнерах на центрифуге Ц-2/500 (рабочий диапазон от 1 до 50 g, радиус плеча 50 см, градиент нарастания – 1,6 g/c, градиент спада – 0,6-0,8 g/c). Режим воздействия: направление – поперечное, величина – 9 g, ежедневно в течение 10 минут в виде следующих друг за другом трех

¹⁴ Пашенко П.С. Дорзальный вагусный комплекс крысы в норме и при систематическом воздействии гравитационных перегрузок / П. С. Пашенко, А. Ф. Сухотерин // Вестн. Международной академии проблем человека в авиации и космонавтике. – 2005. – № 3(19). – С. 33-39.

¹⁵ Пашенко П. С. Комплекс цитохимических показателей для раннего выявления клеточной дезадаптации у летчиков / П. С. Пашенко // «Клинико-физиологические аспекты медицинской реабилитации летного состава»; Гатчина, 24 мая, 1996 г. : тез. докл. науч.-практич. конф. – Гатчина, 1996. с. 103-104.

¹⁶ Бухтияров И.В. Сравнительная характеристика показателей газоэнергообмена при воздействии боковых (Gy), продольных (Gz) и продольно-боковых (Gz/Gy) перегрузок / И. В. Бухтияров, О. Л. Головкина // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2005. – Т. 39, № 5. – С. 10-13.

“площадок”¹⁷, продолжительностью по 3 минуты каждая (с двумя 30-ти секундными перерывами между ними). Эксперимент проводился ежедневно, в одно и то же время суток.

Были применены методы исследования: биометрический, органомерический (весовой) – для выявления изменений у крыс на организменном и органном уровне; гистологический (светооптический) с дальнейшей морфометрией структурных компонентов органов – для выявления изменений в надпочечных железах и тимусе на тканевом и клеточном уровне; электронномикроскопический (трансмиссионная электронная микроскопия) – для выявления ультраструктурных изменений в клетках исследуемых органов; лектинной гистохимии – для изучения закономерностей в распределении гликополимеров – рецепторов лектинов в лимфоцитах тимуса; лабораторные методы исследования крови: определение содержания ТБК-активных продуктов и калия в сыворотке крови, дифференциальный подсчет лейкоцитов в мазках крови – для выявления особенностей общей реакции организма на гравитационные перегрузки; статистический – для анализа и установления достоверности количественных показателей морфологических исследований.

Анализ полученных результатов. Проведенное исследование показало, что относительно непродолжительное (10 дней) систематическое воздействие гравитационных перегрузок у крыс ювенильного возраста в определенной степени изменяет состояние регуляторных систем организма, активируя их адаптационные механизмы, направленные на сохранение гомеостаза. Одним из косвенных свидетельств этого является приближение к контрольным данным значений прироста массы тела животных. При этом на фоне интенсивного протекания процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), характерного для раннего онтогенеза¹⁸, гипергравитационное воздействие активирует антиоксидантную систему (АОС) организма, что приводит к некоторому снижению содержания в сыворотке крови крыс продуктов перекисного окисления липидов (ТБК-АП)¹⁹.

¹⁷ Пашенко П.С. Методика моделирования гравитационных перегрузок в эксперименте. Усовершенствование методов и аппаратуры, применяемых в учебном процессе, медико-биологических исследованиях и клинической практике / П. С. Пашенко // Сборник изобретений и рационализаторских предложений ВМедА. – СПб. – 1995. – Вып. 26. – С. 3.

¹⁸ Мороз Г.А., Кутя С.А. Морфофункциональные изменения в надпочечных железах крыс при многократном воздействии гравитационных перегрузок / Г.А. Мороз, С.А. Кутя // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 4. – С. 118-120.

¹⁹ Мороз Г.А. Содержание ТБК-АП в сыворотке крови крыс при систематическом воздействии гравитационных перегрузок / Г. А. Мороз // Медицина сьогодні і завтра. – 2009 – № 1. – С. 14-17.

Для изученных органов оказывается характерным развитие выраженных циркуляторных нарушений в виде кровоизлияний, отека, расширения и полнокровия сосудов, особенно вен, стаза и сладжа эритроцитов, что, на наш взгляд, следует расценивать как прямое неспецифическое действие перегрузок.

Наряду с этим, реакция надпочечных желез характеризуется выраженной стресс-индуцированной активацией, что подтверждается значительно возросшей (в сравнении с контролем, в 2,3 раза, $p < 0,05$) относительной массой надпочечников, увеличением в них доли коркового вещества (на 8,14%, $p < 0,05$), преобладанием в пучковой зоне коры функционально активных светлых адренкортикоцитов.

При этом, накопление в цитоплазме спонгиозитов липидных включений, свидетельствует, с одной стороны, о возможном нарушении утилизации неиспользованных холестероловых эфиров в ходе неэффективной работы измененных митохондрий²⁰, а с другой – о тенденции к нормализации функционального состояния клеток и повышении их стероидосинтезирующего потенциала²¹, как признаке приспособительной реакции адреналовой системы крыс к повторяющемуся воздействию гравитационных перегрузок²². Наряду с этим, в мозговом веществе прогрессируют морфологические признаки изнашивания хромаффинных клеток и снижения их гормонопродуцирующей функции, что косвенно подтверждается повышением уровня калия в сыворотке крови крыс (в сравнении с контролем, на 20,85%, $p < 0,05$)²³. Повидимому, значительное расходование гормонов «острого» стресса (катехоламинов) во время первых сеансов гипергравитации истощает их запасы в органе и при последующих стрессорных воздействиях предопределяет невысокий уровень адреналиноподобных веществ в крови, что способствует выходу K^+ из клеток в плазму.

Стресс-индуцированная активация коркового вещества надпочечных желез закономерно способствует гипоплазии лимфоидной ткани тимуса²,

²⁰ Стельникова И. Г. Надпочечники при адаптации организма к двигательным нагрузкам и гипокинезии (экспериментально-морфологическое исследование) : автореф. дис. на соискание учен. степени докт. мед. наук : спец. 14.00.02 «Анатомия человека» / И. Г. Стельникова. – Москва, 2007. – 48 с.

²¹ Рубинштейн А.М. Морфометрический анализ адренкортикоцитов крыс в условиях стойкого некомпенсированного гипотиреоза / А. М. Рубинштейн, Т. П. Куфтырева, Р. С. Довгань // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2, Т. 2. – С. 241-244.

²² Мороз Г.О. Зміни лейкоцитарної формули під впливом гравітаційних перевантажень в експерименті / Г. О. Мороз // Клін. анат. та опер. хірургія. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 66-70.

²³ Мороз Г.А. Структурно-функциональные особенности тимуса крыс разного возраста при систематическом воздействии гипергравитации / Г. А. Мороз // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 142-147.

что характеризуется снижением абсолютной и относительной массы органа (в сравнении с контролем – на 13,00%, $p < 0,05$ и 12,74%, соответственно). Тимические долики уменьшаются в размерах, появляются признаки инверсии слоев (кортико-медуллярный индекс с 5,14 – в контроле, уменьшается до 1,58).

В коре снижается плотность распределения клеточных элементов (на 7,66%, $p < 0,05$). Подобные изменения в тимусе обусловлены, с одной стороны, активацией адаптационно-компенсаторных реакций, выражающихся в усилении миграционных процессов. Это подтверждается расширением кортико-медуллярной зоны, переполнением лимфоцитами периваскулярных пространств, резким повышением содержания на цитолемме и в цитоплазме лимфоцитов сиалоконъюгатов, а также активацией секреторной функции эпителиального компонента.

С другой стороны, прямое повреждающее действие фактора гипергравитации в сочетании с повышенной функциональной активностью коры надпочечников приводит к формированию выраженной цитолитической реакции (увеличение процентного содержания деструктивно измененных клеток (в 2,4 раза, $p < 0,05$) на фоне возросшей макрофагальной активности). При этом, наряду с дистрофическо-деструктивными изменениями, затрагивающими как клетки лимфоцитарного ряда, так и микроокружения, в глубоких слоях коры активируется бласттрансформация кортизолустойчивых лимфоцитов, потенцированная быстрым опустошением органа в первые сеансы стрессорного воздействия гипергравитации.

Однако достоверное увеличение относительного содержания в коре средних лимфоцитов указывает на нарушение процессов созревания и дифференцировки лимфоцитов, что подтверждается активным сиалированием остатков D-галактозы на цитолемме лимфоцитов наряду с уменьшением экспрессии рецепторов PNA и SBA, свидетельствующим о снижении адгезивных свойств клеток и их способности образовывать упорядоченные структуры с микроокружением²⁴.

В целом, такие морфофункциональные преобразования в тимусе отражают высокую степень реактивных изменений, характерных для стресс-реакции, на фоне развивающихся адаптационно-компенсаторных процессов и неспецифических структурно-функциональных изменений, обусловленных непосредственным воздействием гравитационных перегрузок²⁵.

²⁴ Цитотопографія рецепторів лектинів у структурних компонентах органів імунотенезу / А. М. Яценко, В.О. Антонюк, О.В. Наконечна [та ін.] // Львівський медичний часопис. – 2005. – Т. 11, № 3. – С. 96-100.

²⁵ Мороз Г.А. Калий крови крыс при гипергравитационном воздействии и его коррекции / Г. А. Мороз //

Стресс-индуцированную активацию иммунных механизмов в определенной степени подтверждают и изменения в лейкограмме экспериментальных крыс²⁶, проявляющиеся несколько повышенным уровнем лимфоцитов и значительным увеличением относительного содержания моноцитов (в 1,7 раза, $p < 0,05$).

Таким образом, принимая во внимание относительно малую кратность гипергравитационного воздействия (10 сеансов) и, соответственно, умеренную интенсивность адаптационно-компенсаторных реакций на фоне выраженной реактивности организма, общее состояние иммунной защиты поддерживается на достаточном уровне.

Характерна адекватность реактивных и приспособительных изменений друг другу, проявляющаяся в формировании устойчивой функциональной системы адаптации, направленной на нивелирование стрессорного воздействия и его последствий.

Крысы молодого возраста на 10-кратное воздействие гравитационных перегрузок реагируют несколько иначе, чем половозрелые животные. Налицо более выраженные изменения показателей, характеризующих общий статус организма. Происходит замедление прироста массы тела (в сравнении с контролем, на 20,25%, $p < 0,05$). В сыворотке крови существенно снижается содержание ТБК-активных продуктов (на 35,48%, $p < 0,05$), что, по-видимому, можно объяснить, как, в целом, высокими потенциями АОС молодых животных, так и антиоксидантными свойствами катехоламинов и глюкокортикоидов²⁷, циркулирующих в крови. Косвенно повышенный уровень катехоламинов подтверждает снижение содержания в сыворотке крови ионов калия (на 6,20%).

Обращает на себя внимание умеренный характер протекания реактивных изменений в изученных органах. Так, относительная масса надпочечных желез, в отличие от крыс ювенильного возраста, превышает контрольные данные лишь на 11,12%²⁸. Сочетание адаптационных преобразований и

Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 133-135.

²⁶ Котовская А. Р. Особенности физиологических реакций космонавтов - непрофессионалов МКС на действие перегрузок +Gx в кратковременных космических полетах / А. Р. Котовская, И. Ф. Виль-Вильямс // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2007. – Т. 41. № 3. – С. 7-14.

²⁷ Антиоксидантная активность сыворотки крови / Г. И. Клебанов, Ю. О. Теселкин, И. В. Бабенкова [и др.] // Вестн. Росс. акад. мед. наук. – 1999, № 2. С. 15-22.

²⁸ Мороз Г.А. Структурно-функциональные особенности тимуса крыс разного возраста при систематическом воздействии гипергравитации / Г. А. Мороз // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 142-147.

изменений, обусловленных прямым повреждающим действием гипергравитации, создает гетерогенную картину.

Адренокортикоциты имеют, как признаки функционального напряжения, так и дистрофических изменений (расширение и просветление ядер, увеличение в кариолемме количества ядерных пор, вакуолизация цитоплазмы, дезориентация и деструкция крист митохондрий, расширение канальцев ЭПС, вариабельность количества и размеров липосом). Хромаффинные клетки содержат, как опустошенные секреторные гранулы, так и гранулы средней и высокой электронной плотности. Подобные изменения в корковых и мозговых эндокриноцитах, на наш взгляд, свидетельствует об адекватной функциональной активности надпочечных желез, а в сравнении с животными ювенильного возрастного периода – о большей резистентности адреналовой системы крыс молодого возраста к относительно непродолжительному воздействию гравитационных перегрузок.

Умеренные морфофункциональные преобразования происходят и в тимусе. В отличие от данных крыс предыдущей возрастной группы, абсолютная и относительная масса железы достоверно увеличивается (на 6,12% и 11,30%, соответственно), что, по-видимому, обусловлено, прежде всего, полнокровием сосудистого русла и отеком соединительнотканых структур. Отклонение в соотношении коркового и мозгового вещества в пользу последнего менее значимо (кортико-медулярный индекс, К/М = 1,81), чем у животных ювенильного возраста. В меньшей степени выражена и цитолитическая реакция лимфоидной ткани. Однако, повышенное, в сравнении с контролем, содержание в коре клеток с признаками деструкции (на 49,24%, $p < 0,05$), снижение процентного содержания малых форм клеток (на 17,45%, $p < 0,05$) при увеличении доли средних (на 27,23%, $p < 0,05$), в определенной степени, свидетельствуют о дерегуляции процессов лимфопоэза.

Несмотря на достаточно выраженные дегенеративные изменения, в том числе и эпителиоретикулоцитов, обусловленные, вероятно, нарастающей гипоксией органа, активируются адаптационно-компенсаторные механизмы. Увеличение экспрессии на лимфоцитах субкапсулярной зоны коры и мозгового вещества рецепторов PNA и RCA, обуславливающих адгезивные и миграционные способности клеток, а также повышение митотической активности в коре свидетельствуют о векторе, направленном на восстановление клеточной популяции в центральном органе иммуногенеза.

О том, что организм животных находится в состоянии стресса, а его иммунная система испытывает функциональную напряженность, сочетающуюся с нарушением лимфопоэза и мобилизацией неспецифической защиты

– фагоцитоза, по нашему мнению, свидетельствуют и данные лейкоцитарного профиля периферической крови крыс. Снижается удельное содержание лимфоцитов (на 43,95%, $p < 0,05$), в 2,4 раза, $p < 0,05$ повышается уровень нейтрофилов. На наш взгляд, относительная недостаточность лимфоцитов обусловлена тем, что при первых сеансах воздействия перегрузок острая стресс-реакция стимулировала эмиграцию лимфоцитов из тимуса в красный костный мозг и соединительную ткань, а последующие сеансы гипергравитационного воздействия не позволяют тимусу восстановить свою лимфопоэтическую функцию в полной мере и обеспечивать нормальный уровень клеток в кровеносном русле.

Таким образом, морфологическая картина надпочечных желез и тимуса крыс молодого возраста, подвергавшихся 10-кратному воздействию гипергравитации, характеризуется, прежде всего, умеренно выраженными реактивными изменениями на фоне активно протекающих адаптационно-компенсаторных процессов. В отличие от ряда структурных изменений в органах, выявленных у экспериментальных животных ювенильного возраста, морфофункциональная перестройка надпочечных желез и тимуса носит более сглаженный характер, что обусловлено, по всей видимости, зрелостью поддерживающих гомеостаз функциональных систем.

У крыс зрелого возраста после 10-кратного воздействия гипергравитации так же, как и у экспериментальных животных двух предыдущих возрастных групп, в ответ на относительно немногократное воздействие экзогенного фактора отмечали умеренную по степени выраженности активацию регуляторных систем организма. В отличие от животных ювенильного и молодого возраста, у крыс данной возрастной группы прирост массы тела опережает контрольные данные на 6,17%, $p < 0,05$. Содержание ТБК-активных продуктов в сыворотке крови достоверно снижается, что можно объяснить активацией антиоксидантной системы организма крыс в ответ на действие неблагоприятного фактора умеренных характеристик. Уровень калия крови существенно не изменяется, превышая данные контроля в пределах физиологической нормы.

Обращает на себя внимание характер и направленность адаптационно-компенсаторных механизмов. Наиболее выраженные морфофункциональные изменения происходят в центральном органе иммуногенеза – тимусе. В отличие от экспериментальных животных ювенильного и молодого возрастных периодов, у крыс зрелого возраста гипоплазия лимфоидной ткани тимуса обусловлена не только усиленной миграцией лимфоцитов и кортизолиндуцированным апоптозом, но и нарастающей возрастной

инволюцией. В данных условиях, резко возрастает потребность в активизации заселения клеток-предшественников из костного мозга в тимус, опосредованная секреторной функцией эпителиоретикулоцитов²⁹.

Действительно, в органе происходит структурная перестройка, которая характеризуется наложением циркуляторных расстройств и процессов акцидентальной инволюции на возрастные изменения. Такие преобразования, как разрастание соединительнотканых структур, замещение паренхимы жировой тканью, дегенерация эпителиального компонента являются характерными для крыс зрелого возраста³⁰.

Однако в условиях гипергравитационного стресса интенсивность инволютивных процессов возрастает³¹. Происходит смещение корково-мозгового соотношения в пользу мозгового вещества (кортико-медуллярный индекс снижался с 1,97 – в контроле, до 1,35). В околососудистых пространствах, заполненных лимфоцитами, чаще встречаются плазматические клетки. Лимфоцитарная популяция характеризуется снижением относительного содержания малых и больших лимфоцитов при увеличении процента средних клеток. В лимфоцитах коры и мозгового вещества возрастает количество сиалокоњугов, что повышает их миграционные возможности. При этом на фоне снижения в субкапсулярной зоне коры пролиферативной активности, адгезивные свойства лимфоцитов и их способность образовывать упорядоченные структуры с микроокружением возрастают, что подтверждается высокой экспрессией на их поверхности рецепторов лектинов арахиса и сои. Повышается секреторная активность эпителиального компонента, увеличивается количество телец Гассала³².

Напряженное состояние иммунной защиты организма в определенной степени подтверждается и данными лейкоцитарного профиля крови. Изменения в лейкограмме имеют те же тенденции, что и у крыс предыдущей возрастной группы (в сравнении с контролем, относительное содержание нейтрофильных гранулоцитов увеличивается на 43,54%, $p < 0,05$, а

²⁹ Городничева Е.А. Особенности динамики объема, абсолютной и относительной массы тимуса белых крыс первой недели постнатального периода онтогенеза / Е. А. Городничева // Труды КГМУ. – 1999. – Т. 135, ч. 1. – С. 204-209.

³⁰ Никитченко Ю.В. Регуляция свободнорадикального окисления липидов в процессе старения организма / Ю. В. Никитченко // «Биологические механизмы старения»; г. Харьков, 30 мая – 1 июня 2002 г., : тезисы докладов V международного симпозиума. – Харьков, 2002. – С. 38-39.

³¹ Краснов И. Б. Роль эндокринных желез в механизме дивергенции пластических процессов и энергетического обмена у крыс при длительном воздействии гипергравитации. Цитологическое исследование / И. Б. Краснов, Е. И. Алексеев, В. И. Логинов // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2006. – Т. 40, № 3. – С. 29-34.

³² Мороз Г.А. Калий крови крыс при гипергравитационном воздействии и его коррекции / Г. А. Мороз // Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 133-135.

лимфоцитов – уменьшается на 17,69%, $p < 0,05$). Не исключено, что снижение уровня лимфоцитов не соответствует истинной лимфопении, а является проявлением возросшей доли других видов клеток лейкоцитарного ряда.

На фоне подобных изменений в тимусе морфофункциональная перестройка надпочечных желез характеризуется, вероятно, "компромиссом" между стрессорной активацией и уменьшением выброса глюкокортикоидов в кровь под влиянием подавляющего действия тимических гормонов на фоне дистрофическо-деструктивных изменений, обусловленных действием гипергравитационного фактора.

Морфологически подобные преобразования характеризуются снижением относительной массы надпочечных желез (в сравнении с контролем, на 22,98%, $p < 0,05$), уменьшением относительной площади коркового вещества с перераспределением соотношения слоев коры в сторону уменьшения клубочковой и пучковой зон на 24,47%, $p < 0,05$ и 7,50%, $p < 0,05$, соответственно, и увеличением доли сетчатой зоны (на 67,43%, $p < 0,05$). В пучковой зоне преобладают темные эндокриноциты, однако, в сравнении с контролем, доля светлых клеток возрастает (на 14,39%, $p < 0,05$). Адренкортициты и хромаффинные клетки с признаками функционального напряжения, на субмикроскопическом уровне характеризуются дистрофическо-деструктивными изменениями органелл (дискомплексация и деструкция крист митохондрий, локальное разрушение цитомембран, расширение и вакуолизация канальцев эндоплазматической сети, частичная редукция комплекса Гольджи, уменьшение количества и плотности липосом и размеров секреторных гранул).

Таким образом, у крыс зрелого возраста развивающийся комплекс реактивных и адаптационно-компенсаторных механизмов в центральном органе иммуногенеза и надпочечных железах по отношению к 10-кратному воздействию гипергравитации является адекватным и направленным, прежде всего, на восстановление утраченной клеточной популяции иммунокомпетентных клеток тимуса на фоне нарастающей возрастной инволюции.

Систематическое действие гравитационных перегрузок на протяжении 30 дней вызывает в организме крыс более выраженные морфофункциональные сдвиги, чем 10-кратное воздействие.

Данные прироста массы тела экспериментальных животных, уровня продуктов перекисного окисления липидов и калия в сыворотке крови свидетельствуют о напряженности гомеостаза. Так, крысы ювенильного возраста после последнего сеанса гипергравитации отстают в темпах набора массы тела от контрольных животных на 8,73%, $p < 0,05$. В крови крыс

накапливаются продукты ПОЛ. Содержание ТБК-АП, в сравнении с контролем, возрастает на 34,23%, $p < 0,05$, что свидетельствует о значительном ослаблении антиоксидантной защиты организма³³. Уровень калия в сыворотке крови повышается и превышает данные контроля на 22,33%, $p < 0,05$, что, по-видимому, связано с низким содержанием в крови катехоламинов, а также, не исключено, и с цитолизом, вызванным гипоксией тканей.

Морфологически надпочечные железы, как органы эндокринной системы, реализующие стрессорный ответ организма на внешний раздражитель, характеризуются выраженными реактивными изменениями. Наблюдается увеличение относительной массы надпочечных желез (в сравнении с контролем, более чем в 2,5 раза, $p < 0,05$) на фоне умеренной гиперплазии коркового вещества, с увеличением доли пучковой зоны (на 6,27%, $p < 0,05$). При этом в данной зоне повышается плотность распределения клеточных элементов (на 31,39%, $p < 0,05$). В популяции спонгиоцитов преобладают темные клетки, большинство из которых составляют пул молодых эндокриноцитов с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением и повышенным содержанием в цитоплазме липидных запасов.

Но при этом, в сравнении с контролем, возрастает и удельное содержание активно функционирующих светлых клеток. Такие данные морфологической перестройки надпочечных желез свидетельствуют об активном функционировании стрессовой гормональной системы³⁴.

С другой стороны, нарастание прямого негативного влияния перегрузок проявляется полнокровием микроциркуляторного русла, дистрофическими изменениями эндокриноцитов (в большей степени – клеток мозгового вещества). Хромаффинные клетки характеризуются морфологическими признаками угнетения синтеза и секреции катехоламинов в виде деструкции крист митохондрий, редукции комплекса Гольджи, уменьшения размеров и числа секреторных гранул.

В целом, такие изменения в надпочечных железах свидетельствуют о его значительном функциональном напряжении при достаточном резерве адаптационных возможностей эндокриноцитов коркового вещества и в меньшей степени – мозгового.

³³ Карбашевська Н.Я. Вплив гіпергравітаційного стресу на стан антиоксидантної системи щурів / Н. Я. Карбашевська, В. А. Барабой, І. О. Блюм // Доп. НАН України. – 1998. № 10. – С. 89-94.

³⁴ Колдышева Е.В. Ультраструктурные эквиваленты адаптивной реорганизации коры надпочечников при действии экстремальных факторов / Е. В. Колдышева // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – № 6. – С. 139-144.

Достаточно высокую степень структурно-функциональной перестройки проявляет и вилочковая железа. В тимусе происходят разнонаправленные изменения, общая тенденция которых заключается, по нашему мнению, в восстановлении утраченной в процессе деструкции и миграции популяции лимфоидных клеток. Так же, как и в надпочечниках, усиливаются проявления непосредственного повреждающего действия перегрузок. В отличие от 10-дневного эксперимента, абсолютная и относительная масса тимуса возрастают и превышают контрольные значения на 49,52%, $p < 0,05$ и 48,88%, $p < 0,05$, соответственно, что, в первую очередь, обусловлено полнокровием венозного русла железы и отеком³⁵.

В значительной мере изменяется и архитектура тимуса – уменьшается доля коркового вещества ($K/M = 1,46$) на фоне снижения плотности клеточной популяции в коре (на 21,78%, $p < 0,05$). Вместе с тем, несмотря на существенно возросшее действие гипергравитационного фактора и высокую функциональную активность коры надпочечников, в тимусе осуществляется устойчивая реализация адаптационно-компенсаторных механизмов, что проявляется увеличением процентного содержания молодых форм клеток, более часто, чем в серии опытов 10-кратного воздействия перегрузок, встречающимися митозами и высокой секреторной активностью эпителиального компонента. Активизация процессов дифференцировки и созревания лимфоцитов подтверждается накоплением на цитолемме клеток N-ацетил-D-галактозаминоконъюгатов, способствующих образованию упорядоченных структур с микроокружением. В свою очередь тимоциты кортикостероидной зоны и мозгового вещества теряют рецепторы SNA и RCA, что значительно снижает их возможности мигрировать из органа³⁶. Подтверждением этого является переполнение периваскулярных пространств лимфоцитами.

В целом, такое морфофункциональное состояние тимуса хотя и свидетельствует о снижении лимфоцитопоэтической функции, но отражает его высокие адаптационные способности.

При этом выявленные в лейкограмме повышение уровня лимфоцитов (на 16,21%, $p < 0,05$) на фоне уменьшения популяции нейтрофилов (на 16,71%, $p < 0,05$) с ядерным сдвигом влево подтверждают факт напряжения

³⁵Мороз Г.А. Содержание ТБК-АП в сыворотке крови крыс при систематическом воздействии гравитационных перегрузок / Г. А. Мороз // Медицина сьогодні і завтра. – 2009 – № 1. – С. 14-17.

³⁶Мороз Г.А., Шаповалова Е.Ю. Лектиногистохимическая характеристика лимфоцитов тимуса крыс при систематическом воздействии гипергравитации / Г. А. Мороз, Е. Ю. Шаповалова // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 187-190.

лейкопоза – в целом, и лимфоцитопоза в лимфоидных органах – в частности.

У животных молодого возраста после 30-кратного воздействия гипергравитации отклонения от контрольных значений общих показателей резистентности организма (масса тела, содержание ТБК-активных продуктов, уровень ионов калия в сыворотке крови), в целом, соответствуют таковым, полученным у крыс предыдущей возрастной группы.

При этом относительная масса надпочечников превышает контрольные значения (на 12,00%). Скорее всего, это в значительной степени связано с тем, что многократно повторяющиеся гемодинамические сдвиги в рамках компенсаторных механизмов стимулируют утолщение сосудистых стенок и разрастание соединительной ткани, что увеличивает массу органа. Наряду с этим, состояние желез, аналогично 10-дневному эксперименту, характеризуется стереотипными для умеренной стресс-реакции морфофункциональными преобразованиями³⁷ на фоне стабильной реализации адаптационных механизмов и сохранения функциональных резервов эндокриноцитов. Это подтверждается увеличением в коре доли темных клеток (в сравнении с контролем, на 77,91%, $p < 0,05$) и умеренной синтетической и энергопродуцирующей активностью ядер и органелл адренокортикоцитов. В цитоплазме спонгиоцитов содержание рибосом и полисом увеличивается, возрастает число тубулярных крист в митохондриях, появляются крупные и сливные липидные капли. При этом число контактов между липосомами, митохондриями и канальцами ЭПС уменьшается. Однако, следует отметить, что стабилизация функциональной активности эпителиальной ткани надпочечников протекает на фоне сохраняющихся дистрофических изменений корковых и мозговых эндокриноцитов, поддерживаемых хронической гипоксией органа³⁷.

На наш взгляд, выявленные изменения следует расценивать как проявление устойчивой адаптации адреналовой системы организма молодых крыс к многократному воздействию гравитационных перегрузок.

При этом умеренную реакцию на увеличение кратности воздействия перегрузок проявляет и тимус. В отличие от крыс ювенильного возраста, структурно-функциональная перестройка органа характеризует развитие устойчивой адаптации к действию гипергравитационного стресса. Так,

³⁷ Кириллов О.И. Стрессовая гипертрофия надпочечников : автореф. дис. на соиск. научн. степени докт. мед. наук : спец. 14.00.18 «Гистология, цитология, эмбриология» / О. И. Кириллов. – Институт биологии моря Дальневосточного отделения Российской Академии наук. – Владивосток, 1996. – 43 с.

статистически достоверных изменений, относительно контрольных данных, в изменении показателей массы органа не происходит.

Существенно не изменяется, в сравнении с 10-кратным воздействием, и архитектура тимуса ($K/M = 1,89$). Несмотря на наличие нарушений микроциркуляторного русла (полнокровие, умеренный отек, увеличение количества тучных клеток, находящихся на разных стадиях дегрануляции, утолщение сосудистых стенок) и деструктивные изменения клеток лимфоидной ткани, характер распределения клеточных элементов, в целом, аналогичны изменениям в тимусе крыс при 10-кратном воздействии гравитационных перегрузок.

С точки зрения характеристики пролиферации, дифференцировки и миграции иммунокомпетентных клеток в тимусе показательными являются изменения экспрессии рецепторов лектинов. Так, в поверхностной коре за счет редукции на поверхности клеток гликополимеров с β -D-галактозой и снижения количества сиалоконъюгатов адгезивные и миграционные способности лимфоцитов резко уменьшаются, а способность образовывать упорядоченные структуры с микроокружением, обусловленная высокой экспрессией N-ацетил-D-галактозаминоконъюгатов – увеличивается. В кортико-медуллярной зоне адгезивные свойства лимфоцитов, наоборот, резко возрастают (высокая экспрессия рецепторов PNA). Эти данные, на наш взгляд, свидетельствуют о тенденции к сохранению клеточной популяции в тимусе, с максимальным стимулированием пролиферации клеток-предшественников и их дальнейшей дифференцировки.

Такое сохранение регенерационного потенциала лимфоидной ткани тимуса на фоне инволютивных процессов, индуцированных гипергравитационным стрессом, на наш взгляд, свидетельствует о достаточной реализации адаптационно-компенсаторных механизмов. Учитывая достаточно высокую кратность воздействия гипергравитации (30 раз) и, как следствие, выраженное прямое повреждающее действие на систему гемомикроциркуляции и клеточные элементы на фоне стресс-индуцированной активации коры надпочечников, достаточно умеренные и сбалансированные изменения структурных компонентов тимуса и функциональных характеристик его клеточных элементов, по нашему мнению, можно рассматривать, как проявление устойчивой адаптационной реакции.

Достаточно высокий уровень иммунологического надзора в организме крыс подтверждается повышением в лейкограмме крыс содержания лимфоцитов (на 25,74%, $p < 0,05$).

Таким образом, анализируя изменения в надпочечных железах и тимусе крыс молодого возраста, подвергавшихся 30-кратному воздействию гипергравитации, можно сделать вывод о наличии более умеренной и адекватной реакции на стрессорное воздействие. Несмотря на схожие структурно-функциональные изменения в исследуемых органах экспериментальных крыс ювенильного и молодого возраста, более сглаженные преобразования у последних обусловлены, на наш взгляд, более высоким потенциалом развития адаптационных реакций и снижением реактивности организма в целом.

В отличие от животных двух предыдущих возрастных групп, у экспериментальных крыс зрелого возраста, подвергавшихся 30-кратному воздействию гипергравитации, наблюдали более выраженные изменения.

При сохранении тенденции отклонений общих показателей резистентности организма наблюдается реактивная активация надпочечных желез, проявляющаяся в увеличении относительной массы органа (на 15,01%) и возрастании популяции активно функционирующих светлых клеток (на 43,19%, $p < 0,05$), что превышает аналогичное отклонение от контроля в 10-дневном опыте. Подобные признаки увеличения функциональной активности коры надпочечных желез наблюдали на фоне стихания гемомикроциркуляторных нарушений, проявляющихся уменьшением отека и утолщением стенки сосудов.

В целом, структурно-функциональные преобразования в паренхиме надпочечных желез характеризуются признаками репаративной регенерации, свидетельствующей о формировании стойкой адаптации органа к стрессорному фактору и сохранении его эндокринной функции.

Структурно-функциональная перестройка тимуса на этом фоне, характеризуется частичным разбалансированием системы взаимной регуляции эндокринной и иммунной систем, с развитием неадекватных адаптационно-компенсаторных реакций. Так, наблюдали снижение абсолютной и относительной масса органа (в сравнении с контролем, на 15,75%, $p < 0,05$ и 12,17%, $p < 0,05$, соответственно), уменьшение относительной площади коркового вещества (на 11,99%, $p < 0,05$) на фоне снижения кортико-медуллярного индекса до 1,17, уменьшение процента малых форм лимфоцитов, а также снижение пролиферативной активности клеток, что свидетельствует о выраженных нарушениях процессов лимфоцитопоэза. Характерна также и разбалансировка системы адгезия-миграция лимфоцитов, что связано с изменениями в распределении гликополимеров, как на их цитоплазматической мембране, так и в составе внутрицитоплазматических включений. При

этом микроциркуляторные нарушения на фоне гипертрофии эндотелия и разрастания в сосудистых стенках соединительной ткани усугубляют гипоксическое состояние паренхимы, что, в свою очередь, потенцирует дегенеративные процессы, затрагивающие, как лимфоцитарный, так и эпителиальный компоненты лимфоидной ткани.

Таким образом, в отличие от экспериментальных животных ювенильного и молодого возраста, у крыс зрелого возрастного периода структурные и функциональные изменения в тимусе демонстрируют некоторую недостаточность реализации адаптационных механизмов, либо их истощение. Данный характер изменений, вероятно, обусловлен, как и в случае 10-кратного воздействия у крыс данной возрастной группы, наложением возрастной и акцидентальной инволюции, а также снижением общей резистентности организма. Подобное сочетание деструктивных изменений на фоне обеднения клеточной популяции центрального органа иммуногенеза неизбежно приведет к нарушению клеточного иммунологического надзора. Такие преобразования характерны для хронического стресса.

Некоторое ослабление защитных функций организма, связанное с расстройством лейкопоза в лимфоидном органе подтверждают и изменения лейкоцитарного профиля крови: развивается умеренная нейтрофилия с ядерным сдвигом влево, а относительное содержание лимфоцитов, в сравнении с контролем снижается на 14,61%, $p < 0,05$.

В целом, характер изменений в надпочечных железах и тимусе экспериментальных крыс зрелого возраста при 30-кратном воздействии перегрузок свидетельствует о развитии реакции хронического стресса с частичным истощением адаптационных резервов, наслаивающейся на возрастные инволютивные преобразования. Увеличение кратности воздействия неблагоприятного экзогенного фактора в дальнейшем может привести к разбалансировке взаимодействия регуляторных систем и снижению резистентности организма.

Заключение. Подводя итог вышесказанному, можно заключить, что систематическое воздействие гравитационных перегрузок вызывает значительные изменения в структурной и функциональной организации надпочечных желез и тимуса крыс, изменяя при этом состояние и баланс взаимодействия эндокринной и иммунной систем организма.

В основе таких изменений лежат:

- стресс-индуцированная активация коркового вещества надпочечников, потенцирующая акцидентальную инволюцию тимуса;

- гемодинамические нарушения на уровне микроциркуляторного русла, приводящие к гипоксии и альтерации клеточных элементов;
- реализация адаптационно-компенсаторных реакций, которые могут проявляться в адекватной или недостаточной степени.

Причем, динамика морфофункциональных преобразований в изученных органах обусловлена корреляцией и степенью выраженности указанных процессов, что зависит от кратности воздействия гравитационных перегрузок и возраста животных.

Так, выявленные структурно-функциональные изменения надпочечных желез и тимуса крыс, подвергавшихся 10-кратному воздействию гипергравитации, независимо от возраста носят выраженный стрессовый характер. Реактивные изменения характеризуются, прежде всего, признаками высокой функциональной активности коры надпочечников, что является ключевым пусковым фактором стрессового ответа на раздражитель. При этом сохраняется тесная функциональная взаимосвязь между надпочечными железами и тимусом, отражающаяся в реализации функциональной адаптации системы клеточного иммунитета. Развивающиеся адаптационно-компенсаторные реакции в органах являются адекватными и обеспечивают сохранность иммунного статуса организма.

Увеличение кратности гипергравитационного воздействия до 30 сеансов, в целом, приводит к истощению функциональных резервов организма и, как следствие, снижению реактивности ответа на раздражитель. Однако переход функциональной адаптации к трофо-пластической при сохранении взаимосвязи эндокринных и иммунных органов приводит к формированию устойчивой адаптационной системы, способной адекватно противостоять достаточно многократно повторяющемуся воздействию экстремального фактора. Вместе с тем, у экспериментальных крыс зрелого возраста морфофункциональное состояние изученных органов отражает неустойчивость адаптационного ответа, обусловленную сочетанием неблагоприятного действия перегрузок и возрастных инволютивных изменений, способствующих развитию хронического стресса. При этом, в отличие от крыс ювенильного и молодого возраста, появляется определенная неадекватность адаптационных реакций уровню повреждающего фактора.

Глава 3. Экспериментальные аспекты морфиновой наркомании

Общие аспекты влияния морфина организм

Морфин, попадая в организм в токсических дозах, оказывает влияние на многие органы и ткани³⁸. В одних клетках он связывается со специфическими рецепторами, в других превращается в более активные метаболиты, а третьи подвергаются воздействию изменений гормонального статуса. Таким образом, неблагоприятное влияние наркотика может реализовываться на уровне рецептора, опосредоваться продуктами его метаболизма или являться результатом центрального действия, т. е. избыточного образования и секреции биологически активных веществ, например катехоламинов. Чаще всего картина соматического поражения на фоне приема морфина представляет собой сочетание всех возможных путей его влияния на организм, а преобладание одного из них определяется длительностью наркотизации, особенностями химической природы и метаболизма, а также способностью клеток «органа-мишени» к адаптации³⁹.

Введение наркотика в организм приводит к многочисленным последствиям, включая нейротоксичность и нейронную дисфункцию, печеночную и почечную патологию, окислительный стресс и апоптоз⁴⁰. Это объясняет тот факт, что большинство исследований, посвященных действию морфина на организм, связано с определением эффектов, вызванных его хроническим введением. Однако уже однократное поступление наркотика в организм сопровождается многочисленными метаболическими нарушениями в разных органах и тканях и требует детального изучения.

Ранее считалось, что морфин сам по себе малотоксичен, а соматическая патология, развивающаяся при его употреблении, связана с введением кустарных препаратов, в состав которых входят различные токсикогенные примеси. Сравнительно недавно установили возможность

³⁸ Гулый Н. М. Влияние хронической морфиновой интоксикации на состав эссенциальных липидов мозга // Журнал Академии мед. наук Украины. – 2001. – Т. 7, № 4. – С. 741–749.

³⁹ Богомолов Д. В. Судебно-медицинская диагностика наркотической интоксикации по морфологическим данным : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.45 – М., 2001. – 32 с.

⁴⁰ Skrabalova J. Morphine as a Potential Oxidative Stress-Causing Agent // Mini Rev. Org. Chem. – 2013. – Vol. 10, № 4. – P. 367–372.

синтеза морфина в организме млекопитающих, что ставит вопрос о роли этого вещества как естественного медиатора нервной передачи, опосредованной опиоидными рецепторами. Изучение фармакодинамики морфина показало, что он примерно одинаково распределяется в разных органах, причем в тех тканях, где наркотик активно метаболизируется (печень, почки), концентрация связанных форм на несколько порядков превышает уровни свободного морфина. Через 4 часа после инъекции в дозе 30 мг/кг в большинстве органов выявляют свободный морфин в концентрациях от 6 до 12 мкг/г, а в желчи содержание связанных форм достигает 7 мг/мл.

Печень является одним из центральных органов метаболизма морфина в организме, а признаки ее поражения наблюдаются в первые часы после введения наркотика лабораторным животным. Уже однократное введение морфина вызывает окислительное повреждение и клеточный апоптоз в ткани печени. При внутрибрюшинной инъекции крысам 50 мг/кг морфина активность аминотрансфераз в сыворотке крови через час возрастала в 4 раза.

Морфин способен взаимопревращаться в реакциях О-метилирования-деметилирования⁴¹, а в катализируемой морфин-6-дегидрогеназной реакции он окисляется до морфинона⁴².

Ряд данных свидетельствуют в пользу центральных механизмов ожирения печени под действием морфина⁴³. Во-первых, введение морфина в желудочки мозга в дозах от 20 до 100 мг/кг через 16 часов приводили к 1-, 4-, и 6-кратному возрастанию активности аланинаминотрансферазы в сыворотке. Во-вторых, повышение уровней аминотрансфераз полностью блокировалось гипофизэктомией. Таким образом, повреждающие эффекты морфина на печень могут быть опосредованы его активирующим действием на гипофизарно-адреналовую секрецию. В ткани печени потенцирование токсических свойств морфина при его однократном введении происходит в результате окисления цитохромом Р-450 в микросомах и морфин-6-дегидрогеназой в цитозоле. Продукты микросомальной активации

⁴¹ Holthe M. Morphine glucuronide-to-morphine plasma ratios are unaffected by the UGT2B7 H268Y and UGT1A1 28 polymorphisms in cancer patients on chronic morphine therapy // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 58. – P. 353–356.

⁴² Ulens C. Morphine-6beta-glucuronide and morphine-3-glucuronide, opioid receptor agonists with different potencies // *Biochem. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 62, № 9. – P. 1273–1282.

⁴³ Гулый М. Ф. Особенности метаболических нарушений в печени при морфиновой интоксикации различной длительности // *Вопросы мед. химии.* – 1992. – Т. 38, № 3. – С. 48–50.

наркотика пока не идентифицированы. Имеются данные, что индуктор цитохрома Р-450 – фенobarбитал – способствует более заметной утечке аминотрансфераз из клеток печени в кровь, а ковалентное связывание дигидроморфина с белками зависит от концентрации O_2 и НАДФ·Н.

Анализ литературных данных по разным аспектам острых отравлений опиатами, в частности морфином, показывает, что последний обладает иммунотоксическим действием на печень, причем большим, чем у других опийных алкалоидов. Уже при его однократном введении резко падает активность естественных киллеров в данном органе, а также функциональная активность Т-лимфоцитов.

Ишемизация поперечно-полосатой мускулатуры, развивающаяся при острой морфиновой интоксикации, приводит к рабдомиолизу в миокарде и скелетных мышцах, что проявляется болью, парестезиями, расстройствами чувствительности, судорогами, а также парезами и параличами.

Описаны случаи поражения скелетных мышц при однократном введении морфина, при которых развивалось нарушение сознания и легочной вентиляции, острый некроз мышечных волокон с высокой плазменной активностью креатинкиназы и опасная для жизни гиперкалиемия. Острая ишемия и денервация в мышечной ткани может служить непосредственной причиной смерти вследствие остановки дыхания или сердечной недостаточности⁴⁴. При гистологическом исследовании скелетной мускулатуры после однократного введения морфина отмечались признаки острого воспаления и некроза⁴⁵. Клинико-анатомический анализ, судебно-химические, морфологические, бактериологические и иммунологические исследования секционного материала, умерших от острого отравления морфином, выявляли типичные для наркотического отравления изменения внутренних органов, в том числе дистрофические нарушения в скелетной мускулатуре.

Данных о влиянии острой морфиновой интоксикации на метаболизм глюкозы в печени и мышечной ткани и его гормональной регуляции крайне недостаточно. Так известно о стимуляции секреции гормонов щитовидной железы при однократном введении морфина, о чем свидетельствовало

⁴⁴ Шигеев, С. В. Судебно-медицинская диагностика смертельных отравлений препаратами опия (комплексное морфологическое, лабораторное и медико-статистическое исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00. 45 – М., 2002. – 24 с.

⁴⁵ Retz, K. Steele M. Mechanism of inhibition of protein synthesis by morphine in rat brain and liver / K. Retz, M. Steele // J. Mol. Pharmacol. – 1982. – Vol. 22, № 3. – P. 706–714.

наличие зон резорбции во многих фолликулах, обилие секреторных гранул в апикальной части тироцитов, увеличение цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума. Выявлено угнетение гликолиза в печени при введении морфина в дозе 30 мг/кг. Все это указывает на явный дефицит данных о влиянии острой морфиновой интоксикации на углеводный обмен в тканях и, безусловно, требует более детального изучения.

Хроническая морфиновая интоксикация относится к болезням патологической зависимости (БПЗ). Они возникают при длительном злоупотреблении психоактивными веществами. К ним, помимо морфина, также относятся этанол и другие химические вещества, которые оказывают стимулирующее, седативное, снотворное и галлюциногенное действие на ЦНС. Для БПЗ характерно изменение толерантности к эффектам действующего вещества и формирование патологической зависимости от ПАВ. Индивидуальная чувствительность и реакция на морфин проявляется разной степенью риска формирования синдрома зависимости, наличием или отсутствием выраженной эйфории, различной врожденной толерантностью и нетипичными реакциями. Среди этих факторов необходимо выделить образование в печени метаболитических форм морфина, обладающих выраженной токсичностью, повреждающее воздействие наркотика на мембраны клеток мозга, торможение синтеза РНК и белков в ЦНС, а также изменение функциональной активности нейромедиаторных систем головного мозга.

Признаки поражения печени при хронической морфиновой интоксикации описаны достаточно давно. Выявленные при этом изменения проявлялись в виде атрофии, центрального ожирения и цирроза. Хорошо известно, что печень является органом, в котором в основном происходит метаболизм ксенобиотиков, в частности морфина, поэтому именно здесь при длительном поступлении они накапливаются в высоких концентрациях, образуя токсичные метаболиты⁴⁶. В этой связи печень становится главной мишенью для проявления токсичности наркотических препаратов при их длительном введении в организм.

Ряд исследователей пытались интерпретировать атрофию гепатоцитов и круглоклеточную инфильтрацию портальных трактов, характерные для повреждения печени при хронической морфиновой интоксикации, как лекарственную гепатопатию. Это, в частности, объясняется тем фактом, что при исследовании ткани печени на фоне длительного введения наркотика в

⁴⁶ Борискин И. В. Поражение печени у наркоманов // Мед. новости. – 2002. – № 11. – С. 72–74.

организм в ней обнаруживаются снижение активности ряда ферментов и другие биохимические нарушения. Доказано, что опиаты являются ингибиторами альдегидоксидазы, а конкретно морфин вызывает снижение концентрации глутатиона в печени, способствуя ее повреждению.

Считается, что одним из определяющих механизмов гепатотоксичности морфина является развитие окислительного стресса⁴⁷. Так, при его хроническом введении возникает нарушение свободнорадикального гомеостаза печени, которое приводит к цитолизу гепатоцитов, проявлением которого является увеличение активности аминотрансфераз в сыворотке крови. Развитие окислительного стресса в печени при хронической морфиновой интоксикации связывают со снижением содержания низкомолекулярных антиоксидантов (глутатион, витамин Е), накоплением свободнорадикальных метаболитов наркотика и продуктов перекисного окисления липидов. Особое внимание при этом привлекает оксид азота (NO), являющийся свободнорадикальной молекулой с широким спектром функций в печени в норме и при патологии. Свободные радикалы способны выступать в качестве вторичных посредников при проведении внутриклеточного сигнала и таким образом участвуют в экспрессии генов в клетках иммунной системы.

Имеются данные как экспериментальных, так и клинических исследований, свидетельствующие о развитии вторичного иммунодефицитного состояния при хронической морфиновой интоксикации.

Таким образом, одним из преобладающих вариантов поражения печени при хронической морфиновой интоксикации является лекарственный (токсический) гепатит. Морфологическими изменениями, характерными для данной патологии, выступают жировая дистрофия гепатоцитов, центролобулярные очаги некроза, наличие липофусцина в гепатоцитах, неспецифических гранул, отсутствие выраженного склероза, а также поражение междольковых желчных протоков с дистрофией⁴⁸. Токсическое действие морфина на печень проявляется главным образом на внутриклеточном уровне в виде гиперплазии эндоплазматического ретикулума, повышения объемной плотности митохондрий и их размеров. Имеются данные о том, что при гепатите на фоне хронической морфиновой интоксикации часто

⁴⁷ Yagura M. Changes of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients with no response to interferon-alpha therapy: including quantitative assessment by a morphometric method // J. Gastroenterol. – 2000. – Vol. 35, № 2. – P. 105–111.

⁴⁸ Ильюченко Л. Ю. Течение хронических гепатитов у наркоманов в период ремиссии // Наркология. – 2003. – № 9. – С. 38–41.

наблюдается значительная примесь эозинофилов и макрофагов в инфильтратах.

Выявлено, что выраженность метаболических нарушений в печени при хронической интоксикации наркотиками опийной группы достоверно коррелирует с длительностью их введения в организм. Обнаруженная при этом вакуолизация гепатоцитов, стеатоз, хронический гепатит и цирроз считаются прямым следствием злоупотребления опиатами. Частым морфологическим изменением в печени при хронической морфиновой интоксикации является белковая дистрофия, реже это состояние сопровождается гидрорической и жировой дистрофией. Характерный признак поражения печени при длительном введении морфина – лейкоцитарная инфильтрация портальных трактов с преобладанием лимфоцитов и наличием макрофагов⁴⁹.

Поражения мышечной ткани среди висцеральных осложнений при хронической морфиновой интоксикации занимают второе, после заболеваний печени, место. Наиболее частыми проявлениями при этом являются прямое кардиотоксическое действие наркотика, проявляющееся признаками вегетативной дисфункции, а также рабдомиолиз миокарда и инфекционное поражение сердца.

Патология сердечно-сосудистой системы при хронической морфиновой интоксикации может проявляться в форме поражения коронарных сосудов и эндокардита, а при морфологическом исследовании при этом обнаруживаются очаговые нарушения, сформированные из мононуклеарных воспалительных клеток и нейтрофилов⁵⁰. При длительном употреблении опиатов развиваются дегенеративные и некротические изменения миокарда, а при их передозировке они сочетаются со случаями некроза скелетной мускулатуры.

В отличие от миокарда, данных о влиянии длительной морфиновой интоксикации на метаболические процессы в скелетной мускулатуре относительно немного. Данная ткань составляет достаточно большой процент от массы тела, что делает ее потенциально широко доступной для количественного анализа ксенобиотиков. Результаты ряда исследований показали, что скелетная мускулатура является достаточно чувствительной матрицей для обнаружения морфина. Однако при этом отсутствует корреляция с

⁴⁹ Van der Lee R. Morphine-induced muscle rigidity in a term neonate // Ann. Pharmacother. – 2009. – Vol. 43, № 10. – P. 1724–1726.

⁵⁰ Вельтер О. Ю. Инфекционный эндокардит у инъекционных наркоманов // Антибиотики и химиотерапия. – 2001. – Т. 46, № 11. – С. 39–44.

концентрацией наркотика в крови. Согласно другим данным, морфин нарушает метаболизм в мышечной стенке тонкого кишечника у мышей.

Степень нарушений углеводного обмена при действии опиатов зависит от длительности их приема и дозы. Нарушения режима питания, а также эндокринные расстройства при хронической морфиновой интоксикации вполне оправдывают интерес к изучению эффектов длительного приема морфина на углеводный обмен. При оценке данных о его хроническом воздействии на обмен углеводов, помимо сугубо метаболических эффектов, необходимо учитывать ряд дополнительных факторов. Это непосредственное действие морфина на разные органы и ткани, повреждение печени, а также сопутствующая астенизация⁵¹. Имеются отдельные разобщенные данные о влиянии морфина и других опиатов на функционирование гликолиза. Отмечается угнетение некоторых ферментов данного метаболического пути и окислительных процессов в печени при 6-дневном введении морфина. Нарушения обмена глюкозы у лиц, злоупотребляющих героином и метадонем, схожи с таковыми при инсулинзависимом сахарном диабете.

Вместе с тем практически отсутствуют полноценные данные о нарушениях энергопроизводящих процессов в печени и скелетной мускулатуре при длительном введении морфина в организм, что обуславливает особый интерес к рассматриваемой проблеме и актуальность работы.

В экспериментальных условиях тяжесть морфинового абстинентного синдрома оценивают по ряду поведенческих и физиологических нарушений у животных, возникающих через определенные интервалы времени после отмены наркотика или введения антагониста опиоидных рецепторов⁵². К данным нарушениям относят тремор конечностей, диарею и птоз, ринорею, гиперсаливацию, прыжковую активность, отряхивание тела (симптом «отряхивания мокрой собаки») и др⁵³. Одни из этих признаков оценивают количественно, другие регистрируют в альтернативной форме. Для АС при морфиновой интоксикации характерны изменения активности ряда ферментов трансдукторных систем, а также нарушения содержания вторичных

⁵¹ Лучшев В. И. Особенности клиники и патогенеза парентеральных гепатитов и их лечение у героиновых наркоманов // Наркология. – 2003. – № 3. – С. 32–36.

⁵² A. Ceriello [et al.] Impaired glucose metabolism in heroin and methadone users // Hormone and Metab. Res. – 1987. – Vol. 19, № 9. – P. 430–433.

⁵³ Панченко Л. Ф. Влияние синдрома отмены морфина на систему оксида азота в печени и тимусе крыс // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50, вып. 5. – С. 460–470.

мессенджеров⁵⁴. Симптомы морфинового абстинентного синдрома коррелируют с дозой и длительностью введения наркотика, а также количеством антагониста, вызвавшего его. В данном случае речь идет о доминантных симптомах (например прыжковая активность). Для рецессивных симптомов («симптом отряхивания мокрой собаки») такая взаимосвязь не отмечена.

Несмотря на наличие достаточно большого количества клинических данных, касающихся изучения абстинентного синдрома при морфиновой интоксикации, решение именно методологических вопросов экспериментальной наркологии позволит сформулировать и раскрыть основные аспекты патогенеза данного состояния. Причем это касается не только роли опиоидергической и сопряженных с ней нейромедиаторных систем ЦНС, а также метаболических нарушений в периферических органах и тканях. Гепатотоксичность и формирование признаков иммуннодефицитного состояния являются наиболее характерными проявлениями для морфинового абстинентного синдрома. Согласно приведенным данным в ряде исследований, при синдроме отмены морфина в таких органах как печень, мозг, а также мышцы, развивается окислительный стресс. В печеночной ткани при этом наблюдается накопление продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, происходит снижение содержания глутатиона, а также истощение компонентов антиоксидантной защиты, в частности β -каротина и аскорбиновой кислоты. Морфиновый абстинентный синдром сопровождается специфическими нарушениями поведения у крыс, инволюцией тимуса, нарушениями свободнорадикального гомеостаза, признаками цитолиза гепатоцитов, а также изменениями состояния нитрергической системы в печени, головном мозге и тимусе.

Влияние острой морфиновой интоксикации на метаболизм глюкозы в печени и мышцах

Печень

Нами было изучено влияние острой морфиновой интоксикации на метаболизм глюкозы в печени. Введение морфина в дозе 10 мг/кг приводило к активации гексокиназной реакции в печени экспериментальных животных на 55% ($p < 0,01$), что в определенной степени свидетельствует о повышении поточной скорости гликолиза на фоне острой морфиновой интоксикации в

⁵⁴ Мазурчик Н. В. Естественная динамика аминотрансфераз в начальные сроки героиновой абстиненции // Клин. фармакол. и терапия. – 2002. – Т. 11, № 1. – С. 59–61.

дозе 10 мг/кг. Выявленные изменения могут быть обусловлены повышением содержания глюкозы в ткани печени у животных этой группы на 21 % ($p < 0,05$) в сравнении с контролем. Данный эффект морфина, возможно, является следствием либо активизации распада гликогена в печени, либо повышением доставки сюда глюкозы по кровеносной системе. Последнее предположение подтверждается статистически значимым увеличением содержания данного субстрата в крови на фоне введения наркотика в дозе 10 мг/кг. Возможной причиной гипергликемии у крыс 2-й группы является изменение тиреоидного статуса. При острой морфиновой интоксикации (10 мг/кг) содержание тироксина в сыворотке крови резко возрастало, увеличиваясь в 2,6 раза в сравнении с контролем.

Увеличение количества вводимого морфина до 20 мг/кг приводило к нормализации активности гексокиназы в ткани печени. Скорость ГК при этом снижалась и в сравнении с особями 2-й группы на 17 % ($p > 0,05$). Содержание глюкозы в печени в данных экспериментальных условиях статистически значимо падало на 40% в сравнении с контролем. Умеренная морфиновая интоксикация (20 мг/кг), как и в случае введения вдвое меньшей дозы наркотика, сопровождалась существенными изменениями функционального статуса щитовидной железы. Об этом свидетельствовало существенное увеличение содержания тироксина в сыворотке крови (в 2,9 раза по сравнению с контролем).

При введении морфина в дозе 40 мг/кг содержание глюкозы в печени снижалось в сравнении с контролем на 27 % ($p < 0,05$). Эти сдвиги отмечались на фоне изменения функциональной активности щитовидной железы, которая проявлялась и при меньшей дозе наркотика. Уровень тироксина при введении большой дозы морфина превышал контрольные значения.

Результаты пошагового дискриминантного анализа показывают отсутствие дозозависимого эффекта однократно вводимого морфина, в отличие от острой алкогольной интоксикации, на функционирование гликолиза в печени (рисунок 3.1).

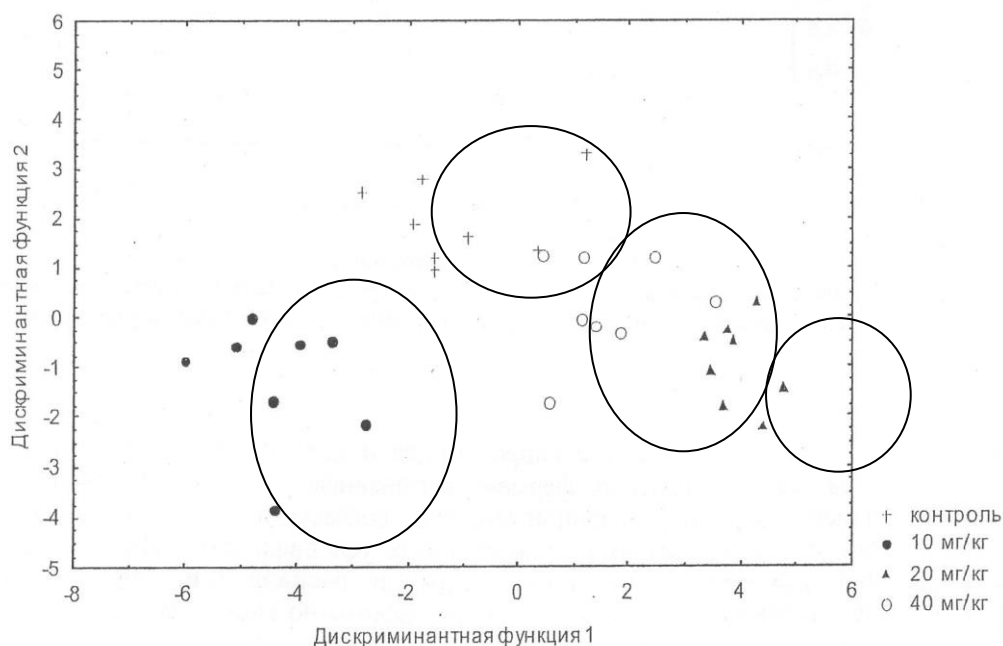


Рисунок 3.1. Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей гликолиза в печени крыс на плоскости двух главных компонент при острой морфиновой интоксикации

В ходе его реализации были получены следующие наиболее информативные показатели: глюкоза, пируват, ГЛК, ЛДГ, ГК и Г-6-Ф. Модель является статистически значимой ($F=10,62$; $p<0,0001$), так же как и дискриминантные функции ($\chi^2\text{-квадрат}_1=100,41$; $p<0,0001$; $\chi^2\text{-квадрат}_2=36$; $p<0,0001$). Коэффициент канонической корреляции ($R_1=0,96$) указывает на сильную взаимосвязь между исследуемыми группами и 1-й дискриминантной функцией. Наибольший вклад в разделительную способность этой функции вносили переменные глюкоза и Г-6-Ф. Коэффициент канонической корреляции ($R_2=0,8$) указывает на зависимость средней степени между группами 1-4 по 2-й дискриминантной функции. В 64% случаев разброс переменных при этом происходил за счет показателей пируват, ЛДГ и ГК. На рисунке 1 по 1-й дискриминантной функции все экспериментальные группы достаточно хорошо различимы за счет переменных – глюкоза и Г-6-Ф, а по 2-й за счет показателей – пируват, ЛДГ и ГК. При этом не наблюдается перекрытия значений 1-й (контроль) и 2-й (10 мг/кг), а также 1-й и 3-й (20 мг/кг) групп. Положения групп 2, 3 и 4 при этом очень близки.

Морфин в дозе 10 мг/кг повышал активность Г-6-ФДГ и ТК, что согласовывается с активацией ряда ферментов гликолиза в данных экспериментальных условиях. Увеличение активности ферментов ПФП отмечалось на фоне гипергликемии и стабильного уровня глюкозы и Г-6-Ф в печени. Схожая картина по изменению активности ферментов ПФП и гликолиза отмечалась при введении морфина в дозе 20 мг/кг, когда они не отличались от контрольного уровня. На фоне введения большой дозы наркотика (40 мг/кг) происходило повышение активности Г-6-ФДГ.

Отсутствие однозначной направленности изменений показателей ПФП при введении морфина в различных дозах демонстрируют и результаты пошагового дискриминантного анализа, что отличает полученные результаты от аналогичных в экспериментальной модели острой алкогольной интоксикации (рисунок 3.2). При проведении данного метода статистической обработки получены следующие наиболее информативные показатели – ТК и Г-6-ФДГ. Построенная модель ($F=6,78$; $p<0,0001$), так же как способность двух дискриминантных функций различать классы, статистически значимы ($\chi^2\text{-квадрат}_1=31,43$; $p<0,0001$; $\chi^2\text{-квадрат}_2=9,79$; $p<0,0001$). Коэффициент канонической корреляции ($R_1=0,73$) указывает на сильную зависимость между исследуемыми группами и 1-й дискриминантной функцией. Наибольший вклад в разделительную способность данной функции вносила переменная ТК. Коэффициент канонической корреляции ($R_2=0,54$) указывает на зависимость средней степени между исследуемыми группами и 2-й дискриминантной функцией. В 29% случаев разброс групп по данной функции объяснялся изменчивостью показателя Г-6-ФДГ.

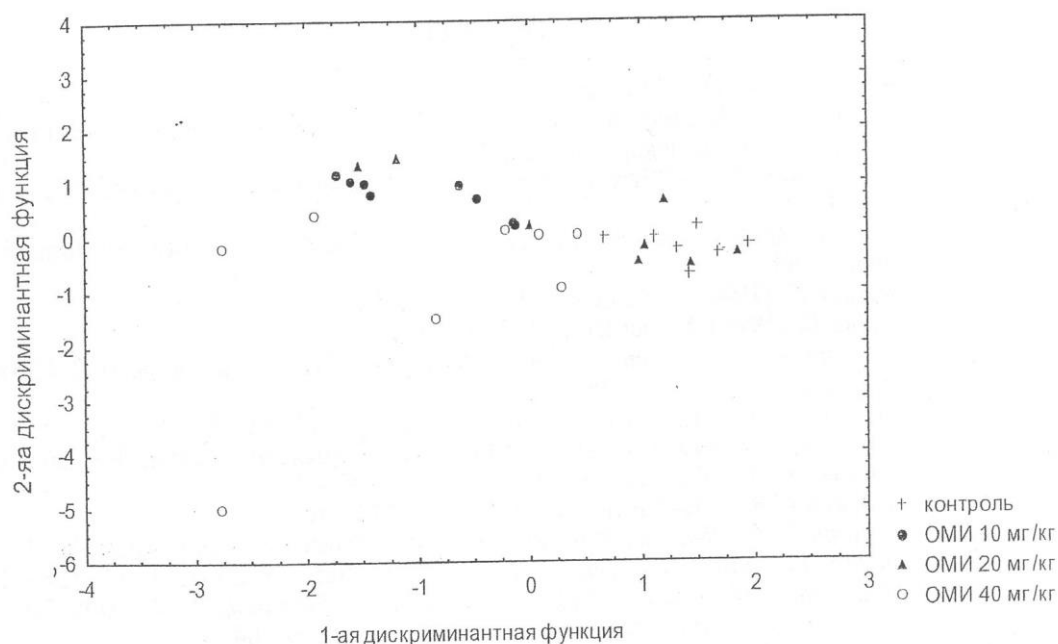


Рисунок 3.2. Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей ПФП в печени крыс на плоскости двух главных компонент при острой морфиновой интоксикации

Таким образом, морфин при однократном введении оказывает влияние на состояние гликолиза в печени. Определенный эффект проявляется уже при дозе 10 мг/кг и заключается в активации некоторых лимитирующих ферментов данного метаболического пути. Это, в известной степени, может быть обусловлено повышением содержания глюкозы в ткани печени при этом. Схожие изменения наблюдались при введении аналогичной дозы наркотика в отношении метаболизма нейроактивных аминокислот в коре больших полушарий головного мозга. Это, возможно, связано с превалированием при острой морфиновой интоксикации процессов возбуждения и формированием интоксикационного стресса, что подтверждается развитием гипергликемии в данных условиях. Определенный вклад в формирование вышеперечисленных метаболических изменений вносит гормональный дисбаланс, индуцируемый морфином. Минимальная экспериментальная доза наркотика повышала в крови уровень тироксина. Это нарушает нативные межгормональные взаимоотношения, что интегрально проявляется в конкретных регуляторных эффектах на определенные метаболические пути или отдельные ферменты. При увеличении дозы вводимого наркотика выраженность гормональных нарушений в щитовидной железе возрастала. Однако это не ассоциируется с нормализацией активности ключевых

ферментов гликолиза в печени в данных условиях. Следовательно, при действии высоких доз морфина функционируют другие регуляторные механизмы ферментов гликолиза, которые превалируют над эндокринными. Для показателей ПФП при острой морфиновой интоксикации не было выявлено однозначной направленности изменений.

Мышцы

Введение морфина в дозе 10 мг/кг приводило к статистически значимой активации ПК (на 37%) в мышечной ткани и повышению уровня пирувата в сравнении с контрольной группой. Как отмечалось ранее, у животных 2-й группы происходила активация ферментов гликолиза в печени при неизменной активности ПК. Таким образом, имеются тканевые различия в проявлении эффектов малой дозы морфина на гликолиз вообще и активность ПК в печени и скелетной мускулатуре, в частности. Данный факт может являться следствием ряда причин. Во-первых, морфин метаболизируется в основном в печени, где концентрация его связанных форм на несколько порядков превышает уровни свободного морфина. Главные конъюгаты наркотика – морфин-3-глюкуронид и морфин-6-глюкуронид, а также его метаболиты – норморфин и морфинон – могут оказывать свои регуляторные эффекты. Во-вторых, печень и мышечная ткань обладают индивидуальным изоферментным спектром ПК. Мышечный изофермент ПК ингибируется фенилаланином, и данный эффект устраняется внесением аланина и серина. В то же время показано, что морфин в дозе 10 мг/кг повышает содержание фенилаланина, снижая уровень аланина и серина, по крайней мере, в ткани головного мозга. Наконец хорошо известны тканевые особенности регуляции гликолиза в печени и мышечной ткани.

Увеличение дозы вводимого наркотика до 20 мг/кг сопровождалось повышением активности ПК и ЛДГ. Аналогичные эффекты на скорость изучаемых ферментов гликолиза у особей 3-й группы отмечались и в печени.

Введение морфина в дозе 40 мг/кг сопровождалось наиболее существенными изменениями гликолиза в мышечной ткани. При этом отмечалось статистически значимое повышение активностей ключевых ферментов данного метаболического пути, что свидетельствует об увеличении поточной скорости гликолиза в скелетной мускулатуре при выраженной морфиновой интоксикации.

При введении высокой дозы морфина экспериментальные животные не проявляли повышенной двигательной активности, поэтому активация ключевых ферментов гликолиза в данных условиях не направлена на

обеспечение функциональной деятельности мышечной ткани и может быть результатом действия определенных регуляторных метаболических механизмов.

Эффекты острой морфиновой интоксикации на функционирование ПФП в мышечной ткани отличались от таковых в сравнении с гликолизом. Введение морфина в дозе 10 и 20 мг/кг не изменяло активность ферментов окислительной и неокислительной стадий ПФП. На фоне выраженной морфиновой интоксикации (40 мг/кг) установлены разнонаправленные сдвиги в активности ферментов ПФП: активность Г-6-ФДГ статистически значимо снижалась, а у 6-ФГДГ отмечалась тенденция к снижению ($p > 0,05$). Снижение активности Г-6-ФДГ у экспериментальных особей 4-й группы на фоне активизации ферментов гликолиза можно рассматривать как компенсаторные сдвиги различных путей метаболизма Г-6-Ф.

Разнонаправленные изменения активности ферментов окислительной и неокислительной стадий ПФП обусловлены, очевидно, индивидуальными механизмами их регуляции.

Для интерпретации межгрупповых различий исследованных показателей гликолиза при острой морфиновой интоксикации были построены дискриминантные функции, являющиеся линейной комбинацией дискриминантных переменных (рисунок 3.3). Для подтверждения статистической значимости дискриминантных функций использован статистический критерий лямбда Уилкса. Чем меньше этот показатель, тем значимее соответствующая дискриминантная функция. Близкое к нулю значение лямбды Уилкса свидетельствует о хорошей дискриминации построенных функций. Между исследуемыми группами и дискриминантными функциями существовала сильная корреляционная связь, на что указывали коэффициенты канонической корреляции $R_1=0,99$ и $R_2=0,96$. По второй дискриминантной функции все четыре экспериментальные группы были хорошо различимы за счет переменных лактат и ГК, вносящих значительный вклад в разделительные способности данной функции. Группы образовывали отдельные множества, их центроиды находились далеко друг от друга. По 3-й дискриминантной функции группы отчетливо различимы за счет изменения показателя ПК. Центроиды экспериментальных групп 3 и 4 располагались недалеко друг от друга, но пересечения их объектов при этом не происходило.

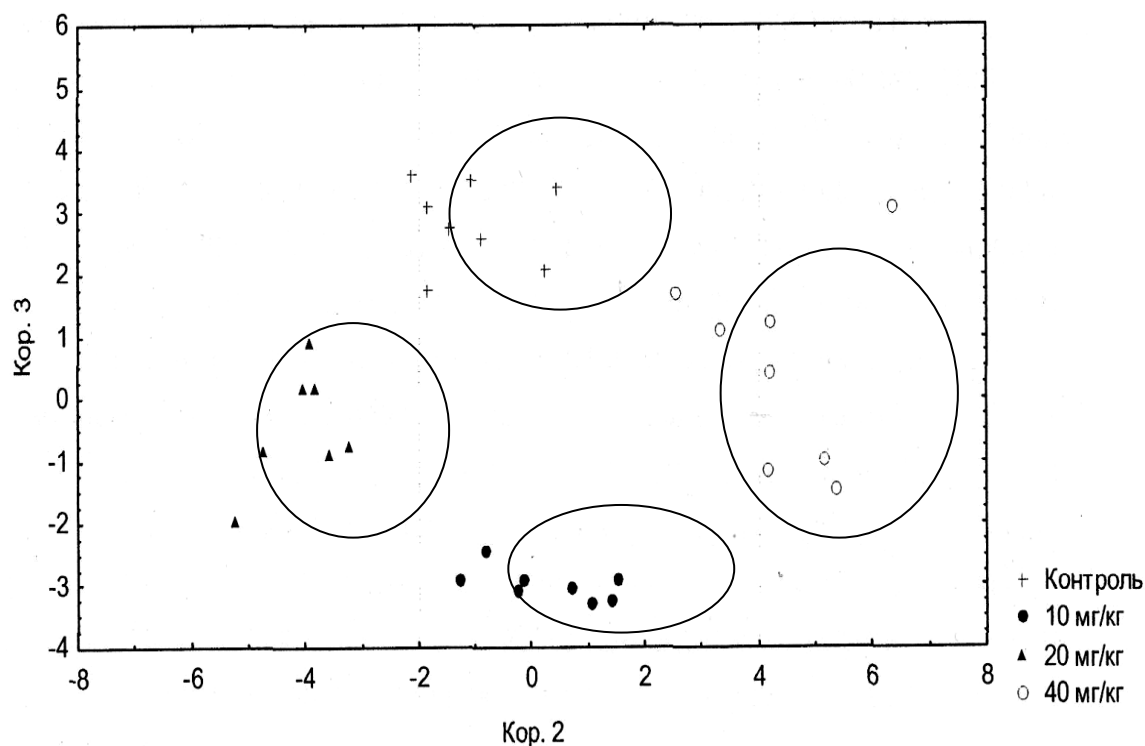


Рисунок 3.3. Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей гликолиза в скелетной мускулатуре крыс на плоскости двух главных компонент при острой морфиновой интоксикации

При проведении пошагового дискриминантного анализа показателей ПФП на фоне однократного введения морфина способность дискриминантных функций различать классы, так же как и построенная математическая модель являлись статистически значимыми ($F=35,82$; $p<0,00$) (рисунок 3.4). Коэффициент канонической корреляции ($R_1=0,97$) указывает на сильную зависимость между исследуемыми группами и первой дискриминантной функцией. В 94% случаев вариации в экспериментальных группах были обусловлены показателями Г-6-ФДГ и ТК. Коэффициент канонической корреляции ($R_2=0,88$) отражает зависимость сильной степени между экспериментальными группами и второй дискриминантной функцией. В 77% случаев разброс групп по второй функции объяснялся за счет изменчивости показателей Г-6-ФДГ и ТК.

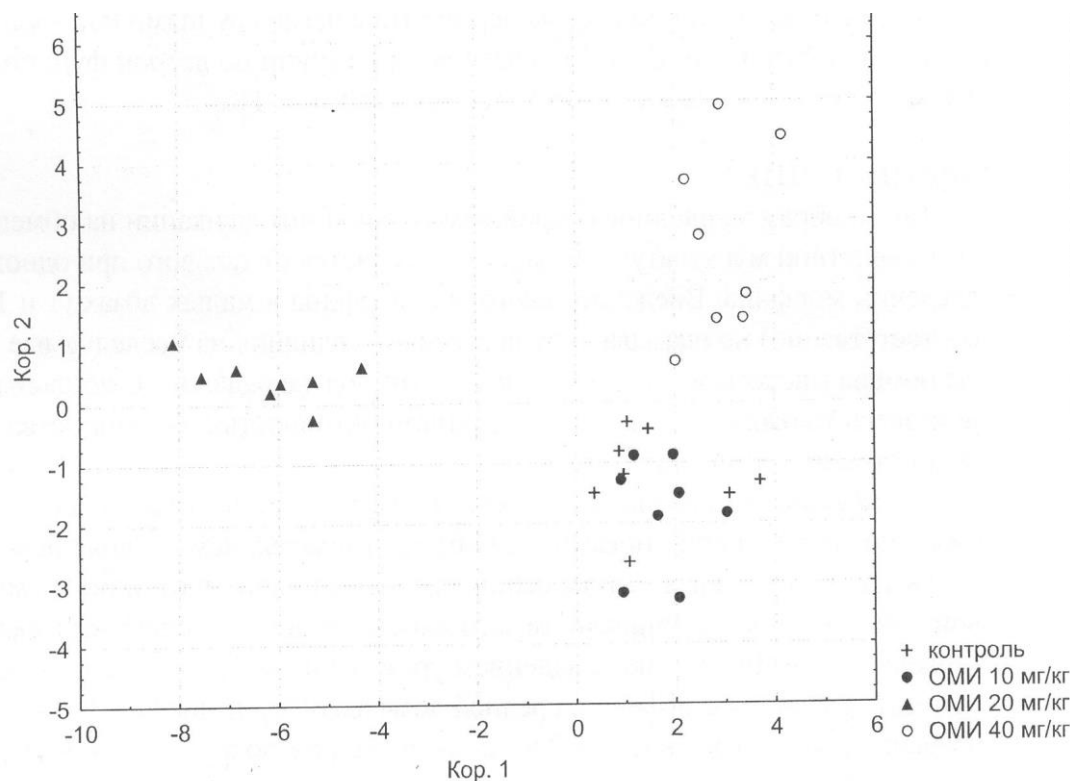


Рисунок 3.4. Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей ПФП в скелетной мускулатуре крыс на плоскости двух главных компонент при острой морфиновой интоксикации

Эффекты хронической морфиновой интоксикации на метаболизм глюкозы в печени и мышечной ткани

Печень

Длительное употребление препаратов опийной группы сопровождается поражением многих внутренних органов, в особенности печени, которая является при этом главным «органом-мишенью». У многих пациентов, потребляющих опийные препараты, обнаруживаются поражения печени различной выраженности. В частности, наблюдаются изменения активности аминотрансфераз в сыворотке, показателей тимоловой пробы, а также концентрации билирубина. Смертность пациентов, страдающих наркоманией, от соматических заболеваний, в том числе от болезней печени, занимает наибольшую долю и достигает 32%. Формирование наркомании как болезненного состояния представляет собой процесс, который включает проявление специфических симптомов и осложнений хронической интоксикации в психической и соматической сферах. Хроническое поступление опийных

препаратов в организм является пусковым механизмом последующего каскада патологических реакций, которые затрагивают ключевые стороны метаболизма. Фактор интоксикации играет при этом ведущую, можно даже сказать, универсальную роль.

Новой и недостаточно изученной проблемой длительной наркотизации является формирование эндотоксикоза, представляющего собой сложное многокомпонентное явление, на начальных стадиях которого принимают участие как экзо- так и эндотоксины. Приоритетное значение при этом приобретает эндогенная интоксикация, прогрессирование которой приводит к нарастанию патохимических сдвигов и несостоятельности гомеостаза. Изучение метаболических механизмов эндотоксикозов позволило выделить 38 промежуточных продуктов углеводного, липидного и белкового обмена, 11 из которых, в случае их избыточного содержания, способны вызвать эндотоксикацию. Важными факторами, оказывающими существенное влияние на развитие эндотоксикоза, выступает активация свободнорадикального окисления, образования активных форм кислорода и ПОЛ под действием опиатов.

Механизмы активации ПОЛ при употреблении наркотиков обусловлены ингибированием ферментов тканевого дыхания и ослаблением антиокислительной защиты в результате истощения в клетке растворимых в липидах антиоксидантов. При этом следует также учитывать способность наркотиков стимулировать выброс катехоламинов в кровяное русло. Нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса при наркомании носят долговременный характер и в значительной степени сохраняются после прекращения приема наркотиков. Выраженность нарушений углеводного обмена при действии опиатов зависит от длительности их приема и дозы. Вполне понятно, что имеются определенные различия в действии морфина при острой и хронической интоксикации, поэтому оба этих состояния правильнее рассматривать раздельно.

Введение морфина в течение 7-ми суток приводило к статистически значимому ингибированию изученных ферментов гликолиза. Причем данный эффект проявляется как в отношении необратимых киназных реакций, так и для ЛДГ. Снижение активности ключевых ферментов гликолиза согласовывалось с понижением уровня субстратов этого метаболического пути. Содержание глюкозы в печени уменьшалось до 56% ($p < 0,001$), а глюкозо-6-фосфата до 40% ($p < 0,001$) от значений в контрольной группе. Концентрация инсулина у животных 2-й группы не изменялось в сравнении с контролем, тогда как уровень тироксина снижался на 30% ($p < 0,05$).

Двухнедельная морфиновая интоксикация сопровождалась менее выраженными изменениями гликолиза в печени, чем 7-дневное введение наркотика. У особей 3-й группы снижалась только активность ФФК, тогда как скорости других ферментов не отличались от контрольного уровня. Содержание глюкозы и глюкозо-6-фосфата оставалось ниже уровня контрольной группы, однако их концентрация повышалась в сравнении с 7-суточной интоксикацией.

Введение морфина в течение трех недель приводило к ингибированию активности ФФК, ПК и ЛДГ. Степень ингибирования ФФК была выражена в наибольшей мере – на 42% ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой, тогда как активность ПК снижалась на 24% ($p < 0,05$), а ЛДГ – на 26% ($p < 0,02$). Содержание глюкозы при трехнедельной интоксикации морфином нормализовывалось, тогда как уровень глюкозо-6-фосфата оставался пониженным, как и у животных 3-й группы.

Таким образом, хроническая морфиновая интоксикация приводит к ингибированию гликолиза в печени, степень выраженности которого зависит от длительности введения наркотика. Наиболее выраженные эффекты морфина выявлялись спустя неделю. На 14-е сутки ХМИ наблюдалась относительная нормализация функционального состояния гликолиза. Увеличение сроков введения морфина до трех недель приводило к повторному ингибированию ферментов гликолиза, что может рассматриваться как дезадаптация регуляторных механизмов метаболизма, требующая целенаправленной коррекции.

Мышцы

Мышечная ткань подвергается определенным изменениям при длительном потреблении опиатов. При опиной наркомании формируется ишемизация поперечно-полосатой мускулатуры, которая приводит к рабдомиолизу в миокарде и скелетных мышцах. Важную роль в поддержании морфофункционального состояния мышечной ткани играют энергопроизводящие метаболические процессы, главным из которых является гликолиз. Морфин при длительном поступлении нарушает метаболизм глюкозы и окислительное фосфорилирование в ряде тканей.

В наших экспериментах к концу первой недели введения морфина в мышечной ткани отмечалось статистически значимое снижение активности ГК, тогда как активность других ферментов гликолиза не отличалась от контроля. Метаболической предпосылкой снижения активности ГК в данных

условиях может являться понижение уровня глюкозы в мышечной ткани при недельном введении морфина.

Двухнедельная интоксикация морфином не приводила к отклонениям в функционировании гликолиза в скелетной мускулатуре. Активность ГК и уровень глюкозы при этом повышались в сравнении со значениями 2-й группы и достигали контрольных значений. Через три недели введения морфина отмечалось повторное, как и у особей предыдущей группы, снижение содержания глюкозы. Активность ферментов гликолиза при этом не отличалась от контрольного уровня.

Хроническая морфиновая интоксикация оказывала ингибирующий эффект на ПФП в мышечной ткани. Недельное введение морфина приводило к понижению активности Г-6-ФДГ, а через три недели отмечалось ингибирование активности ТК и снижение содержания пентоз.

Расположение экспериментальных групп для показателей гликолиза и ПФП в скелетной мускулатуре при ХМИ на плоскости двух главных компонент показало, что данная модель является статистически значимой ($F=9,28$, $p<0,0000$). Наиболее информативными показателями при этом выступали ЛДГ и Г-6-ФДГ. Наибольший вклад в разделительную способность 1-й дискриминантной функции (кор. 1) вносили переменные Г-6-ФДГ, глюкоза и лактат. Этими показателями в 95% случаев объяснялись различия между экспериментальными группами ($r=0,98$). В 90% случаев разделительная способность 2-й дискриминантной функции (кор. 2) обеспечивалась показателями Г-6-Ф, 6-ФГДФ и ЛДГ ($r=0,92$).

Таким образом, хроническая морфиновая интоксикация нарушает метаболизм глюкозы в мышечной ткани по пути гликолиза и ПФП. Степень этих нарушений зависит от длительности наркотизации. К концу первой недели введения морфина проявляются признаки ингибирования гликолиза и ПФП, а через две недели интоксикации происходит нормализация функционального состояния этих метаболических путей. Данный эффект можно расценивать как результат включения компенсаторных регуляторных механизмов. Однако при удлинении сроков наркотизации до трех недель выявляется повторное снижение содержания ряда субстратов гликолиза и ПФП.

Морфиновый абстинентный синдром и метаболизм глюкозы в печени и мышечной ткани

Печень

Хроническая морфиновая интоксикация сопровождается нарушением углеводного обмена в печени. В этой связи интересным и важным в прикладном плане является оценка состояния метаболизма глюкозы при формировании и развитии МАС.

Форсированная семидневная морфинизация сопровождалась снижением активности ряда ферментов гликолиза в печени. Такой эффект отмечался на фоне пониженного уровня основных субстратов этого метаболического пути – глюкозы и Г-6-Ф. Данные изменения согласовывались с уменьшением профиля гликемии и гормональным дисбалансом, отмеченных в рассматриваемых условиях. Нарушение функции щитовидной железы при длительном введении морфина согласуется с имеющимися литературными данными.

Спустя сутки после прекращения введения морфина активность ГЛК снижалась не только в сравнении с контролем, но и с аналогичным показателем у особей 2-й группы. Это наблюдалось на фоне понижения уровня инсулина в данных экспериментальных условиях. Содержание субстратов начальных реакций гликолиза – глюкозы и Г-6-Ф – при этом оставалось ниже, чем в контрольной группе. На высоте МАС профиль гликемии повышался и достигал контрольных значений. Это соответствует срокам формирования стрессорных реакций на прекращение поступления наркотика и характерным гормональным перестройкам.

Спустя трое суток после прекращения введения морфина в печени отмечались разнонаправленные сдвиги в активности ферментов фосфорилирования глюкозы – гексокиназы и глюкокиназы. Активность ГЛК статистически значимо снижалась в сравнении как с контрольной, так и со 2-й группами. Такой эффект, по всей вероятности, связан с понижением содержания инсулина в данных условиях. Общеизвестно выраженное индуцирующее влияние инсулина на активность ГЛК, которое реализуется на уровне м-РНК данного фермента. Концентрация субстратов гликолиза в печени к концу третьих суток абстиненции в определенной степени согласовывалась с активностью ферментов данного метаболического пути. Уровень глюкозы нормализовался, превышая при этом значения как во 2-й, так и в 3-й экспериментальных группах.

Содержание Г-6-Ф также повышалось в сравнении с животными 3-й группы.

Через 7 суток после прекращения введения морфина в печени выявлялись определенные отклонения в функционировании гликолиза по сравнению с предыдущими сроками абстиненции. Активность ГЛК у животных 5-й группы снижалась и становилась ниже соответствующих значений первых двух экспериментальных групп. Уровень глюкозы понижался в сравнении с трехдневным сроком абстиненции и регистрировался на фоне сниженной активности ГЛК. С данным ферментативным сдвигом согласовывалось и значительное снижение уровня Г-6-Ф в сравнении с особями 1-й, 2-й и 4-й групп на 61, 30 и 42%, соответственно ($p < 0,01$). Одной из причин нарушений функционирования гликолиза в печени у особей 5-й группы могут быть противоположные изменения эндокринной деятельности поджелудочной и щитовидной желез и, как следствие этого, формирование дисгормонального состояния. К концу недельного срока морфиновой абстиненции отмечалась нормализация секреторной функции щитовидной железы, тогда как в отношении инсулина такой динамики не наблюдалось.

Мышечная ткань

Систематический прием опиатов приводит к формированию патологической системы, трансформация и распад которой при внезапном прекращении наркотизации происходит в определенной последовательности. Это определяет фазовый характер возникновения специфических признаков опийной абстиненции в течение первой недели, подтвержденный клиническими и лабораторными исследованиями. С патогенетических позиций особый интерес представляет установление роли системообразующих факторов гомеостатической функциональной системы, формирующейся в острый и отдаленный периоды МАС. К специфическим клиническим проявлениям опийной абстиненции относятся боли в крупных мышцах ног, рук, спины, что определяет картину «наркотической ломки». В этой связи обоснованным является интерес к изучению метаболизма глюкозы в мышечной ткани при отмене морфина.

Семисуточная наркотизация (2-я группа) не изменяла активность ферментов гликолиза в мышечной ткани по сравнению с контролем. При этом статистически значимо снижалась концентрация Г-6-Ф (на 32%, $p < 0,02$). Данные изменения согласовываются с приведенными ранее результатами снижения гликемии, уменьшения содержания глюкозы и Г-6-Ф в печени в аналогичных экспериментальных условиях. На высоте поведенческих

проявлений абстиненции (36 часов) выявлялось ингибирование ГК (на 38%, $p < 0,01$) и достоверное снижение уровня глюкозы (на 19%, $p < 0,05$) в скелетной мускулатуре. Полученные результаты указывают на угнетение гликолиза в мышечной ткани через сутки после прекращения морфинизации. Увеличение сроков абстиненции до 3-х суток не приводило к нормализации функционирования гликолиза в мышечной ткани. Активность ГК (на 43%, $p < 0,01$) и содержание Г-6-Ф (на 42%, $p < 0,01$) оставались пониженными в сравнении со значениями в контрольной группе. К концу недельного срока морфиновой абстиненции в мышечной ткани происходила нормализация показателей гликолиза.

Таким образом, выраженность нарушений гликолиза при МАС в скелетной мускулатуре имеет определенную временную динамику после прекращения наркотизации. Наиболее выраженные признаки ингибирования начальных реакций гликолиза наблюдаются к концу первых суток абстиненции и несколько сглаживаются через трое суток. Через 7 дней после отмены морфина функциональное состояние гликолиза в мышечной ткани нормализуется.

Показатели ПФП в мышечной ткани также претерпевают определенные изменения в динамике развития МАС. Активность Г-6-ФДГ снижалась через 7 суток после введения морфина. Данный эффект может быть обусловлен понижением здесь содержания Г-6-Ф. Спустя одни сутки после отмены морфина активность Г-6-ФДГ оставалась пониженной, а через трое суток она нормализовалась. Примечательным в определенной степени является эффект активации ферментов ПФП в мышечной ткани через неделю после прекращения введения морфина. Таким образом, функционирование ПФП в мышечной ткани при МАС несколько отличается от такового для гликолиза.

Заключение

Монография «Медицина, фармакология, биотехнологии: научные исследования, разработки и профессиональная практика» разработана на основе результатов научных исследований авторов. Результаты выполненных исследований показали актуальность и своевременность для медицинской науки и фармакологии рассматриваемых вопросов. В работе значительное внимание уделено вопросам, связанным с инновациями в фармакологии и с исследованиями в антибактериальной терапии, диетотерапии.

В целом, работа отражает научные взгляды на современное состояние и развитие традиционной и дополнительной медицины, фармакологии. Она представляет интерес как для специалистов в области проведения научных исследований, так и специалистов-практиков.

Библиографический список

1. Алексеев А.А. Клиническое применение глюкокортикоидов // Материалы форума, посвященного 80-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, профессора Папаяна, 2016. С. 74.
2. Антиоксидантная активность сыворотки крови / Г. И. Клебанов, Ю. О. Теселкин, И. В. Бабенкова [и др.] // Вестн Росс. акад мед. наук. – 1999, № 2. С. 15-22.
3. Барыкина, Н. В. Соматическая и инфекционная патология у больных наркоманией в современных условиях / Н. В. Барыкина // Наркология. – 2007. – № 11. – С. 49–53.
4. Богачева Н.В., Охалкина В.Ю., Пяткова Н.В., Федотов А.К., Кучеренко А.С. Экспериментальное изучение иммуномодуляторов на эффективность применения вакцины бруцеллезной живой сухой // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; Т. 15. № 2 (87): 84-92.
5. Богомолов, Д. В. Судебно-медицинская диагностика наркотической интоксикации по морфологическим данным : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.45 / Д. В. Богомолов. – М., 2001. – 32 с.
6. Бородин, С. А. Патоморфология и судебно-медицинская оценка изменений миокарда при острой и хронической комбинированной интоксикации опиатами и этанолом : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.45 / С. А. Бородин. – Новосибирск, 2006. – 21 с.
7. Борискин, И. В. Поражение печени у наркоманов / И. В. Борискин // Мед. новости. – 2002. – № 11. – С. 72–74.
8. Бухтияров И.В. Газоэнергообмен человека при воздействии перегрузок +Gz и использовании различных средств противоперегрузочной защиты / И. В. Бухтияров, О. Л. Головкина, М. Н. Хоменко // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2004. – Т. 38, № 1. – С. 35-39.
9. Бухтияров И.В. Сравнительная характеристика показателей газоэнергообмена при воздействии боковых (Gy), продольных (Gz) и продольно-боковых (Gz/Gy) перегрузок / И. В. Бухтияров, О. Л. Головкина // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2005. – Т. 39, № 5. – С. 10-13.
10. Варюшина Е.А., Анциферова М.А., Александров Г.В., Минаева Е.Н., Пигарева Н.В., Петров А.В., Конусова В.Г., Исаева Е.Н., Бокованов В.Е., Котов А.Ю., Казаков А.А., Демьянов А.В., Симбирцев А.С. Модель осложненного течения раневого процесса у мышей на фоне иммуносупрессии,

вызванной введением гидрокортизона // Цитокины и воспаление. 2004; 3 (4): 14 – 20.

11. Вельтер, О. Ю. Инфекционный эндокардит у инъекционных наркоманов / О. Ю. Вельтер // Антибиотики и химиотерапия. – 2001. – Т. 46, № 11. – С. 39–44.

12. Вельтер, О. Ю. Патология у инъекционных наркоманов / О. Ю. Вельтер // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. – Т. 46, № 10. – С. 3–14.

13. Вербицкая, Е. В. Влияние ритансерина на формирование и экспрессию опиатного абстинентного синдрома / Е. В. Вербицкая, М. Ф. Кудрашова // Эксперим. и клин. фармакол. – 1997. – Т. 60, № 1. – С. 19–21.

14. Головкин, А. И. Участие нейромедиаторных систем в развитии абстинентного синдрома при опийной наркомании / А. И. Головкин, С. М. Тихомиров, С. И. Головкин // Наркология. – 2004. – № 11. – С. 13–24.

15. Городничева Е. А. Особенности динамики объема, абсолютной и относительной массы тимуса белых крыс первой недели постнатального периода онтогенеза / Е. А. Городничева // Труды КГМУ. – 1999. – Т. 135, ч. 1. – С. 204-209..

16. Гулый, Н. М. Влияние хронической морфиновой интоксикации на состав эссенциальных липидов мозга / Н. М. Гулый, В. М. Синицкий, В. М. Мартинич // Журнал Академии мед. наук Украины. – 2001. – Т. 7, № 4. – С. 741–749.

17. Гулый, М. Ф. Особенности метаболических нарушений в печени при морфиновой интоксикации различной длительности / М. Ф. Гулый, Н. А. Синицкий, В. В. Стогний // Вопросы мед. химии. – 1992. – Т. 38, № 3. – С. 48–50.

18. Жамсаранова С.Д., Гонгаева А.Г. Оценка иммунобиологической эффективности аутолизатов селезенки яков на модели азатиоприновой иммуносупрессии // Acta Biomedica Scientifica. 2012; 4-1 (86): 190-192.

19. Жогина, Т. В. Ультразвуковые признаки поражения комплекса паренхиматозных органов у больных опийной наркоманией, страдающих вирусным гепатитом : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.45 / Т. В. Жогина ; НИИ кардиолог. Томского науч. центра СО РАМН. – Томск, 2003. – 22 с.

20. Ильюченко, Л. Ю. Течение хронических гепатитов у наркоманов в период ремиссии / Л. Ю. Ильюченко, Т. М. Царегородова // Наркология. – 2003. – № 9. – С. 38–41.

21. Казутина, Е. А. Изменение биохимических показателей крови и печени при опийном абстинентном синдроме у больных вирусным гепатитом

С / Е. А. Казутина, Б. М. Коган, Т. В. Клименко и др. // Рос. психиатр. журнал. – 2003. – № 6. – С. 52–54.

22. Карбашевська Н.Я. Вплив гіпергравітаційного стресу на стан антиоксидантної системи щурів / Н. Я. Карбашевська, В. А. Барабой, І. О. Блюм // Доп. НАН України. – 1998. № 10. – С. 89-94.

23. Кириллов О.И. Стрессовая гипертрофия надпочечников : автореф. дис. на соиск. научн. степени докт. мед. наук : спец. 14.00.18 «Гистология, цитология, эмбриология» / О.И. Кириллов. – Институт биологии моря Дальневосточного отделения Российской Академии наук. – Владивосток, 1996. – 43 с.

24. Ковшик И.Г., Мельникова Е.В., Пантелеева Н.Г., Тендитник М.В., Шурлыгина А.В., Труфакин В.А. Влияние различных суточных режимов введения ИЛ-2 на иммунный статус мышей СВА в модели циклофосфановой иммуносупрессии // Аллергология и иммунология. 2007; 8 (1): 5.

25. Колдышева Е. В. Ультраструктурные эквиваленты адаптивной реорганизации коры надпочечников при действии экстремальных факторов / Е. В. Колдышева // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – № 6. – С. 139-144.

26. Комердус И.В., Будул Н.А., Чеканова А.В. Системное действие глюкокортикоидных препаратов: в помощь врачу общей практики (обзор литературы) // Русский медицинский журнал. 2017; 25 (1): 45-48.

27. Кононов, А. В. Висцеропатология и непосредственные причины смерти при интоксикации опийными наркотиками и генетический полиморфизм СYP и система цитокинов / А. В. Кононов, В. В. Сорокина, Е. Г. Поморгайло // Сиб. мед. журнал. – 2011. – Т. 26, № 1. – С. 49–53.

28. Котовская А. Р. Особенности физиологических реакций космонавтов - непрофессионалов МКС на действие перегрузок +Gx в кратковременных космических полетах / А. Р. Котовская, И. Ф. Виль-Вильямс // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2007. – Т. 41. № 3. – С. 7-14.

29. Краснов И.Б. Роль эндокринных желез в механизме дивергенции пластических процессов и энергетического обмена у крыс при длительном воздействии гипергравитации. Цитологическое исследование / И. Б. Краснов, Е. И. Алексеев, В. И. Логинов // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2006. – Т. 40, № 3. – С. 29-34.

30. Кригер, О. В. Судебно-медицинская экспертиза смертельных отравлений наркотическими веществами / О. В. Кригер, С. В. Могутов, Д. И. Бутовский // Суд.-мед. эксперт. – 2001. – Т. 44, № 2. – С. 9–14.

31. Литвинов В.В., Лемкина Л.М., Фрейнд Г.Г., Коробов В.П. Морфологическая характеристика действия низкомолекулярного катионного пептида варнерина на модели катетер-ассоциированной инфекции в условиях иммуносупрессии // Современная медицина: актуальные вопросы. 2014; 27: 114 – 120.
32. Лучшев, В. И. Особенности клиники и патогенеза парентеральных гепатитов и их лечение у героиновых наркоманов / В. И. Лучшев, С. Н. Жаров, Т. Я. Чернобровкина // Наркология. – 2003. – № 3. – С. 32–36.
33. Мазурчик, Н. В. Естественная динамика аминотрансфераз в начальные сроки героиновой абстиненции / Н. В. Мазурчик, П. П. Огурцов, В. С. Моисеев // Клин. фармакол. и терапия. – 2002. – Т. 11, № 1. – С. 59–61.
34. Мальдов Д.Г., Ильичев А.В., Лебединская Е.А., Фадеева Е.В., Лебединская О.В., Ахматова Н.К., Четвертных В.А., Годовалов А.П., Мелехин С.В., Киселевский М.В. Действие стимфорте на мононуклеарные лейкоциты и лимфоидные органы мышей на фоне введения циклофосфана // Медицинская иммунология. 2011; № 13 (2, 3): 133-138.
35. Мишнаевский, А. Л. Поражение сердца при опийной наркомании / А. Л. Мишнаевский // Профилактика и реабилитация в наркологии. – 2002. – № 1. – С. 36–38.
36. Мороз Г.А., Кутя С.А. Морфофункциональные изменения в надпочечных железах крыс при многократном воздействии гравитационных перегрузок / Г.А. Мороз, С.А. Кутя // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 4. – С. 118-120.
37. Мороз Г.А. Содержание ТБК-АП в сыворотке крови крыс при систематическом воздействии гравитационных перегрузок / Г. А. Мороз // Медицина сьогодні і завтра. – 2009 – № 1. – С. 14-17.
38. Мороз Г. О. Зміни лейкоцитарної формули під впливом гравітаційних перевантажень в експерименті / Г. О. Мороз // Клін. анат. та опер. хірургія. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 66-70.
39. Мороз Г.А. Структурно-функциональные особенности тимуса крыс разного возраста при систематическом воздействии гипергравитации / Г. А. Мороз // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 142-147.
40. Мороз Г.А. Калий крови крыс при гипергравитационном воздействии и его коррекции / Г. А. Мороз // Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 133-135.

41. Мороз Г.А. Структурно-функциональные особенности тимуса крыс разного возраста при систематическом воздействии гипергравитации / Г. А. Мороз // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 142-147.
42. Мороз Г.А. Калий крови крыс при гипергравитационном воздействии и его коррекции / Г. А. Мороз // Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 133-135.
43. Мороз Г.А. Содержание ТБК-АП в сыворотке крови крыс при систематическом воздействии гравитационных перегрузок / Г. А. Мороз // Медицина сьогодні і завтра. – 2009 – № 1. – С. 14-17.
44. Мороз Г.А., Шаповалова Е.Ю. Лектиногистохимическая характеристика лимфоцитов тимуса крыс при систематическом воздействии гипергравитации / Г.А. Мороз, Е. Ю. Шаповалова // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 187-190..
45. Непомнящих, Г. И. Гистопатология и ультраструктура печени при действии наркотических веществ в сочетании с вирусами гепатита С и В / Г. И. Непомнящих, Н. И. Толоконская, Е. Г. Сахарова // Бюлл. exper. биол. – 1999. – Т. 128, № 9. – С. 351–355.
46. Никитченко Ю.В. Регуляция свободнорадикального окисления липидов в процессе старения организма / Ю. В. Никитченко // «Биологические механизмы старения»; г. Харьков, 30 мая – 1 июня 2002 г., : тезисы докладов V международного симпозиума. – Харьков, 2002. – С. 38-39.
47. Панченко, Л. Ф. Влияние синдрома отмены морфина на систему оксида азота в печени и тимусе крыс / Л. Ф. Панченко, Д. И. Перегуд. А. А. Яковлев // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50, вып. 5. – С. 460–470.
48. Патент РФ на изобретение № 2 398 596 С2/ 10.09.10. Скарнович М.О., Шишкина Л.Н., Сергеев А.Н., Кабанов А.С., Мазуркова Н.А., Даниленко Е.Д., Масычева В.И., Дроздов И.Г. Способы профилактики и лечения заболеваний, вызванных вирусом гриппа птиц А/Н5N1, с использованием индуктора интерферона и ингибитора нейроминидазы.
49. Пащенко П.С. Дорзальный вагусный комплекс крысы в норме и при систематическом воздействии гравитационных перегрузок / П. С. Пащенко, А. Ф. Сухотерин // Вестн. Международной академии проблем человека в авиации и космонавтике. – 2005. – № 3(19). – С. 33-39.
50. Пащенко П.С. Комплекс цитохимических показателей для раннего выявления клеточной дезадаптации у летчиков / П. С. Пащенко // «Клинико-физиологические аспекты медицинской реабилитации летного состава»;

Гатчина, 24 мая, 1996 г. : тез. докл. науч.-практич. конф. – Гатчина, 1996. с. 103-104.

51. Пащенко П.С. Методика моделирования гравитационных перегрузок в эксперименте. Усовершенствование методов и аппаратуры, применяемых в учебном процессе, медико-биологических исследованиях и клинической практике / П. С. Пащенко // Сборник изобретений и рационализаторских предложений ВМедА. – СПб. – 1995. – Вып. 26. – С. 3.

52. Пиголкин, Ю. И. Сравнительная морфологическая характеристика иммунной недостаточности при опиатной наркомании и хронической алкогольной интоксикации / Ю. И. Пиголкин, А. Б. Гасанов // Суд.-мед. эксперт. – 2010. – № 1. – С. 26–29.

53. Пиголкин, Ю. И. Судебно-медицинская диагностика хронической наркотической интоксикации по морфологическим данным / Ю. И. Пиголкин, Д. В. Богомолов, Б. В. Шерстюк // Суд.-мед. эксперт. – 2000. – Т. 43, № 6. – С. 41–45.

54. Пиголкин, Ю. И. Морфологическая диагностика наркотических интоксикаций в судебной медицине / Ю. И. Пиголкин. – М: Медицина, 2004. – 304 с.

55. Распоряжение Правительства РФ № 2323-р от 23 октября 2017 г. «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2018 год». Приложение № 1.

56. Рубинштейн А. М. Морфометрический анализ адренокортикоцитов крыс в условиях стойкого некомпенсированного гипотиреоза / А. М. Рубинштейн, Т. П. Куфтырева, Р. С. Довгань // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2, Т. 2. – С. 241-244.

57. Серебров, В. Ю. Перекисное окисление и спектр липидов плазматических мембран лимфоцитов при абстинентном синдроме у больных опийной наркоманией / В. Ю. Серебров, П. П. Балашов, Н. Г. Шарыпова // Сиб. вестник психиатрии и наркологии. – 2004. – № 2. – С. 43–45.

58. Серебров, В. Ю. Спектр липидов плазматических мембран лимфоцитов при абстинентном синдроме у больных опийной наркоманией / В. Ю. Серебров, П. П. Балашов, Н. Г. Шарыпова // Клин. лаб. диагностика. – 2004. – № 4. – С. 10–12.

59. Сигидин Я.А., Гусева Н.Г., Иванова М.М. Диффузные болезни соединительной ткани. М. : Медицина, 2004. 640 с.

60. Сиволап, Ю. П. Множественные поражения внутренних органов при опийной наркомании / Ю. П. Сиволап, В. А. Саеченков, А. Л. Мишнаевский // Журнал неврологии и психиатрии. – 2000. – Т. 100, № 6. – С. 64–65.
61. Сорокина, В. В. Генетические маркеры в судебно-медицинской оценке случаев острой и хронической интоксикации опийными наркотиками / В. В. Сорокина // Суд-мед. эксперт. – 2010. – №1. – С. 19–21.
62. Сравнительная оценка показателей иммунной системы больных опийной наркоманией в абстинентном и постабстинентном состояниях / Т. П. Ветлугина [и др.] // Сиб. вестник психиатрии и наркологии. – 2005. – Т. 37, № 3. – С. 37–40.
63. Стельникова И. Г. Надпочечники при адаптации организма к двигательным нагрузкам и гипокинезии (экспериментально-морфологическое исследование) : автореф. дис. на соискание учен. степени докт. мед. наук : спец. 14.00.02 «Анатомия человека» / И. Г. Стельникова. – Москва, 2007. – 48 с.
64. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблема нормы в токсикологии (Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). М.: Медицина, 1991. 208 с.
65. Цитотопографія рецепторів лектинів у структурних компонентах органів імунотенезу / А. М. Яценко, В.О. Антонюк, О.В. Наконечна [та ін.] // Львівський медичний часопис. – 2005. – Т. 11, № 3. – С. 96-100.
66. Чипигина, Н. С. Инфекционный эндокардит у инъекционных наркоманов / Н. С. Чипигина, Н. А. Шостак, Т. Л. Виноградова // Вестник Российского гос. мед. университета. – 2009. – № 7. – С. 97–101.
67. Чиркин, А. А. Молекулярные механизмы повреждения печени / А. А. Чиркин // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2000. – № 1. – С. 26–33.
68. Шабанов, П. Д. Основы наркологии / П. Д. Шабанов. – С.- Птб: Лань, 2002. – 555 с.
69. Шигеев, С. В. Судебно-медицинская диагностика смертельных отравлений препаратами опия (комплексное морфологическое, лабораторное и медико-статистическое исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00. 45 / С. В. Шигеев. – М., 2002. – 24 с.
70. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 748 с.
71. Bakalska, M. Effect of morphine on the thyroid gland morphology /

72. M. Bakalska, R. Denkova, B. Nikitov // *Tes. Bulg. Sci.* – 1994. – Vol. 47, № 8 –
73. P.109–112.
74. Bourasset, F. Evidence for an active transport of morphine-6- β -D-glucuronide but not P-glycoprotein-mediated at the blood-brain barrier / F. Bourasset, S. Cisternino, J. Temsamani // *J. Neurochem.* – 2003. – Vol. 86. – P. 1564–1567.
75. De Gregori, Simona Morphine metabolism, transport and brain disposition / Simona De Gregori, Manuela De Gregori, Guglielmina Nadia Ranzani // *Metab. Brain Dis.* – 2012. – Vol. 27, № 1. – P. 1–5.
76. Diamantis, L. High prevalence and coinfection rate of hepatitis G and C infections in intravenous drug addicts / L. Diamantis, S. Bassetti, P. Erb // *J. Hepatol.* – 1997. – Vol. 26, № 4. – P. 794–797.
77. Fox, A. W. Modern opioids: uses defined by chrono-pharmacology, not receptor selectivity / A. W. Fox // *J. R. Soc. Med.* – 1995. – Vol. 88, № 9. – P. 502–504.
78. Fujita, K. Association of UGT2B7 and ABCB1 genotypes with morphine-induced adverse drug reactions in Japanese patients with cancer / K. Fujita, Y. Ando, W. Yamamoto // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 65, № 2. – P.251–258.
79. Holthe, M. Morphine glucuronide-to-morphine plasma ratios are unaffected by the UGT2B7 H268Y and UGT1A1 28 polymorphisms in cancer patients on chronic morphine therapy / M. Holthe, P. Klepstad, K. Zahlseu / *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 58. – P. 353–356.
80. Horid'ko, T. M. Effect of N-stearoylethanolamine on the lipid peroxidation process and lipid composition of the rat liver in acute morphine intoxication /
81. T. M. Horid'ko, N. M. Hula, N. A. Stohniř // *Ukr. Biokhim. Zh.* – 2007. – Vol. 79, № 5. – P. 175–185.
82. Ilic, G. Chronic intravenous heroin abuse: Impact on the liver / G. Ilic [et al.] // *Facta Univ. Ser. Med. and Bid. Univ. Nis.* – 2005. – Vol. 12, № 3. – P. 150–153.
83. Impaired glucose metabolism in heroin and methadone users / A. Ceriallo [et al.] // *Hormone and Metab. Res.* – 1987. – Vol. 19, № 9. – P. 430–433.
84. Kubat, B. Drugs, muscle pallor, and pyomyositis / B. Kubat // *Forensic. Sci. Med. Pathol.* – 2013. – Vol. 9, № 4. – P. 564–567.
85. Landais, A. Severe memory impairment following acute morphine intoxication / A. Landais // *J. Neurol. Sci.* – 2014. – Vol. 343, № 1-2. – P. 242–244.

86. Lötsch, J. Increased CNS uptake and enhanced antinociception of morphine-6-glucuronide in rats after inhibition of P-glycoprotein / J. Lötsch, R. Schmidt, G. Vetter // J. Neurochem. – 2002. – Vol. 83. – P. 241–248.
87. Lötsch, J. Antinociceptive effects of morphine-6-glucuronide in homozygous MDR1a P-glycoprotein knockout and in wildtype mice in the hotplate test / J. Lötsch, I. Tegeder, M. S. Angst // Life Sci. – 2001. – Vol. 66. – P. 2393–2403.
88. Lunkova, L. Morphological alterations of the rat myocardium in chronic morphine intoxication / L. Lunkova, O. Makarova, L. Kakturskii // Arkh. Patol. – 2004. – Vol. 66, № 5. – P. 17–21.
89. Luo, F. Geranylgeranylacetone protects against morphine-induced hepatic and renal damage in mice / F. Luo, L. Zhao, J. Deng // Mol. Med. Res. – 2013 – Vol. 7, № 2. – P. 694–700.
90. Matsunaga, Y. Peribiliary capillary plexus around interlobular bile ducts in various chronic liver diseases: An immunohistochemical and morphometric study / Y. Matsunaga, T. Terada // Pathol. Int. – 1999. – Vol. 49, № 10. – P. 869–873.
91. O'Carra, K. Tissue distribution of mammalian lactate dehydrogenase isoenzymes / K. O'Carra, P. Mulcany // Biochem. Soc. Trans. – 1990. – Vol. 18, № 2. – P. 272–274.
92. Ohno, Y. Comparative evaluation of different pathways for the liver toxicity of morphine using freshly isolated hepatocytes / Y. Ohno, K. Nagamatsu, T. Kawaniski // Biochem. Pharmacol. – 1998. – Vol. 37. – P. 2862–2863.
93. Osborne, R. Morphine and metabolite behavior after different routes of morphine administration: demonstration of the importance of the active metabolite morphine-6-glucuronide / R. Osborne, S. Joel, D. Trew // Clin. Pharmacol. Ther. – 1990. – Vol. 47. – P. 12.
94. Park, S. H. Characterization of blood glucose level regulation in mouse opioid withdrawal models / S. H. Park, Y. B. Sim, Y. J. Kang // Neurosci Lett. – 2010. – Vol. 476, № 3. – P. 119–22.
95. Révész, K. Luminal accumulation of newly synthesized morphine-3-glucuronide in rat liver microsomal vesicles / K. Révész, B. Tóth, A. Staines //
96. M. Biofactors. – 2013. – Vol. 39, № 3. – P. 271–278.
97. Retz, K. Steele M. Mechanism of inhibition of protein synthesis by morphine in rat brain and liver / K. Retz, M. Steele // J. Mol. Pharmacol. – 1982. – Vol. 22, № 3. – P. 706–714.

98. Seidl, S. Higher detection rate of hepatitis G and C virus RNA in liver tissue than in serum of deceased injection drug users / S. Seidl, B. Koenig, G. Reinhardt // *Int. J. Legal. Med.* – 1999. – Vol. 112. – P. 35–38.
99. Sendi, P. Intravenous opiate maintenance in a cohort of injecting drug addicts / P. Sendi, M. Hoffmann, H.C. Bucher // *Drugs Alcohol Depend.* – 2003. – Vol. 69, № 2. – P. 183–188.
100. J. Skrabalova, Z. Drastichova, J. Novotny // *Mini Rev. Org. Chem.* – 2013. – Vol. 10, № 4. – P. 367–372.
101. Smith, M.T. Neuroexcitatory effects of morphine and hydromorphone: evidence implicating the 3-glucuronide metabolites / M. T. Smith // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2000. – Vol. 27. – P. 524–528.
102. Stone, A. Isoform selectivity and kinetics of morphine 3- and 6-glucuronidation by human UDP-glucuronosyltransferases: evidence for atypical glucuronidation kinetics by UGT2B7 / A. Stone, P. Mackenzie, A. Galetin // *Drug Metab. Dispos.* – 2003. – Vol 31. – P. 1086–1089.
103. Zimina, L. N. Morphological aspects of diagnosis of acute opiate poisoning / L. N. Zimina, I. E. Galankina, I. E. Pavlenko // *Anesteziol Reanimatol.* – 2002. Vol. 2. – P. 38–42.
104. Yagura, M. Changes of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients with no response to interferon-alpha therapy: including quantitative assessment by a morphometric method / M. Yagura, S. Murai, H. Kojima // *J. Gastroenterol.* – 2000. – Vol. 35, № 2. – P. 105–111.
105. Yamada, H. Formation of highly analgesic morphine-6-glucuronide following physiologic concentration of morphine in human brain / H. Yamada, K. Ishii, Y. Ishii // *J. Toxicol. Sci.* – 2003. – Vol. 28. – P. 395–401.
106. Van der Lee, R. Morphine-induced muscle rigidity in a term neonate / R. Van der Lee, I. Ceelie, S. N. de Wildt // *Ann. Pharmacother.* – 2009. – Vol. 43, № 10. – P. 1724–1726.
107. Ulens, C. Morphine-6beta-glucuronide and morphine-3-glucuronide, opioid receptor agonists with different potencies / C. Ulens, L. Baker, A. Ratka // *Biochem. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 62, № 9. – P. 1273–1282.
108. Xie, R. Modelling of the blood-brain barrier transport of morphine-3-glucuronide studied using microdialysis in the rat: involvement of probenecid-sensitive transport / R. Xie, M. Bouw, M. Hammarlund-Udenaes // *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 131. – P. 1784–1792.

Сведения об авторах

Бобрик Юрий Валериевич

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры лечебной физкультуры и спортивной медицины, физиотерапии с курсом физического воспитания (структурное подразделение) Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»

Богачева Наталья Викторовна

д.м.н., профессор кафедры микробиологии и вирусологии, ФГБОУ ВО Кировский государственный медицинский университет Минздрава России

Кутя Сергей Анатольевич

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной анатомии Медицинская академия имени С.И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»

Пелевич Сергей Владимирович

д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и иммунологии УО "Гродненский государственный медицинский университет", Беларусь

Мороз Геннадий Александрович

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой лечебной физкультуры и спортивной медицины, физиотерапии с курсом физического воспитания Медицинская академия имени С.И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»

Электронное научное издание
сетевого распространения

Медицина, фармакология, биотехнологии:
научные исследования, разработки и
профессиональная практика

монография

По вопросам и замечаниям к изданию, а также предложениям к
сотрудничеству обращаться по электронной почте mail@scipro.ru

Подготовлено с авторских оригиналов



ISBN 978-5-907072-68-8



9 785907 072688

Усл. печ. л. 3,5.

Объем издания 4,9 МВ

Оформление электронного издания: НОО

Профессиональная наука, mail@scipro.ru

Дата размещения: 30.03.2019 г.

URL: <http://scipro.ru/conf/monographmedicine2.pdf>.