

Д.Н. Панченков<sup>2</sup>, М.В. Баранов<sup>1</sup>, Д.А. Астахов<sup>1,2</sup>, А.А. Нечунаев<sup>2</sup>, С.Д. Леонов<sup>2</sup>, М.Е. Бехтева<sup>2</sup>

## **Биохимические аспекты влияния антиортостатической гипокинезии на течение экспериментального перитонита**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова»

Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, стр.1

*Исследование выполнено на 80 белых беспородных крысах. Все животные разделены на 4 группы по 20 особей в каждой. 1-я группа — виварийный контроль; 2-я — антиортостатическая гипокинезия (АНОГ); 3-я — перитонит; 4-я — сочетание АНОГ + перитонит. Эффекты АНОГ достигались путем вывешивания крыс на специальном стенде на срок 14 дней с последующим формированием перитонита. Изучались биохимические показатели крови. Выявлено, что эффекты моделированной микрогравитации и перитонита носят однонаправленный характер, а их сочетание проявляется взаимным отягощением, что иллюстрирует двукратное повышение уровня некоторых показателей по сравнению с контролем и виварийным перитонитом. Таким образом моделированные эффекты микрогравитации усугубляют течение перитонита.*

**Ключевые слова:** микрогравитации, перитонит, антиортостатическая гипокинезия, биохимические изменения

D.N. Panchenkov<sup>2</sup>, M.V. Baranov<sup>1</sup>, D.A. Astakhov<sup>1,2</sup>, A.A. Nechunaev<sup>2</sup>, S.D. Leonov<sup>2</sup>, M.E. Behteva<sup>2</sup>

## **Biochemical aspects of the influence of antiorthostatic hypokinesia on the experimental peritonitis**

<sup>1</sup> Institute for General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

<sup>2</sup> Moscow State University of Medicine and Dentistry, 127473 Russia, Moscow, Delegatskaya str., 20/1

*Eighty white rats were divided into 4 groups: (1) vivarium control, (2) antiorthostatic hypokinesia (AH), (3) peritonitis alone, and (4) AH with peritonitis. Effects of AH were achieved by putting rats on a special stand for a period of 14 days, followed by the formation of peritonitis. After that biochemical parameters of blood samples have been investigated. Combination effects of microgravity and peritonitis is unidirectional and have mutual weights. As illustrated in some cases two-fold increase in the level of the studied parameters in comparison with the control and vivarium peritonitis. Comparative assessment of peritonitis severity revealed that simulated effects of microgravity turn the peritonitis into more complicated forms.*

**Key words:** microgravity, peritonitis, antiorthostatic hypokinesia, biochemical changes

Изучение особенностей течения заболеваний человека при моделировании эффектов невесомости обусловлено практической потребностью выработки подходов к оказанию медицинской помощи при возникновении у космонавтов острых хирургических заболеваний и критических состояний. Случаи возникновения у членов экипажей космических кораблей функциональных расстройств или заболеваний, при которых применялись лечебно-профилактические мероприятия, подтверждают такую возможность [1—5, 8, 9]. Значимость проблемы оказания медицинской помощи космонавтам в условиях космических полетов будет возрастать, особенно учитывая перспективу

межпланетных экспедиций. В частности, реализация марсианской экспедиции потребует создания надежного и эффективного комплекса медико-биологического обеспечения жизнедеятельности экипажа [4, 9]. Это особенно важно для космонавта, у которого заболевание развилось в длительном космическом полете, когда имеется уже исходный дефицит объема циркулирующей крови, снижение активности иммунной системы, и ряд других функциональных изменений вследствие длительного воздействия невесомости, что может отягощать состояние при небольшом объеме поражения [2, 8, 9]. Методические трудности проведения подобных исследований в условиях космического полета создают предпосылки для использования моделирования основных физиологических эффектов невесомости. Основными патогенетическими факторами невесомости считаются:

**Для корреспонденции:** Баранов Михаил Викторович, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. физиологических проблем невесомости ФГБУ «НИИОПП» РАМН. E-mail: labmicrogravity@rambler.ru

- 1) ограничение мышечной активности;
- 2) понижение или отсутствие гидростатического давления жидких сред организма, прежде всего крови;
- 3) отсутствие тонуса опоры по Радемакеру;
- 4) измененная афферентация с позно-тонической мускулатуры [1, 3—5, 8—10].

Все эти факторы в той или иной степени моделируются моделируют в условиях антиортостатической гипокинезии (АНОГ).

В качестве модели хирургического заболевания был выбран перитонит. Это вторичный патологический процесс — воспаление брюшины, осложняющий течение первичного патологического процесса, травмы или заболевания, приведшего к образованию источника — воспалительной или травматической деструкции органов брюшной полости. Перитонит является мощным воспалительным процессом, характеризующимся как местной реакцией, так и системным воспалительным ответом, а также отчетливой фазностью и стереотипностью патофизиологических сдвигов, что при сочетании с моделью АНОГ позволяет выявить возможные отличия в течении заболевания в условиях адаптации к невесомости.

*Цель данного исследования* — выявление биохимических особенностей течения перитонита в условиях АНОГ.

### Методика

Исследования выполнено на 80 белых беспородных крысах, приблизительно одного возраста (2—3 мес.), массой 240—330 г. Все животные находились в одинаковых условиях при постоянной температуре окружающей среды 23—26°C, получали одинаковое питание, были прооперированы в одинаковых временных рамках. Все животные разделены на 4 группы по 20 особей в каждой:

- 1-я группа — виварийный контроль;
- 2-я группа — АНОГ;
- 3-я группа — перитонит;
- 4-я группа — сочетание АНОГ + перитонит.

Эффекты АНОГ достигались путем вывешивания крыс на специальном стенде на срок 14 суток с последующим воспроизведением перитонита.

Стенд представляет собой каркас, на котором по двум направляющим рельсам перемещается балка с подвижной кареткой. Каретка может двигаться в любом направлении в пределах горизонтальной плоскости над сетчатым полом размером 40 на 40 см. Для подвешивания животного к подвижной каретке в целях обеспечения равномерного распределения весовой нагрузки на туловище используется специальная система состоящая из капронового костюма для крысы с отверстиями для конечностей с двумя металлическими пластинами на спинке животного к которым фиксируется костюм, что удерживает тело животного от повисания и позволяет придать избранный

угол вывешивания для всего тела. Для моделирования перитонита под эфирным наркозом, выполнялась срединная лапаротомия и продольное сечение толстой кишки на протяжении 0,5 см (на 1 см дистальнее слепой кишки). После этого производилось послойное ушивание лапаротомной раны непрерывным швом. Операционное поле обрабатывалось раствором антисептика, животное перевязывалось и помещалось в клетку. Через 24 ч животных выводили из эксперимента путем декапитации на гильотине (Open Science). Собирали образцы крови, центрифугировали, хранили при температуре — 20°C. В гепаринизированной плазме крови крыс стандартными коммерческими наборами производства фирмы «DiaSys», Германия, определяли активность аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), общей амилазы, а также концентрацию общего белка, альбумина, креатинина, мочевины и бикарбоната. Наборами фирмы «Randox», Великобритания, измеряли активность общей липазы. Концентрацию общего и прямого билирубина определяли наборами фирмы «Эко-сервис», Россия. Для измерений использовали биохимический автоанализатор «Targa BT 3000» фирмы «Biotechnica Instruments», Италия. Уровень калия измеряли на ионселективном анализаторе «EasyLite», фирмы «Медика», США.

Полученные данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. Процедура анализа числовых значений имела следующий вид: на первом этапе проводили оценку данных на нормальность распределения. В связи с асимметричным распределением применяли непараметрический критерий Крускала—Уоллиса и рассчитывали значения для каждого параметра. Таким образом, показатели: аспаратаминотрансфераза, общий билирубин, амилаза крови, общий белок, альбумин, мочевина, натрий имели статистически значимые различия в сравниваемых группах; показатели: аланинаминотрансфераза, лактатдегидрогеназа, липаза, креатинин и калий достоверно не различались в исследуемых группах.

При выявлении статистически значимых различий, производили стягивающие межгрупповые сравнения по методу Данна для множественных выборок разного объема.

### Результаты и обсуждение

Обсуждаемые ниже различия в группах носят достоверный характер и получены путем стягивающих межгрупповых сравнений по методу Данна для множественных выборок разного объема с уровнем значимости  $p \leq 0,05$  для  $k$  (количество групп) = 4. Критическое значение  $Q$  (критерий Данна) при сравнения с контрольной группой 2,394; критическое значение  $Q$  при попарном сравнении экспериментальных групп 2,639. Числовые значения оцениваются по модулю, знак указывает направление при сравнении групп.

**Аминотрансферазы.** Наиболее доступным и информативным показателем характеризующим обмен белков является активность трансаминаз. Изменение активности аминотрансфераз наблюдаемые при гиподинамии свидетельствуют о преимущественно катаболической направленности обмена белков в тканях животных и человека [5—8]. Изучение активности АСТ в крови крыс показало достоверное повышение уровня АСТ в группе АНОГ и при сочетании АНОГ с перитонитом. При этом сочетание с перитонитом приводило более чем к 2-кратному увеличению уровня АСТ в крови по сравнению с контролем, что указывает на более тяжелое его течение. Показатели АЛТ существенно не различались.

**Билирубин общий.** Нами отмечено достоверное повышение уровня общего билирубина в группе АНОГ + перитонит по сравнению с контролем. Другие группы по данному показателю не различались. Известно, что билирубин с током крови доставляется в печень, на поверхности плазматической мембраны гепатоцита диссоциирует, и проникает в гепатоцит путем облегченной диффузии посредством белков переносчиков. При этом активность поглощения билирубина зависит от скорости его метаболизма в клетке. Наблюдаемое в эксперименте повышение уровня билирубина только в группе АНОГ + перитонит позво-

ляет предположить взаимоотношающее влияние обоих процессов на функцию печени, приводящее к значимому снижению скорости поглощения билирубина и как следствие увеличению его концентрации в крови.

**Общий белок и альбумин.** В космических полетах и при моделировании невесомости установлена фазность изменений концентрации белков крови с тенденцией к снижению [5, 6]. Показано также, что АНОГ приводит к снижению скорости синтеза белка уже после коротких сроков воздействия [8, 9]. Точный механизм, приводящий к уменьшению скорости синтеза белка во время гравитационной разгрузки, ни у человека, ни у животных в настоящий момент не известен. Однако сопоставление морфологических изменений в печени под воздействием АНОГ с наблюдаемыми в нашем исследовании статистически значимыми гипопротеемией и гипоальбуминемией можно предположить снижение ее белково-синтетической функции, на фоне усиления катаболических процессов в ответ на гравитационную разгрузку. Данные показатели имели достоверно более выраженное снижение при сочетании с перитонитом, что отражает однонаправленность эффектов АНОГ и воспалительного процесса в брюшной полости.

Таблица 1

Значение коэффициентов Данна для сравниваемых групп

Показатель	Экспериментальные группы	1. Контроль*	2. АНОГ**	3. Перитонит**
АСТ	4. АНОГ / Перитонит	<b>4,987</b>	<b>2,714</b>	2,348
	3. Перитонит	2,283	0,104	—
	2. АНОГ	2,454	—	—
Билирубин общ.	4. АНОГ / Перитонит	<b>2,734</b>	2,171	0,97
	3. Перитонит	1,587	1,048	—
	2. АНОГ	0,607	—	—
Общ. белок	4. АНОГ / Перитонит	<b>-3,282</b>	0,565	1,969
	3. Перитонит	-1,051	1,553	—
	2. АНОГ	<b>-2,934</b>	—	—
Альбумин	4. АНОГ / Перитонит	<b>-5,189</b>	<b>-2,739</b>	-2,535
	3. Перитонит	-2,278	0,070	—
	2. АНОГ	<b>-2,646</b>	—	—
Мочевина	4. АНОГ / Перитонит	<b>4,508</b>	2,117	<b>3,617</b>
	3. Перитонит	0,474	-1,818	—
	2. АНОГ	<b>2,582</b>	—	—
Амилаза	4. АНОГ / Перитонит	1,529	1,490	1,214
	3. Перитонит	0,174	<b>2,721</b>	—
	2. АНОГ	<b>3,262</b>	—	—
Натрий	4. АНОГ / Перитонит	<b>-3,889</b>	<b>-4,722</b>	-1,891
	3. Перитонит	-1,717	-2,541	—
	2. АНОГ	0,945	—	—

**Мочевина.** В большинстве исследований, проведенных во время полетов космических кораблей на орбитальных станциях «Союз-9», «Аполлон», «Скайлэб», «Салют», «Мир» и после их завершения, а также в модельных экспериментах, отмечалось увеличение выделения мочевины и мочевой кислоты с мочой, на фоне увеличения содержания мочевины в крови [1, 5—7]. В нашем исследовании отмечалось достоверное повышение уровня мочевины в крови как в группе АНОГ, так и АНОГ + Перитонит. Обращает на себя внимание статистически значимое повышение уровня мочевины в группе АНОГ + перитонит по сравнению с группой перитонит (3-я группа), что также укладывается в картину представлений об усилении катаболических эффектов при сочетанном действии гиподинамии и инфекционно-воспалительного процесса.

**Амилаза крови.** Согласно полученным нами данным, уровень амилазы крови достоверно повышался в группах АНОГ по сравнению с контролем и группе перитонита по сравнению с АНОГ. Многими авторами отмечается повышение уровня амилазы в условиях моделированной и реальной микрогравитации. Так, на 7-е сут. гипокинезии крыс отмечено повышение амилазы крови более чем в 2 раза [6]. После кратковременных космических полетов установлены случаи гиперферментемии с преобладанием инкреции амилазы и ее усиленным выведением из организма. В ходе параллельных исследований влияния антиортоstaticкой гипокинезии и невесомости на функцию поджелудочной железы установлен феномен, получивший название симптома «уклонения» при котором наблюдается угнетение выделения амилазы по экскреторному пути, в то время как в крови наблюдалось значительное повышение ее уровня. Симптом «уклонения» в кровь панкреатических ферментов отражает напряжение экзокринной функции поджелудочной железы, которое, в свою очередь, может характеризовать функциональную готовность органа к развитию возможного нозологического процесса. В результате «уклонения» ферментов в кровь в полости желудочно-кишечного тракта создается дефицит панкреатических ферментов. При этом снижается гидролитический потенциал тонкой кишки, что характеризует состояние мальдигестии [5—7]. Указанный компонент также вносит свой вклад в усугубление диспротеинемии в условиях моделированной микрогравитации.

**Электролиты.** В ходе многих исследований были установлены изменения водно-солевого обмена в космическом полете, проявлявшиеся в дегидратации организма. Дегидратация сопровождалась повышенной экскрецией электролитов. Выраженность изменений концентрации электролитов и осмотически активных

веществ крови, зависела от продолжительности полетов. Исследования минерального обмена у членов экипажа «Джемми-7» во время полета выявило отрицательный баланс натрия, калия, фосфора, серы [1, 4, 8—10]. Изменения, связанные с перераспределением жидких сред организма в ответ на антиортостаз также сопровождались достоверным снижением содержания натрия в плазме крови. Как известно, нарушения водно-электролитного обмена, расстройство кислотно-основного состояния характерны и для перитонита. Электролиты частично перемещаются в интерстициальное пространство, в экссудат брюшной полости, в просвет кишечника. При сочетании АНОГ с перитонитом мы наблюдаем суммацию эффектов и практически двукратное отклонение данного показателя от нормы и соответствующих показателей группы АНОГ.

Таким образом, в результате проведенного исследования определен ряд биохимических параметров отражающих метаболические изменения, возникающие при перитоните и АНОГ. Полученные данные иллюстрируют феномен взаимного отягощения и усиления тяжести течения перитонита в условиях моделирующих эффекты микрогравитации.

*Настоящая работа подготовлена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг., в рамках реализации мероприятия №1.2.1 Проведение научных исследований научными группами под руководством докторов наук. ГК №16.740.11.0180.*

### Список литературы

1. **Атьков О.Ю., Бедненко В.С.** Гипокинезия, невесомость: Клинические и физиологические аспекты. — М.: Наука, 1989. — 304 с.
2. **Гончаров И.Б., Ковачевич И.В., Жернавков А.Ф.** Анализ заболеваемости в космическом полете // Космическая биология и медицина. — Т. 4. — М., 2001. — С. 145-164.
3. **Григорьев А.И., Гуровский Н.Н., Егоров А.Д.** Основные механизмы невесомости // Космическая биол. и медицина. — М.: Наука, 1987. — С. 49-59.
4. **Григорьев А.И., Егоров А.Д.** Феноменология и механизмы изменения основных функций организма человека в невесомости // Космич. биология и авиакосмич. медицина. — 1988. — №6. — С. 4-17.
5. **Поляков В.В., Смирнов К.В., Бедненко В.С.** и др. Комплексная оценка функций желудочно-кишечного тракта во время космического полета // Материалы IX Всесоюз. Конф. по космич. биологии и авиакосмич. медицине. — Калуга, 1990. — С. 161-162.
6. **Смирнов К.В., Уголев А.М.** Космическая гастроэнтерология. — М.: Наука, 1981. — 277 с.

7. *Смирнов К.В.* Пищеварение и гипокинезия. — М.: Медицина, 1990. — 224 с.

8. *Fowler J.F.* Physiological changes during space flight // *Cutis*. — 1991. — Vol. 48. — P. 291-295.

9. *Nicogossian M.C., Sawin C.F., Huntoon C.L.* Overall physiologic response to space flight / Nicogossian A.E., Huntoon C.L., Pool S.L., eds. *Space Physiology and Medicine*. 3<sup>rd</sup> ed. — Philadelphia, Pa: Lea & Febiger; 1994. — P. 213-228.

10. *Scott M. Smith, Jane M. Krauhs, Carolyn S. Leach.* Regulation of body fluid volume and electrolyte concentrations in spaceflight // *Advances in Space Biology and Medicine*. — 1997. — Vol. 6. — P. 123-165.

Поступила 01.11.2012

#### Сведения об авторах:

*Панченков Дмитрий Николаевич*, д-р мед. наук, проф., зав. каф. хирургии ФПДО ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, зав. лаб. минимально инвазивной хирургии отд. клинической медицины НИМСИ МГМСУ

*Астахов Дмитрий Анатольевич*, мл. науч. сотр. лаб. физиологических проблем невесомости ФГБУ «НИИОПП» РАМН, аспирант лаб. минимально инвазивной хирургии НИМСИ МГМСУ

*Нечунаев Алексей Александрович*, канд. мед. наук, ассистент каф. хирургии ФПДО ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова

*Леонов Сергей Дмитриевич*, канд. мед. наук, доц. каф. хирургии ФПДО ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова

*Бехтева Марина Евгеньевна*, асп. лаб. минимально инвазивной хирургии НИМСИ МГМСУ