

# РЕАКЦИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ КРЫС С ПЕРИТОНИТОМ И ВВЕДЕНИЕМ L-АРГИНИНА, АМИНОГУАНИДИНА

Ковалева В. А., Ермакович М. С., Сподникайло А. А.

Гродненский государственный медицинский университет,

Научные руководители: Гусаковская Э. В., Максимович Н. Е.

**Актуальность.** Течение острого перитонита характеризуется выраженными нарушениями иммунной защиты, что обуславливает назначение соответствующей патогенетической терапии. Однако недостаточная изученность механизмов развития перитонита, в частности, участия монооксида азота (NO) в регуляции иммунного ответа лейкоцитов [1], может влиять на эффективность проводимого лечения. Определение роли NO, образуемого из аминокислоты L-аргинин (L-Arg) при участии различных изоформ NO-синтазы (NOS) в развитии перитонита может быть достигнуто путем введения субстрата NOS – L-Arg и ингибитора индуцируемой изоформы NOS – аминугуанидина (AG). Таким образом, актуальным является изучение реакции лейкоцитов крови крыс с перитонитом в условиях введения данных модуляторов NOS, так как состояние иммунной системы в значительной степени обуславливает тяжесть и исход инфекционно-воспалительного процесса.

**Цель.** Изучить реакцию лейкоцитов крови крыс с перитонитом и введением L-аргинина, аминугуанидина.

**Методы исследования.** Животные были разделены на 5 серий, которым внутрибрюшинно, 0,6 мл/100 г массы тела, вводили: 1-й серии (контроль) – 0,85%-й раствор NaCl, 2-5-й серии – 15 % каловую взвесь (ЭП), после чего внутримышечно вводили: 1-2-й серии – 0,85 % раствор NaCl, 3-й серии (ЭП+L-Arg) – субстрат NOS – L-аргинин (L-Arg), 300 мг/кг («Sigma», США), 4-й серии (ЭП+AG) – ингибитор индуцируемой изоформы NOS (iNOS) – аминугуанидин (AG), 15 мг/кг («Sigma», США), 5-й серии (ЭП+L-Arg+AG) – L-Arg («Sigma», США) и AG («Sigma», США) в аналогичной дозе. В свою очередь, в каждой из пяти серий выделены 3 подгруппы крыс соответственно срокам проведения исследования – спустя полсутки (n=6), спустя 1 сутки (n=6) и спустя 3 суток (n=6). Кровь крыс наносили на предметное стекло, после чего мазки высушивали, фиксировали в абсолютном спирте и окрашивали азур-эозином Романовского, разведенным в соотношении 1:10 на фосфатном буфере (pH=6,4) в течение 15 минут, затем промывали в кювете с проточной водой и просушивали [2]. В приготовленных мазках подсчитывали относительное содержание (%) миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, базофилов (тучных клеток),

моноцитов (макрофагов), лимфоцитов, учитывая 200 лейкоцитов. С целью определения лейкоцитарного профиля полученные значения интерпретировали в абсолютные числа, исходя из общего количества лейкоцитов крови. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США) с использованием непараметрического критерия Краскелла-Уоллиса и апостериорных сравнений по критерию Данна.

**Результаты и их обсуждение.** Использование комбинации L-Arg и AG приводило к уменьшению содержания лейкоцитов в крови крыс с перитонитом спустя полсуток – в 1,6 раза ( $p>0,05$ ), спустя 1 сутки – в 1,8 раза ( $p<0,05$ ), спустя 3 суток – в 2 раза ( $p<0,01$ ), по сравнению со значениями в подгруппах животных с ЭП без введения препаратов. При этом общее количество лейкоцитов в крови спустя 1 сутки ЭП было меньше, чем спустя полсуток, в 1,1 раза ( $p>0,05$ ), а спустя 3 суток – меньше, чем спустя полсуток, в 1,2 раза ( $p<0,05$ ), и чем спустя 1 сутки – в 1,2 раза ( $p<0,05$ ), указывая на наименьшую выраженность реакции со стороны красного костного мозга. По сравнению с животными в «контроле», у крыс с сочетанным введением L-Arg и AG продолжали сохраняться изменения изучаемого показателя в крови во все изучаемые сроки. Кроме того, общее количество лейкоцитов крови было меньше, чем при изолированном введении L-Arg, спустя полсуток – на 32 (30; 39) %,  $p<0,01$ , спустя 1 сутки – на 40 (39; 40) %,  $p<0,01$ , спустя 3 суток – на 43 (41; 45) %,  $p<0,01$ , и чем при введении AG спустя полсуток – на 16 (14; 19) %,  $p<0,01$ , спустя 1 сутки – на 24 (14; 25) %,  $p<0,01$ , спустя 3 суток – на 26 (25; 27) %,  $p<0,01$ . Таким образом, развитие ЭП у крыс с введением комбинации L-Arg и AG характеризовалось наименее выраженным лейкоцитозом во все изучаемые сроки, что может быть следствием реализации антиадгезивного эффекта L-Arg и ингибирования образования активных форм кислорода и провоспалительных цитокинов в условиях введения AG, приводя к уменьшению интенсивности воспаления [3; 4].

При изучении относительной лейкоцитарной формулы у крыс с сочетанным введением L-аргинина и аминоксидина выявлено, что содержание в крови морфологически и функционально незрелых нейтрофилов – метамиелоцитов и палочкоядерных форм было наименьшим, по сравнению с результатами у животных с ЭП без их введения либо с изолированным использованием изучаемых модуляторов NOS, наряду с отсутствием миелоцитов и увеличением содержания лимфоцитов.

Также при ЭП с сочетанным введением L-аргинина и аминоксидина, отмечены изменения абсолютного количества различных видов нейтрофилов по сравнению с результатами при перитоните без их введения. Так, спустя полсуток перитонита в крови крыс отмечено уменьшение содержания сегментоядерных нейтрофилов – в 1,7 раза ( $p<0,05$ ), палочкоядерных форм – в 2,3 раза ( $p<0,01$ ), метамиелоцитов – в 11,1 раза ( $p<0,001$ ). Спустя 1 сутки ЭП содержание нейтрофилов в крови крыс с сочетанным введением L-Arg и AG уменьшилось: сегментоядерных форм – в 1,8 раза ( $p<0,05$ ), палочкоядерных форм – в 3,4 раза ( $p<0,01$ ), палочкоядерных форм – в 3,4 раза ( $p<0,001$ ), метамиелоцитов – в

5,2 раза ( $p < 0,001$ ), по сравнению со значением показателя у животных с перитонитом без введения изучаемых модуляторов NOS. Спустя 3 суток перитонита у крыс с применением комбинации L-Arg и AG количество нейтрофилов в крови уменьшилось: сегментоядерных форм – в 2,7 раза ( $p < 0,01$ ), палочкоядерных – в 5,7 раза ( $p < 0,01$ ), метамиелоцитов – в 6,4 раза ( $p < 0,01$ ), по сравнению со значениями в группе животных с перитонитом без введения модуляторов NOS. Отсутствие миелоцитов в крови крыс с ЭП и введением комбинации L-Arg и AG свидетельствует о регенераторном сдвиге лейкоцитарной формулы влево, тогда как у животных с ЭП, в том числе при изолированном введении L-Arg и AG, отмечен гиперрегенераторный ядерный сдвиг влево, что указывает на противовоспалительный эффект сочетанного использования L-Arg и AG, что может быть обусловлено коррекцией микроциркуляции и метаболических нарушений в условиях использования L-Arg и уменьшением повреждающего действия окислительного стресса путем угнетения iNOS аминоксидином в отношении иммунокомпетентных клеток [1; 4].

В свою очередь, не выявлено изменений в абсолютном содержании эозинофилов и базофилов в крови крыс с сочетанным введением L-аргинина и AG, по сравнению с результатами при ЭП, в том числе с изолированным введением данных модуляторов NOS во все изучаемые сроки ( $p > 0,05$ ).

При изучении абсолютного числа агранулоцитов в крови крыс с ЭП отмечено уменьшение содержания моноцитов спустя 3 суток – в 2 раза ( $p < 0,05$ ), как отражение «угасания» воспалительного процесса, а также увеличение количества лимфоцитов в крови спустя 1 сутки – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), по сравнению со значениями показателей при ЭП без их введения, указывая на достаточную активность специфической иммунной защиты. В сравнении со значением показателя при использовании L-Arg, в условиях сочетанного применения L-Arg и AG количество моноцитов в крови было меньше спустя полчаса – в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), спустя 1 сутки – в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), спустя 3 суток – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ). Кроме того, содержание моноцитов в крови крыс с комбинированным введением L-Arg и AG было меньше, чем при введении AG, спустя 1 сутки и 3 суток – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ), соответственно.

**Выводы.** Таким образом, сочетанное применение субстрата NOS – L-аргинина и ингибитора iNOS – аминоксидина у крыс с ЭП приводило к менее выраженным количественным и качественным изменениям лейкоцитов крови, чем у животных с перитонитом без их введения. Об этом свидетельствовало уменьшение общего количества лейкоцитов и их видов – метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, отсутствие миелоцитов, увеличение содержания лимфоцитов. Следует отметить, что корректирующие эффекты комбинации L-аргинина и аминоксидина в отношении реакции лейкоцитов у крыс с ЭП выражены больше, чем при использовании только субстрата NOS – L-аргинина либо только ингибитора iNOS – аминоксидина. Это может быть обусловлено поддержанием метаболизма иммунокомпетентных клеток в условиях введения аминоксидины

L-аргинин, а также уменьшением цитотоксического эффекта активных форм азота в отношении перитонеальных фагоцитов вследствие ингибирования iNOS аминоксидом.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аргинин в медицинской практике / Ю. М. Степанов [и др.] // Журн. АМН України. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 340–352.
2. Камышников, В. С. Методы клинических лабораторных исследований / В. С. Камышников. – МЕДпресс, 2017. – 720 с.
3. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия / В. Л. Кузнецова [и др.] // Соврем. пробл. науки и образования. – 2015. – № 4. – С. 462.
4. Santhanam, A. V. R. Vascular regulation by the L-arginine metabolites, nitric oxide and agmatine / A. V. R. Santhanam, D. V. Madhu // Pharm. Res. – 2004. – Vol. 49. – P. 397–414.

## ОЦЕНКА ОСВЕДОМЛЕННОСТИ О ВИТАМИНЕ Д СТУДЕНТАМИ-МЕДИКАМИ НА НАЧАЛЬНОМ ЭТАПЕ ОБУЧЕНИЯ В ВЫСШЕМ УЧЕБНОМ ЗАВЕДЕНИИ

Комысова В. К.

Гродненский государственный медицинский университет

Научные руководители: ассист. Новицкая А. О., канд. мед. наук, доц. Томчик Н. В.

**Актуальность.** За последние десятилетия результаты научной деятельности свидетельствуют о многих достижениях в понимании влияния витамина Д на здоровье человека. Наблюдается рост новых данных, охватывающих как фундаментальную биологию витамина Д, так и клинические последствия дефицита и эффекты дополнительного приема этого препарата.

Холекальциферол участвует в работе всех органов и систем организма, принимает непосредственное участие в усвоении кальция и фосфора – важнейших для костной ткани макроэлементов. От уровня витамина Д в крови также зависит состояние кожи, волос, ногтей и зубов. Витамин Д регулирует обменные процессы в клетках, способствует лучшему усвоению углеводов, повышает чувствительность нервных волокон, препятствует образованию холестериновых бляшек.

Холекальциферол стимулирует работу иммунной системы, помогая организму бороться с заболеваниями бактериальной и вирусной природы. Достаточный уровень витамина Д снижает риск развития аутоиммунных процессов и злокачественного перерождения клеток, положительно влияет на дыхательную функцию.