

качестве антиоксиданта в условиях воздействия низких температур.

Выводы

1. Семидневное охлаждение организма крыс приводит к выраженному увеличению концентрации продуктов ПОЛ в крови животных. Пероральное применение дигидрокверцетина в дозах 0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 10 мг/кг массы тела животного и витамина Е в дозе 30 мг/кг приводит к достоверному снижению содержания продуктов ПОЛ в крови крыс на седьмой день холодового воздействия.

2. Дигидрокверцетин при введении в дозе 0,1 мг/кг вызывает более выраженное снижение ГП и ДК в крови экспериментальных животных в сравнении с использованием витамина Е.

3. Дигидрокверцетин в дозе 0,1 мг/кг можно рекомендовать для снижения образования продуктов ПОЛ при холодовом воздействии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айдарханов Б.Б., Локшина Э.А., Ленская Е.Г. Молекулярные аспекты механизма антиокислительной активности витамина Е: особенности действия токоферолов // *Вопр. мед. химии*. 1989. Т.35, №3. С.2–9.

2. Афанасьев Ю.И., Боронихина Т.В. Витамин Е: значение и роль в организме // *Успехи соврем. биол.* 1987. Т.104. Вып.3 (6). С.400–411.

3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина, 1989. 367 с.

4. Гистофизиологическое состояние системы местного иммунитета дыхательных путей при охлаждении и коррекции ЭХА-раствором / Голохваст К.С. [и др.] // *Бюл. физиол. и патол. дыхания*. 2007. Вып.27. С.15–17.

5. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония // *Современные методы в биохимии* / под ред. В.Н.Ореховича. М.: Медицина, 1977. С.64–66.

6. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // *Там же*. С.63–64.

7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Там же*. С.66–68.

8. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein / Bowry V.W. [et al.] // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol.270, №2. P.5756–5763.

9. Effect of vitamin C on antioxidant, lipid peroxidation and GSH system in the normal guinea pig heart / Rojas C. [et al.] // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 1994. Vol.40, №5. P.411–420.

10. Tiidus P.M., Houston M.E. Antioxidant and oxidative enzyme adaptations to vitamin H deprivation and training // *Med. Sci. Sports. Exerc.* 1994. Vol.26, №3. P.354–359.

Поступила 31.03.2011

Ольга Геннадьевна Круглова, старший лаборант кафедры фармакологии, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького 95;

Olga G. Kruglova,

95 Gorkogo Str., Blagoveshensk, 675000;

E-mail: kruglovayalo@mail.ru



УДК 616-092.19/9:542.943.8:612.014.481

О.В.Бубинец

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОГО СТАТУСА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ АНТИОКСИДАНТОВ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЛУЧЕВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России, Благовещенск

РЕЗЮМЕ

Проведены экспериментальные исследования, посвященные проблеме разработки и совершенствования лекарственных препаратов с антиоксидантным действием. Дана сравнительная характеристика иммунного статуса у животных

при хроническом лучевом воздействии на фоне применения антиоксидантных препаратов (дигидрокверцетина и тиобарбитамин-103). Зарегистрирован положительный иммуномодулирующий эффект препаратов. Исследования открывают новые свойства разрабатываемых препаратов,

определяют подходы к системной и местной коррекции нарушений показателей иммунного статуса, возникающих под влиянием экзогенных воздействий.

Ключевые слова: дигидрокверцетин, иммунный статус, хроническое лучевое воздействие.

SUMMARY

O.V.Bubinetz

COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF IMMUNE STATUS OF LABORATORY ANIMALS AT APPLICATION OF ANTIOXIDANTS AGAINST CHRONIC RADIAL INFLUENCE

Experimental investigations devoted to the problem of antioxidant medicine development and improvement were carried out. The comparative characteristic of immune status of animals at chronic radial influence against antioxidants medicines (dihydroquercetin and thiobarbamin-103 medication) is given. A positive immune modulating effect of these medications is registered. These researches open new properties of medicines under development and determine approaches to system and local correction of immune status indices which occur under the influence of exogenous factors.

Key words: dihydroquercetin, immune status, chronic radial influence.

Известно, что окислительные реакции свободных радикалов являются самым универсальным неспецифическим механизмом повреждения клеток и участвуют в патогенезе многих заболеваний [3, 4, 6]. При развитии патологического процесса баланс образования и расходования продуктов перекисного окисления может нарушаться, метаболиты перекисного окисления накапливаются в тканях и биологических жидкостях, что приводит к серьезным патологическим изменениям, в первую очередь, в биологических мембранах. Следствием активизации перекисного окисления может быть изменение физико-химических свойств мембранных белков и липидов, изменение активности мембранно-связанных ферментов, нарушение проницаемости мембран, ионного транспорта, уменьшение электрической стабильности липидного бислоя мембран. Поэтому, для регулирования свободно радикальных процессов в организме человека, наряду с эндогенными биоантиоксидантами, в настоящее время широко применяются природные и синтетические соединения, влияющие на структуру и функции биологических мембран и способные снижать интенсивность свободно радикальных процессов, т.е. проявляющие антиоксидантные свойства [2, 8, 9].

Установлено, что антиоксиданты замедляют процессы старения и износа клеточных мембран, способны связывать и нейтрализовать повреждающее действие свободных радикалов, образующихся при воздействии ионизирующего облучения, повышают устойчивость к воздействию радиации и других внешних факторов, усиливают иммунитет, обладают антиканцерогенным действием [1, 6]. Образование

свободных радикалов лежит в основе механизма действия химиотерапии, лучевой и фотодинамической терапии [4].

Данные литературы свидетельствуют о том, что общее облучение сопровождается не только активацией свободнорадикальных реакций, но и усилением расходования эндогенных антиоксидантов, а также снижением активности антиоксидантных ферментов [5, 7].

Иммунная система является одной из наиболее чувствительных физиологических систем к острым и хроническим лучевым воздействиям. В связи с этим, на наш взгляд, исследование влияния различных антиоксидантов на иммунный статус в условиях хронического лучевого воздействия имеет существенное практическое и теоретическое значение.

Целью нашего исследования явилось изучение показателей иммунного статуса лабораторных животных при применении антиоксидантов – флавоноида дигидрокверцетина (ДГК) и производного пиримидина тиобарбамина (ТВ-103) на фоне хронического лучевого воздействия (ХЛВ).

Материалы и методы исследования

Исследования проводили на 30 белых беспородных крысах-самках в возрасте 14 месяцев, с массой тела 200–230 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». Исследование одобрено Этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии.

Исследуемые группы животных были представлены следующим образом: в 1 группу вошли 10 крыс, получавших на фоне ХЛВ препарат ТВ-103 (находится на стадии доклинических испытаний). В наших исследованиях ТВ-103 применялся в виде растворенного в воде порошка (5% раствор, в 1 мл раствора – 50 мг вещества), который животным вводили в желудок через зонд по 1 мл на 100 г веса (5 мг/кг) ежедневно в течение месяца. Во 2 группе находились 10 животных, на фоне ХЛВ получавших ДГК (Аметис, Россия) в виде порошка, который растворяли в воде (2,5% раствор, в 1 мл раствора – 25 мг вещества). Введение препарата в желудок осуществляли через зонд в дозе 1 мл на 100 г веса (2,5 мг/кг) ежедневно в течение месяца. В контрольную группу вошли 10 животных, подвергавшихся только ХЛВ.

При проведении экспериментов по исследованию ХЛВ на биологические организмы в качестве источника ионизирующего излучения использовался радиоактивный изотоп кобальта (^{60}Co). Облучение проводилось на дистанционном гамма-терапевтическом аппарате Рокус-АМ (Россия). Всех животных ежедневно в течение 10 дней подвергали однократному облучению, длительность одного сеанса – 11 с, перерыв между фракциями – 24 часа. Разовая очаговая доза составляла 0,1 Гр, мощность дозы – 0,6 Гр/мин. Суммарная очаговая доза за весь период облучения составила 1,0 Гр.

При завершении научных исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно приложению № 4 к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного)»).

В качестве материала использовали сыворотку крови и иммунокомпетентные клетки. Всем животным проводилось иммунологическое исследование: определение фагоцитарного числа нейтрофилов и интенсивности фагоцитоза (процентное содержание фагоцитирующих клеток – фагоцитарный индекс, среднее количество поглощенных частиц на одну клетку – фагоцитарное число), определение популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток с помощью моноклональных антител к поверхностным дифференцировочным антигенам методом непрямой иммунофлуоресценции. Подсчет клеток проводили на люминесцентном микроскопе. Содержание иммуноглобулинов (Ig) основных классов определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Статистическая обработка проводилась при помощи программы Statistica 6.0 for Windows. Меры центральной тенденции и рассеяния описывали их средним значением (M) и средним квадратичным отклонением ($\pm\sigma$). Дополнительно рассчитывали ошибку среднего значения.

Определение значимых различий между двумя независимыми выборками проводили по непарному критерию Стьюдента (t). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы был принят равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Содержание лейкоцитов и основных иммунокомпетентных клеток в крови животных при применении антиоксидантов ДГК и ТВ-103 на фоне ХЛВ представлено в таблице 1.

При применении препарата ТВ-103 на фоне ХЛВ в крови животных наблюдали достоверное увеличение общего числа лейкоцитов в 1,3 раза по сравнению с контролем. У крыс, получавших ДГК на фоне ХЛВ мы отмечали тенденцию к некоторому снижению количества лейкоцитов по сравнению с группой животных, принимавших ТВ-103, при этом их уровень по сравнению с контролем достоверно увеличивался в 1,2 раза. Таким образом, зарегистрирована тенденция к сохранению лейкоцитарной реакции у животных на фоне ХЛВ при применении антиоксидантных препаратов, несколько более выраженная при использовании ТВ-103, что свидетельствует о снижении негативного воздействия хронического излучения на лейкоцитарный росток кроветворения при применении указанных антиоксидантных средств.

У крыс в группах 1 и 2 отмечено статистически достоверное увеличение содержания лимфоцитов в крови по отношению к контролю, при этом у животных, получающих ДГК количество лимфоцитов выросло как в сравнении с контролем, так и крысами, принимавшими ТВ-103 (в 2,6 и 1,3 раза, соответственно). При применении антиоксидантных препаратов у животных на фоне ХЛВ отмечалось и снижение негативного воздействия на популяции как CD3+, так и CD19+ лимфоцитов.

Характеристика субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у животных, подвергшихся ХЛВ и получавших антиоксидантные препараты разных групп суммирована в таблице 2.

Таблица 1

Содержание иммунокомпетентных клеток основных популяций в крови экспериментальных животных

Группы	Лейкоциты, $n \times 10^9/\text{л}$	Лимфоциты, %	CD3+, %	CD19+, %
Контрольная	4,9 $\pm$ 0,19	18,8 $\pm$ 0,95	28,9 $\pm$ 5,51	19,6 $\pm$ 0,52
Группа 1	6,3 $\pm$ 0,37*	36,8 $\pm$ 4,30*	33,4 $\pm$ 4,28*	22,4 $\pm$ 1,80*
Группа 2	6,1 $\pm$ 0,28*	49,6 $\pm$ 3,68*	37,5 $\pm$ 4,77*	23,2 $\pm$ 1,31*

Примечание: здесь и далее – различия показателей в сравнении с контрольной группой достоверны ($p < 0,05$).

Установлено, что при применении ТВ-103 у животных на фоне ХЛВ увеличивалось содержание CD4+ лимфоцитов. Что касается CD8+ лимфоцитов, то в данной группе отмечено достоверное их повышение по сравнению с контролем в 1,4 раза.

У крыс, принимавших антиоксидант ДГК, количе-

ство CD4+ лимфоцитов оказалось достоверно выше контроля в 1,3 раза. Содержание CD8+ лимфоцитов у них также достоверно увеличилось по сравнению с контролем в 1,4 раза. При этом по сравнению с животными 1 группы количество CD4+ и CD8+ лимфоцитов среди крыс 2 группы было несколько выше.

Дисбаланс между количеством CD4+ и CD8+ лимфоцитов нашел отражение в индексе их соотношения – ИРИ II. Так, в организме лабораторных животных, на фоне ХЛВ получающих антиоксидантные препараты, иммунорегуляторный индекс – ИРИ II в 1 группе имел тенденцию к снижению по сравнению с контролем.

Продукция Ig основных классов у экспериментальных животных представлена в таблице 3.

Таблица 2
Субпопуляционный состав Т-лимфоцитов в крови экспериментальных животных

Группы	CD4+, %	CD8+, %	ИРИ II
Контрольная	21,2±2,25	21,8±2,0	0,97
Группа 1	23,9±1,87	27,3±4,29*	0,88
Группа 2	26,3±2,20*	28,9±1,95*	0,91

Таблица 3
Содержание Ig основных классов в крови экспериментальных животных

Группы	IgM	IgG	IgA	ЦИК
Контрольная	0,48±0,03	4,95±0,2	0,54±0,04	79,7±2,3
Группа 1	0,56±0,05*	5,23±0,12*	0,73±0,07*	80,3±3,9
Группа 2	0,62±0,05*	5,22±0,11*	0,74±0,06*	86,6±2,6*

Результаты исследования свидетельствуют о достоверном увеличении уровня Ig всех изучаемых классов в крови животных при использовании как ТВ-103, так и ДГК. Содержание в этих группах IgM в среднем превышало контрольные значения в 1,3 раза, IgA – в 1,4 раза, IgG – в 1,1 раза. При этом максимум образования циркулирующих иммунных комплексов зарегистрирован при применении антиоксиданта ДГК, что достоверно выше контрольных показателей.

Основные показатели фагоцитарной защиты у животных разных групп наблюдения представлены в таблице 4.

Таблица 4
Характеристика фагоцитарной защиты у экспериментальных животных

Группы	Фагоцитарный показатель, %	Фагоцитарное число, кл/фагоцит
Контрольная	28,2±3,26	2,73±0,2
Группа 1	37,5±2,86*	3,4±0,24*
Группа 2	40,9±3,81*	3,8±0,40*

Применение антиоксидантных препаратов значительно повысило фагоцитарную активность в крови лабораторных животных. Так, в результате использования препарата ТВ-103 и фагоцитарный показатель, и фагоцитарное число достоверно увеличились по сравнению с контролем в 1,3 раза. Интенсивность фагоцитоза у животных при применении ДГК достоверно увеличилась по сравнению с контролем в 1,5 раза, при этом отмечена тенденция к увеличению данного показателя в сравнении с 1 группой животных. Фагоцитарное число у крыс в этой группе достоверно увеличилось в 1,4 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, выполненное исследование позволило установить, что использование антиоксидантных препаратов при ХЛВ положительно влияет на иммунный статус лабораторных животных. Некоторые преимущества в иммуномодулирующем действии имеет ДГК, поскольку его применение позволяет несколько более эффективно повысить противорадиационную защиту у экспериментальных животных за счет стимуляции Т-клеточного звена иммунитета и повышения фагоцитарной активности. По нашему мнению, антиоксиданты, прежде всего, флавоноидной природы, могут быть рекомендованы к применению у лиц, подвергшихся острому и хроническому лучевому воздействию, так как оказывают выраженное протекторное действие

Выводы

1. Применение антиоксидантных препаратов у лабораторных животных при ХЛВ приводит к восстановлению лимфоцитарной реакции, значительному снижению дефицита CD3+ лимфоцитов, более выраженному при использовании ДГК.

2. Антиоксиданты позволяют снизить дефицит CD-4 лимфоцитов, возникающий на фоне ХЛВ, при этом ДГК обладает более выраженным протекторным действием по сравнению с ТВ-103.

3. Применение антиоксидантных препаратов при ХЛВ достоверно стимулирует рост количества CD19+ лимфоцитов и повышает их функциональную активность в обеспечении макроорганизма иммуноглобулинами основных классов.

4. Влияние антиоксидантов на фагоцитарную активность на фоне ХЛВ выражается достоверным повышением эффективности фагоцитарных реакций – как их поглотительной, так и переваривающей способности, особенно при применении ДГК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова А.Е. Антигипоксическая активность и механизмы действия некоторых синтетических и природных соединений // Эксперим. и клин. фармакол. 2005. Т.68. №5. С.72–78.

2. Сравнительная фармакокинетика дигидрокверцетина у крыс после введения внутрь в виде субстанции липосомального препарата фламена-Д / Жердев В.П. [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. 2010. №1. С.23–25.

3. Журавлёв А.И., Зубкова С.М. Антиоксиданты.

Свободно-радикальная патология. М.: Медицина, 2008. 269 с.

4. Экспериментальная и клиническая оценка антиокислительной эффективности многокомпонентного антиоксидантного препарата / Ланкин В.З. [и др.] // Тер. архив. 2004. №8. С.10–15.

5. Макарова М.Н., Макаров В.Г., Зенкевич И.Г. Антирадикальная активность флавоноидов и их комбинаций с другими антиоксидантами // Фармация. 2004. №2. С.30–32.

6. Антиоксиданты – место и роль в онкологии /

Немцова Е.Р. [и др.] // Рос. онколог. журн. 2003. №5. С.48–53.

7. Антиоксиданты в интенсивной терапии / Немцова Е.Р. [и др.] // Рос. мед. журн. 2006. №4. С.18–22.

8. К вопросу об идентификации флавоноида ди-гидрокверцетина / Нифантьев Э.Е. [и др.] // Журнал общей химии. 2006. Т.76, №1. С.164–166.

9. Антиоксиданты как нейропротекторы при ишемическом инсульте / Поварова О.В. [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. 2003. №3. С.69–73.

Поступила 24.02.2011

Ольга Владимировна Бубинец, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького 95;
Olga V. Bubinets,
95 Gorkogo Str., Blagoveshensk, 675000;
E-mail: agma@amur.ru



УДК 616.24-002.4-099:616.423]-07

К.В.Самсонов

ЛИМФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ ЭНДОТОКСИКОЗА ПРИ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЕГКИХ

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАН, Благовещенск

РЕЗЮМЕ

У 170 больных гнойно-некротическими заболеваниями легких исследовали показатели внесосудистой жидкости легких и объемной скорости лимфотока. Установлено, что лимфологические методы оказались наиболее точными в диагностике эндотоксикоза при гнойно-некротических заболеваниях легких. Показатели внесосудистой жидкости легких могут использоваться как диагностический тест эндотоксикоза различной степени. Параметры объемной скорости лимфотока можно применять как диагностический критерий выраженности эндотоксикоза.

Ключевые слова: эндотоксикоз, лимфа, гнойно-некротические заболевания легких.

SUMMARY

K.V.Samsonov

LYMPHOLOGIC ASPECTS OF ENDOTOXICOSIS DIAGNOSTICS IN NECROTIC SUPPURATIVE PULMONARY DISEASES

170 patients with necrotic suppurative pulmonary diseases were examined upon the characteristics of extravascular pulmonary liquid and volume speed of the blood flow. It was established that lymphologic methods turned out to be the most accurate in the diagnostics of endotoxycosis at necrotic suppurative pulmonary diseases. The characteristics of extravascular pulmonary liquid can be used as a diagnostic test of endotoxycosis of a different degree. The parameters of volume speed of the blood flow can be used as a diagnostic criterion of endotoxycosis intensity.

Key words: endotoxycosis, necrotic suppurative pulmonary disease.

Ведущей причиной тяжелого течения гнойно-некротических заболеваний легких (ГНЗЛ) и эмпиемы плевры является эндогенная интоксикация, связанная, прежде всего, с бактериальным эндотоксикозом и его осложнениями в виде полиорганной недостаточности [2, 8].

Основная система, обезвреживающая и выводящая бактериальные токсины и продукты их жизнедеятельности из легких – лимфатическая. Воздействие на