

реакции, хронического характера которой приводит к развитию так называемой стрессовой болезни, а многие эффекты гиподинамии обусловлены действием последней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние гепарина на гиподинамию крыс, вызванную этиловым спиртом / К. А. Пурсанов [и др.] // Медицинский альманах. – 2009. – № 1. – С. 127-128.
2. Влияние гиподинамии и гипокинезии на тимус и паравентрикулярное ядро гипоталамуса развивающегося организма / В. А. Агеева [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2004. – № 12. – С. 30-31.
3. Влияние иммобилизационного стресса на гистологическую структуру надпочечников белых крыс / И. К. Иванова [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2009. – №66. – С. 258- 259.
4. Гиподинамия: как переломить ситуацию. Современные рекомендации по планированию физической активности (обзор) / К. Р. Амлаев [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, №5. – С. 518-522.
5. Коваленко, Е. А. Гипокинезия / Е. А. Коваленко, Н. Н. Гусовский. М.: Медицина, 1990. – 319 с.
6. Федоров, И. В. Проблемы космической биологии. Обмен веществ при гиподинамии / И. В. Федоров. – М.: Наука, 1982. – Т. 44. – 254 с.
7. Lopez, A. D. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data / A.D. Lopez, C.D. Mathers, M. Ezzati et al. // Lancet. – 2006. – Vol. 367, iss. 9524. – P. 1747-1757.

ОБРАЗОВАНИЕ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ КЛЕТКАМИ ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРОКСИИ ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВВЕДЕНИИ ЛИПОСОМ С N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНОМ

Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Актуальность. Развитие бронхолегочной дисплазии у новорожденных связано с формированием стойкого воспаления в воздухопроводящих путях. Одним из факторов такого воспаления

является окислительный стресс, вызванный усиленной продукцией свободных радикалов в условиях гипероксии на фоне недостаточности антиоксидантов, которая имеет место у недоношенных новорожденных [1]. В связи с этим актуальным является изучение возможности усиления системы антиоксидантной защиты в легких и предотвращения повреждения молекулярных структур легких в условиях гипероксии. N-ацетилцистеин является известным антиоксидантом, который при ингаляционном введении оказывает воздействие непосредственно на клетки в легких. Способность N-ацетилцистеина обезвреживать свободные радикалы обусловлена наличием в его структуре сульфгидрильной группы, кроме того он может использоваться клетками в качестве предшественника глутатиона [2]. По данным литературы, включение N-ацетилцистеина в состав липосом способствует пролонгированию его действия, облегчает его проникновение в клетки и, тем самым, повышает его терапевтическую эффективность [6].

Цель исследования – оценить продукцию активных форм кислорода и азота клетками легких в условиях длительной экспериментальной гипероксии при ингаляционном введении липосом, содержащих N-ацетилцистеин.

Методы исследования.

При проведении экспериментов соблюдались этические нормы и правила работы с лабораторными животными. Для создания условий гипероксии новорожденных морских свинок в течение суток после рождения помещали в плексигласовую камеру, в которой в течение всего времени инкубации поддерживали концентрацию кислорода не менее 70% (температура 20-25°C, относительная влажность 50-80%). Длительность наблюдения составляла 3 и 14 суток. Контрольные животные дышали обычным воздухом. В каждой группе наблюдения было по 6-8 животных. Многослойные липосомы, содержащие N-ацетилцистеин (250 мг/кг), L- α -дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ) (50 мг/кг), и натрий-фосфатный буфер (0,1 моль/л) с ЭДТА (0,1 ммоль/л), pH=7,4, получали методом механического диспергирования. Свежеприготовленную смесь липосом вводили ингаляционно с помощью компрессорного небулайзера (Omron, Китай) 1 раз в два дня. По окончании эксперимента животных наркотизировали и получали бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ) для исследования. После центрифугирования (10 мин, 200 g, 4°C) и подсчета общего числа клеток БАЛЖ, клеточную

суспензию ($2 \cdot 10^6$ клеток/мл) вносили в кювету для изучения интенсивности продукции активных форм кислорода (АФК) методом люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ). Продукция АФК клетками регистрировалась в ответ на адгезию к стеклянной поверхности кюветы, а также при дополнительной стимуляции липополисахаридом (ЛПС) и латексом. В каждом случае интенсивность продукции АФК рассчитывали, как площадь под записанной кривой ЛЗХЛ за установленный промежуток времени, и выражали в отн.ед. О продукции монооксида азота судили по концентрации нитрит-ионов (стабильных метаболитов NO) в БАЛЖ. Уровень нитрит-ионов определяли спектрофотометрически с использованием реактива Грисса.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 10,0. Для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический тест Манна-Уитни для независимых выборок. Отличия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Данные представлены в виде: медиана (25% - 75%).

Результаты и их обсуждение.

Продукция АФК клетками БАЛЖ при адгезии была усилена после воздействия гипероксии в течение 3 и 14 суток по сравнению с соответствующей группой контроля (в 2,7 и 2,9 раза соответственно, $p < 0,05$). Реакция клеток на дополнительные стимулы была достоверно выше спустя 3 суток гипероксии, и составляла 227% от контроля в ответ на ЛПС, $p < 0,05$) и 241% в ответ на латекс ($p < 0,05$). Обращало на себя внимание то, что спустя 14 суток гипероксии ответ клеток на ЛПС и латекс стал ниже, чем в контроле (67% от контроля в ответ на ЛПС и 72% от контроля в ответ на латекс, в обоих случаях $p < 0,05$). Это можно расценивать как неблагоприятный признак, свидетельствующий об ослаблении иммунореактивности клеток в условиях длительной гипероксии.

Уровень нитрит-ионов в БАЛЖ животных, подвергавшихся гипероксии 3 суток, достоверно превышал контрольные значения, в среднем, в 2,8 раза ($p < 0,05$). Повышение уровня катаболитов оксида азота в бронхоальвеолярном пространстве новорожденных морских свинок может рассматриваться как важный физиологический механизм защиты от повреждающего действия кислорода, обусловленный противовоспалительными, антиапоптотическими эффектами NO и его антиспазматическим влиянием на тонус сосудов

и бронхов [3]. Продолжительное воздействие гипероксии (14 суток) сопровождалось уменьшением уровня катаболитов NO до 27% от контроля ($p < 0,05$) в БАЛЖ.

Введение липосом с N-ацетилцистеином у животных на фоне гипероксии (как 3, так и 14 суток воздействия) способствовало снижению интенсивности ЛЗХЛ клеток БАЛЖ при адгезии до уровня контрольных значений. Кроме того, отмечалась нормализация продукции АФК клетками в ответ на дополнительную стимуляцию ЛПС и латексом (показатели ЛЗХЛ достоверно не отличались от групп контроля). Выявленные эффекты N-ацетилцистеина в отношении продукции АФК не могут быть следствием прямого антиоксидантного действия препарата, поскольку мы определяли не содержание свободных радикалов в БАЛЖ, а их образование клетками (*ex vivo*). Отчасти это может быть обусловлено модулирующим влиянием N-ацетилцистеина на выработку молекул адгезии и хемокинов, которые являются регуляторами миграции клеток воспаления (важных источников оксидантов) в легкие [4].

В условиях 3-суточной гипероксии на фоне введения липосом, содержащих N-ацетилцистеин, медианный уровень нитрит-ионов в БАЛЖ новорожденных морских свинок оставался повышенным (был в 4 раза выше, чем в контроле, $p < 0,05$), и достоверно не отличался от группы «гипероксия 3 суток». После ингаляционного введения липосом с N-ацетилцистеином на фоне 14-суточной гипероксии концентрация нитрит-ионов в БАЛЖ составила 1,01 (0,89 – 1,09) мкмоль/л, что достоверно выше, чем в группах «гипероксия 14 суток» (0,08 (0,0 – 0,18 мкмоль/л, $p < 0,05$) и «контроль 14 суток» (0,30 (0,16 – 0,57) мкмоль/л, $p < 0,05$). Полученные результаты согласуются с данными литературы о росте активности NO-синтаз при длительном использовании N-ацетилцистеина [5].

Выводы.

В условиях экспериментальной гипероксии ингаляционное введение липосом с N-ацетилцистеином способствует уменьшению интенсивности продукции активных форм кислорода клетками БАЛЖ при адгезии и нормализации ответа клеток на введение липополисахарида и латекса.

Введение липосом с N-ацетилцистеином стимулирует образование монооксида азота в легких, что подтверждается увеличением концентрации нитрит-ионов в БАЛЖ новорожденных морских свинок.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каганова, Т.И. Значение перекисного окисления липидов и антиоксидантов в развитии бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей / Т.И. Каганова, В.Д. Романова-Салмина // Успехи современного естествознания. – 2010. - №5. - С.109-111.
2. Behr, J. Intracellular glutathione and bronchoalveolar cells in fibrosing alveolitis: effect of N-acetylcysteine / J. Behr, B. Degenkolb, F. Krombach, C. Vogelmeier // Eur. Resp. J. – 2002. – Vol. 19. – P. 906-911.
3. Howlett, C.E. Inhaled nitric oxide protects against hyperoxia-induced apoptosis in rat lungs / C.E. Howlett, J.S. Hutchison, J.P. Veinot, A. Chiu, P. Merchant [et al.] // Am.J.Physiol. – 1999. – Vol. 277. – P. L596-605.
4. Radomska-Lesniewska, D.M. Influence of N-acetylcysteine on ICAM-1 expression and IL-8 release from endothelial and epithelial cells / D.M. Radomska-Lesniewska, A.M. Sadowska, F.G. Van Oberveld, U. Demkow, J. Zielinski [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2006. – Vol. 57, suppl. 4. – P. 325-334.
5. Rauchova, H. Chronic N-acetylcysteine administration prevents development of hypertension in N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester-treated rats: the role of reactive oxygen species / H. Rauchova, O. Pechanova, J. Kunes, M. Vokurkova, Z. Dobesova [et.al.] // Hypertens. Res. – 2005. – Vol. 28. – P. 475-482.
6. Suntres, Z.E. Liposomal antioxidants for protection against oxidant-induced damage / Z.E. Suntres // J. Toxicol. – 2011. – Vol. 2011. – ID.152474, 16 p.

БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КУКУРУЗНО-САПРОПЕЛЕВОГО КОРМА КАК ПЕРСПЕКТИВНОГО ИСТОЧНИКА КОРМОВЫХ НУТРИЕНТОВ

Кравчик Е. Г., Величко М. Г.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

Актуальность: побочные продукты производства кукурузного крахмала, такие как глютен, сырой и сухой кукурузный корм, обладают высокой кормовой ценностью [1-6].

Наиболее изучен химический состав кукурузного глютена, который являясь высокобелковым продуктом нашел применение в