

4. Деркач М.П., Гумецький Р.Я., Чабан М.Є. Курс варіаційної статистики. –Київ: Вища школа, 1977. -208 с.
5. Г.Ф.Лакин. Биометрия. – Москва: Высшая школа, 1968. -293 с.
6. Малиновская Н.К. Мелатонин в лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки //Мелатонин в норме и патологии / Под ред. Ф.И.Комарова, С.И.Рапопорта, Н.К.Малиновской, В.Н.Анисимова. –М.: ИД МЕДПРАКТИКА, 2003. –Гл. 9., С. 147-162.
7. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації. –Чернівці: Медакадемія, 2003. -152 с.
8. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині / Беркало Л.В., Бобович О.В., Гейко О.О., [та інш.]. -Полтава, 1997. -271 с.
9. Смирнов А.Н. Ядерные рецепторы мелатонина // Биохимия. -2001. -Т.66, N1. -С. 28-36.
10. Проблема нормы в токсикологии / И.М.Трахтенберг, Сова Р.Е., Шефтель В.О. [та інш.]. –М.: Медицина, 1991. -208 с. –С.42-43.
11. Турчина С.И., Шляхова Н.В. Сезонные ритмы продукции мелатонина и иммунореактивности у здоровых детей. -Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований, Тезисы докладов, СПб, 2008.- С. 41].
12. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. –Полтава, 1992. –С.120-155.
13. Цебржинский О.И. Количественное определение супероксида НСТ-тестом в тканях // Тези доповідей науково-практичної конференції "Організація токсикологічної допомоги в Україні". –Київ, 2002. – С. 65-66.
14. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals // News Physiol. Sci. -2000. -Vol. 15. -P.246-250.

Резюме

ПРОДУКЦИЯ СУПЕРОКСИДА В ТОНКОЙ КИШКЕ КРЫС ПРИ ГИПО- И ГИПЕРМЕЛАТОНИНЕМИЯХ

Анасевич Я.М., Цебржинський О.И.

В тонкой кишке крыс 30-суточная гипомелатонинемия способствует увеличению продукции супероксиданионрадикала от фагоцитарных электронно-транспортных цепей, а 30-суточная (содержание крыс в темноте и пероральное введение мелатонина в ежедневной дозе 1 мг/кг массы тела) гипермелатонинемия – от митохондриального окисления, которая отвечает антиоксидантным способностям мелатонина. Выход супероксида из микросомальной электронно-транспортной цепи окисления в обоих случаях не изменялся.

Ключевые слова: тонкий кишечник, супероксиданионрадикал, гипомелатонинемия, гипермелатонинемия.

Стаття надійшла 16.11.10 р.

PRODUCTS OF SUPEROXIDE IN THE THIN BOWEL OF RATS AT HYPO- AND HYPERMELATONINEMIA

Anasevich Ya.M., Cebrzhins'kiy O.I.

In a small intestine of rats each 30 days hypomelatoninemia conducted production of increase of superoxidanion radical from chains of powered and transported fagocyte, and each 30 days (the maintenance of rats in the dark and perorals melatonin introduced in a daily dose of weight of 1 mg/kg) hypermelatoninemia is from mitochondrial oxidation which is answers antioxidant to abilities of melatonin. Exit of superoxid from microsoming and power-transport chain of oxidation was not changed in both cases.

Keywords: small intestines, superoxidanionradical, hypomelatoninemia, hypermelatoninemia.

УДК: 611.018.5.013.8:611-018.53:615.014.41

А.К. Удовський, О.Л. Горла, Л.Н. Мопсева
Діагностика проблем криобіології та криомедицини ІНП України, м. Харків

ВЛИЯНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ КОРДОВОЙ КРОВИ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ, ПОДВЕРГНУТЫХ ГИПОТЕРМИЧЕСКОМУ ХРАНЕНИЮ

Полученные результаты обосновывают перспективу включения низкомолекулярной фракции кордовой крови и Актовегина в состав восстанавливающих сред после гипотермического хранения лейкоцитов для повышения их фагоцитарной активности.

Ключевые слова: кордовая кровь, актовегин, лейкоциты.

Работа выполнена согласно плану НИР ИПКиК НАН Украины в отделе биохимии холодовой адаптации по теме № 21 "Використання низьких температур для виділення біологічно активних низькомолекулярних компонентів (менше 5 кДа) з кордової крові тварин з метою отримання ранозагоюючих препаратів" (№ДР 0105U003917).

Совершенствование технологии хранения лейкоконцентрата до трансфузии представляет большой интерес для медицинской практики [14, 7]. Хранение лейкоцитов в условиях гипотермии (+4°C) является одним из доступных и простых методов для широкого применения в трансфузиологии [6]. Накопленный опыт свидетельствует о том, что жизнеспособность лейкоцитов в условиях положительных температур (при +4°C)

сохраняется лишь до 24-х часов [10, 6]. Такой непродолжительный срок хранения обусловлен быстрым истощением энергетического потенциала гранулоцитов, что в свою очередь проявляется в ингибировании их основных функций: способности к хемотаксису и фагоцитозу [16, 8]. В ряде экспериментальных исследований по поиску растворов для хранения лейкоцитов, обеспечивающих сохранность клеток, было предложено использование синтетических сред на основе бикарбонатного буфера, глюкозы, АТФ, НАДН, НАДФН и др. [18, 17, 20]. Однако, несмотря на определенные достижения, восстановление функциональной активности лейкоцитов после хранения требует дальнейшего изучения.

Ранее в работах [15, 13] было показано, что препараты Actovegin® и Solcoseryl®, полученные из крови молочных телят, оказывают *in vitro* стимулирующее действие на фагоцитоз и поглощение кислорода нейтрофилами донорской крови. В проведенных нами исследованиях *in vitro* и *in vivo* было установлено, что близкая к этим препаратам по происхождению низкомолекулярная фракция из кордовой крови крупного рогатого скота обладает более выраженным иммуномодулирующим действием, по сравнению с препаратом сравнения - Актовегином [2].

Целью работы было изучение влияния низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови крупного рогатого скота на фагоцитарную активность лейкоцитов, подвергнутых гипотермическому хранению.

Материал и методы исследования. Выделение низкомолекулярной фракции с молекулярной массой до 5 кДа из цельной кордовой крови КРС проводили методом ультрафильтрации [1] с использованием мембранного модуля фирмы “Sartorius” (Германия). После ультрафильтрации ФКК подвергали лиофилизации [9] и затем хранили при - 80°C. В качестве препарата сравнения использовали коммерческий препарат Актовегин (40 мг/мл сухого веса), представляющий собой депротенинизированный гемодериват из крови молочных телят. Лейкоцитарную массу получали из донорской крови по методу [10]. Влияние низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови (ФКК) и Актовегина на функциональную активность лейкоцитов, подвергнутых гипотермическому хранению в течение 24 часов, оценивали по фагоцитарной активности [11] и бактерицидной активности нейтрофилов [4]. Препараты в каждой серии экспериментов вносили в среду инкубации в объеме 10% от среды. Выявление максимальной биологической активности ФКК и Актовегина проводили в пределах содержания фракции и препарата в инкубационной среде от 0,05 до 3,0 мг/мл. В контрольные пробы вносили эквивалентный объем физиологического раствора.

Для оценки фагоцитарной активности объектом фагоцитоза служила суточная инактивированная культура *Staphylococcus aureus* штамм №209 (2 млрд. кл./мл, в физиологическом растворе). Определяли процент фагоцитирующих нейтрофилов (ФН₄₅ и ФН₁₂₀) и среднее количество микробных тел на один нейтрофил – фагоцитарное число (ФЧ₄₅ и ФЧ₁₂₀), характеризующее поглотительную способность клеток, после 45 и 120 минут инкубации. Коэффициент завершенности фагоцитоза (КФЧ), характеризующего переваривающую активность нейтрофилов, оценивали по отношению фагоцитарного числа после 45 мин инкубации к фагоцитарному числу через 120 мин инкубации [11, 12]. Для адекватной оценки фагоцитарной реакции ставили пробу с добавлением ингибитора фагоцитоза – колхицина в конечной концентрации 100 мМ [21]. Для оценки бактерицидной активности нейтрофилов проводили индуцированный НСТ-тест, отражающий уровень “респираторного взрыва” в фагоцитах [4]. Определяли процент НСТ-положительных нейтрофилов, содержащих в цитоплазме гранулы диформаза. Для статистической обработки данных использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение. Фагоцитарную активность нейтрофилов лейкоцитарной массы оценивали после инкубации лейкоцитов с низкомолекулярной фракцией (до 5 кДа) кордовой крови или Актовегином (в пределах их содержания в среде инкубации от 0,05 мг/мл до 3,0 мг/мл) по показателям фагоцитарного индекса (ФИ), фагоцитарного числа (ФЧ), коэффициента завершенности фагоцитоза (КФЧ) и НСТ-теста. Прежде всего в наших экспериментах было отмечено, что в случае инкубации нативных и после гипотермического хранения лейкоцитов процесс фагоцитоза в выбранных условиях носит достоверный характер, т.к. при внесении в среду ингибитора растительного происхождения колхицина ФИ и КФЧ подавляются приблизительно в 3 раза, а поглотительная активность – в 5 раз. Из результатов, представленных в табл. 1, видно, что инкубация нативной лейкоцитарной массы с ФКК или Актовегином, независимо от их концентрации не приводила к увеличению количества фагоцитирующих нейтрофилов (ФН).

При исследовании поглотительной функции после 45 минут инкубации лейкоцитов с ФКК или Актовегином, был выявлен доза-зависимый эффект обоих препаратов. Так, после инкубации нативного лейкоцитарного концентрата с ФКК в концентрации 0,15 мг/мл было отмечено достоверное увеличение ФЧ нейтрофилов до (22,42±1,66 абс.ед.) по сравнению с контролем (15,37±1,32 абс.ед.). Необходимо отметить тот факт, что увеличение поглотительной функции нейтрофилов в этих условиях характерно только для 45 минут инкубации. После 120 минут инкубации лейкоцитов с ФКК отмечено существенное снижение данного показателя, что вероятно, является следствием интенсивного переваривания стафилококков (табл. 1). Повышение концентрации ФКК до 3 мг/мл в нативной лейкоцитарной массе при инкубации в течение 45 минут и 120 минут, к увеличению ФЧ нейтрофилов не приводило. Добавление в среду инкубации Актовегина также способствовало увеличению поглотительной способности лейкоцитов, но в значительно большей концентрации (1,5 мг/мл) по сравнению с ФКК (0,15 мг/мл), что может быть связано с большей концентрацией в низкомолекулярной фракции кордовой крови веществ, активирующих метаболизм клеток. На такую возможность указывают различия в хроматографических профилях, изученных нами ранее [3]. Для наиболее полной характеристики функционального состояния нейтрофилов донорской крови мы определяли

показатель, отражающий переваривающую активность клеток – КФЧ (коэффициент завершенности фагоцитоза) [12].

Таблица 1

Зависимость фагоцитарных показателей нейтрофилов нативной лейкоцитарной массы от содержания низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови КРС и Актовегина в среде инкубации

Нативная лейкоцитарная масса	Концентрация препарата в среде, мг/мл	Показатель ФА				
		ФИ,% (45 мин инкубации, +37°С)	ФИ,% (120 мин инкубации, +37°С)	ФЧ, абс.ед. (45 мин инкубации, +37°С)	ФЧ, абс.ед. (120 мин инкубации, +37°С)	КФЧ, отн.ед. (ФЧ ₄₅ /ФЧ ₁₂₀)
Контроль	0	60,52±2,32	58,56±1,17	15,37±1,32	11,79±1,02	1,30±0,03
Инкубация с колхицином (100 мМ)	0	18,04±1,7*	17,4±1,03*	3,07±0,86*	6,38±1,02*	0,47±0,05*
Инкубация с ФКК (40 мг/мл)	0,05	58,8±1,92	57,07±2,03	14,25±1,41	10,76±1,38	1,32±0,04
	0,15	65,33±1,65	60,22±1,51	22,42±1,66*	12,12±1,23	1,88±0,06*
	0,3	63,79±1,87	57,74±2,05	20,09±1,26	14,54±1,12	1,39±0,03
	1,5	62,91±1,44	55,9±1,72	14,88±1,33	12,75±1,03	1,17±0,03
	3,0	60,14±1,84	57,68±1,78	11,84±1,1	11,32±1,13	1,05±0,05
Инкубация с Актовегином (40 мг/мл)	0,05	63,48±2,64	58,03±2,92	15,27±1,62	11,64±1,32	1,31±0,04
	0,15	65,51±1,65	55,06±1,73	16,28±1,06	12,76±0,8	1,28±0,03
	0,3	69,77±1,79	60,15±2,76	18,62±1,29	13,25±1,20	1,42±0,03
	1,5	68,72±2,36	53,44±1,72	20,98±1,53*	13,04±0,8	1,61±0,03*
	3,0	68,88±1,29	59,60±1,62	15,51±1,42	11,67±1,21	1,34±0,04

* - в сравнении с контрольными значениями (p<0,05).

Как видно из табл. 1, достоверное (p<0,05) увеличение переваривающей активности лейкоцитов по сравнению с контрольными значениями было отмечено при добавлении в среду инкубации ФКК или Актовегина в концентрации 0,15 мг/мл и 1,5 мг/мл, соответственно. Увеличение концентрации препаратов приводило к ингибированию переваривания микробных тел фагоцитами.

В следующей серии экспериментов мы изучали влияние гипотермического хранения лейкоцитов в течение 24-х часов на показатели фагоцитарной активности нейтрофилов. Как видно из данных, представленных в табл. 2, все изучаемые нами показатели фагоцитарной активности лейкоцитов, подвергнутых гипотермическому хранению, достоверно снижаются по сравнению с анализируемыми показателями нативных лейкоцитов, что согласуется с данными литературы [8]. После инкубации лейкоцитов с ФКК или Актовегином в концентрации 0,15 мг/мл и 1,5 мг/мл, соответственно, показатели функциональной активности нейтрофилов (ФЧ и КФЧ) достоверно увеличивались по сравнению с контролем (табл.2). Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что инкубация лейкоцитов с ФКК (0,15 мг/мл) в течение 45 минут повышала поглотительную активность клеток после гипотермического хранения в 1,7 раза по сравнению с контролем. При этом ФЧ₁₂₀ нейтрофилов после инкубации с ФКК, оставалось на уровне значений нативной лейкоцитарной массы. Подобное действие ФКК нами было отмечено и в отношении нативных клеток (табл.1). Следовательно, инкубация нейтрофилов с ФКК стимулирует не только процессы поглощения микроорганизмов, но и их переваривание, о чем свидетельствуют данные о переваривающей активности нейтрофилов, представленной в табл. 2 в виде коэффициента завершенности фагоцитоза. В частности из табл. 2 следует, что КФЧ лейкоцитов после инкубации с ФКК в оптимальной концентрации увеличивалось на 55%. Инкубация лейкоцитов с Актовегином также стимулировала поглотительную и переваривающую способность фагоцитов, но в значительно большей концентрации препарата (0,3 мг/мл и 1,5 мг/мл, соответственно) по сравнению с ФКК (0,15мг/мл).

Известно, что важным элементом фагоцитоза является респираторный взрыв, происходящий после активации нейтрофилов, суть которого состоит в увеличении потребления кислорода и образовании активных форм кислорода [8]. Одним из методов изучения способности нейтрофилов генерировать активные формы кислорода (АФК) в процессе фагоцитоза является реакция восстановления НСТ до диформазана [4]. Результаты наших исследований показали, что после инкубации нативных лейкоцитов с ФКК или Актовегином количество диформазан - положительных клеток не изменялось (рис.1). После гипотермического хранения лейкоцитов показатель НСТ-теста достоверно не отличался от соответствующего показателя нативных клеток (рис.1). Таким образом, тесты восстановления НСТ и фагоцитарной активности не всегда коррелируют, что согласуется с данными литературы [5]. Так, в исследованиях [8] показано, что формирование псевдоподий, захват чужеродных тел, втягивание внутрь мембраны и формирование свободных радикалов O₂, непосредственно связанное с разрушением микроорганизмов – процессы не связанные между собой. В работе [19] отсутствие корреляции между фагоцитарной активностью и восстановлением НСТ авторы связывают с возможным неравномерным перераспределением энергетических ресурсов фагоцитов между гексозомонофосфатным шунтом (для продукции свободных радикалов кислорода) и

гликолизом (образование АТФ для активности цитоскелета), что подтверждает теорию о функциональной неоднородности нейтрофилов [5]. Исходя из выше сказанного, для полноты оценки функциональных возможностей нейтрофилов приводят оба теста.

Таблица 2

Зависимость фагоцитарных показателей нейтрофилов донорской крови в составе лейкоцитарной массы после гипотермического хранения от содержания низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови КРС и Актовегина в среде инкубации

Лейкоцитарная масса после гипотермического хранения	Концентрация препарата в среде, мг/мл	Показатель ФА				
		ФИ,% (45 мин инкубации, 37°C)	ФИ,% (120 мин инкубации, +37°C)	ФЧ, абс.ед. (45 мин инкубации, +37°C)	ФЧ, абс.ед. (120 мин инкубации, +37°C)	КФЧ, отн.ед. (ФЧ ₄₅ /ФЧ ₁₂₀)
Контроль	0	42,71±1,03	34,78±0,86	11,49±0,71	10,79±0,61	1,06±0,02
Инкубация с колхицином (100 мМ)	0	16,57±0,85*	14,3±0,29*	4,4±0,52*	7,99±0,63*	0,54±0,02*
Инкубация с ФКК (40 мг/мл)	0,05	44,1±2,47	34,22±1,73	12,11±1,30	11,03±1,06	1,1±0,04
	0,15	41,46±1,95	36,85±2,86	19,19±1,29*	9,99±0,57	1,92±0,08*
	0,3	39,08±4,37	34,71±3,84	9,83±1,63	10,38±2,68	1,02±0,09
	1,5	36,77±4,37	42,04±3,77	8,67±0,94	9,34±0,93	0,93±0,04
	3,0	39,92±1,86	49,23±1,75*	10,52±0,94	11,23±1,27	0,96±0,06
Инкубация с Актовегином (40 мг/мл)	0,05	40,83±2,04	36,23±1,83	12,45±1,51	11,52±1,62	1,08±0,04
	0,15	37,84±2,3	34,17±3,05	9,19±0,46	8,68±0,68	1,07±0,05
	0,3	44,26±4,25	34,05±1,18	18,55±1,13*	16,66±0,73*	1,11±0,05
	1,5	50,12±3,62	38,59±3,48	15,13±1,69	9,84±1,01	1,54±0,06*
	3,0	45,74±4,09	42,36±3,11	11,66±1,22	11,42±1,13	1,02±0,03

* - в сравнении с контрольными значениями (p<0,05).

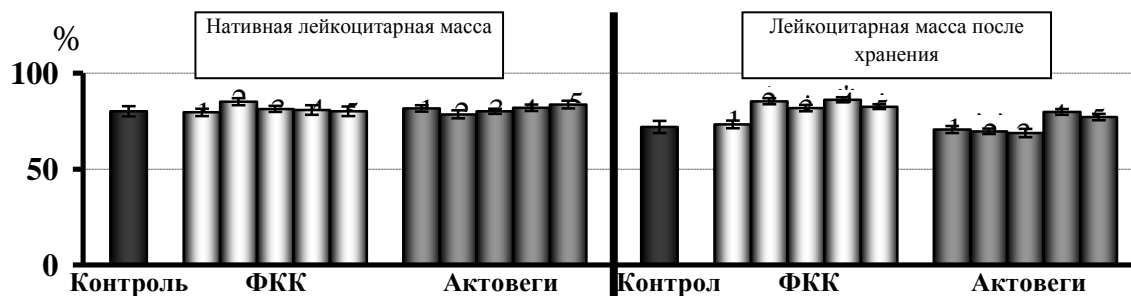


Рис. 1. Влияние ФКК и Актовегина на количество НСТ-положительных нейтрофилов в составе лейкоцитарной массы после гипотермического хранения. 1 – содержание в среде инкубации препарата 0,05 мг/мл; 2 – 0,15 мг/мл; 3 – 0,3 мг/мл; 4 – 1,5 мг/мл; 5 – 3,0 мг/мл. * - в сравнении с контролем (p<0,05); ** - в сравнении с ФКК в соответствующей точке.

Динамика показателя НСТ-теста после инкубации лейкоцитов, подвергнутых гипотермическому хранению, с ФКК значительно отличалась от контроля (рис.1.). Так, из представленных на рис.1. данных видно, что процент диформаза-положительных клеток после инкубации лейкоцитарной массы с ФКК составлял 85,36±1,56%, что достоверно (p<0,05) превышало контрольные значения (71,96±3,20%). При этом увеличения количества активированных нейтрофилов после инкубации клеток с Актовегином отмечено не было (см. рис.1).

Выводы

В результате проведенных нами исследований установлено, что инкубация нативных лейкоцитов и подвергнутых гипотермическому хранению с низкомолекулярной фракцией (до 5 кДа) кордовой крови (ФКК) или препаратом сравнения Актовегином при определенных концентрациях оказывает стимулирующее действие на фагоцитарную активность нейтрофилов. Важно отметить тот факт, что ФКК оказывает стимулирующий эффект в концентрации приблизительно в 10 раз меньшей, чем Актовегин. После гипотермического хранения лейкоцитов количество НСТ-положительных клеток достоверно не уменьшается по сравнению с нативными показателями. В то же время инкубация лейкоцитов, подвергнутых хранению, с ФКК способствует достоверному увеличению количества активированных фагоцитов по сравнению с контролем. Вероятно, что низкомолекулярная фракция кордовой крови активирует кислород-зависимый метаболизм лейкоцитов после хранения при +4°C в течение 24 часов. Инкубация клеток с Актовегином не оказывала влияния на количество НСТ-положительных клеток. Полученные результаты обосновывают перспективу включения низкомолекулярной фракции кордовой крови и Актовегина в состав восстанавливающих сред после гипотермического хранения лейкоцитов для повышения их фагоцитарной активности.

Перспективи дальнейших исследований в данном направлении. Изучить состав низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови крупного рогатого скота и механизм ее действия на функциональную активность клеток лейкоцитарного ряда в экспериментах in vitro.

Література

1. Брок Т. Мембранная фильтрация: Пер. с англ. / Брок Т. – М.: Мир, 1987. – 464 с.
2. Влияние низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) из кордовой крови на фагоцитарную активность лейкоцитов in vivo и in vitro / А.К. Гулевский, В.И. Грищенко, Н.Н. Моисеева [и др.] // Доповіді Національної Академії Наук України. – 2009. – № 8. – С. 184—188.
3. Влияние фракции кордовой крови (до 5 кДа) крупного рогатого скота на биохимические показатели крови при экспериментальной субхронической язве желудка у крыс / А.К. Гулевский, Е.С. Абакумова, Н.Н. Моисеева [и др.] // Укр. біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, № 2. – С. 120—126.
4. Герасимов И.Г. Кинетика реакции восстановления нитросинего тетразолия нейтрофилами крови человека / И.Г. Герасимов, О.А. Калущая // Цитология. – 2000. – Т. 42, № 2. – С. 160—165.
5. Герасимов И.Г. Неоднородность нейтрофилов в фагоцитозе и респираторном взрыве / И.Г. Герасимов // Клиническая лаб. диагностика. – 2004. – № 6. – С. 34—36.
6. Заривчацкий М.Ф. Основы трансфузиологии / М.Ф. Заривчацкий – Пермь: Изд-во Пермского ун-та, 1995. – 303 с.
7. Лечебные трансфузии гранулоцитов при рефрактерных бактериальных и грибковых инфекциях у детей с гемобластозами и апластическими анемиями / Д.Н. Балашов, Н.Ю. Богачева, Е.В. Скоробогатова [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 1999. – Т. 44, № 3. – С. 8—12.
8. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский – Новосибирск: Наука, 1983. – 256 с.
9. Медичні імунобіологічні препарати: Методичні рекомендації щодо викладення технологічних регламентів на препаратів крові [Настанова з якості 42-3002-011-2005]. Київ, МОЗ України [Наказ МОЗ України № 376 від 26.07.2005]: 144 с.
10. Методы выделения концентратов тромбо- и лейкоцитов из лейко-тромбоцитарного слоя консервированной крови в пластикатных мешках / В. А. Аграненко, Г.В. Сукарян, Г.С. Воробьева [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 1985. – Т. 30, № 11. – С. 54—59.
11. Подопригора Г.И. Современные методы изучения фагоцитарной активности лейкоцитов in vitro / Г.И. Подопригора, В.Н. Андреев // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1976. – № 1. – С. 19—25.
12. Розанова О.Е. Влияние цитостатических и гормональных препаратов на фагоцитарную активность нейтрофилов больных лейкозом / О.Е. Розанова, Л.Д. Серова, В.Н. Шабалин // Гематология и трансфузиология. – 1989. – № 4. – С. 15—20.
13. Румянцева С.А. Актовегин. Новые аспекты клинического применения / С.А. Румянцева – М. – 2002. – 280 с.
14. Трансфузионные среды: прикладные и фундаментальные аспекты / Б.Е. Мовшев, В.М. Витвицкий, И.Л. Лисовская [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2001. – Т. 46, № 3. – С. 74—82.
15. Dual effect of a protein-free hemodialysate on the oxygen uptake of phagocytosing human polymorphonuclear leucocytes / P. Dri, R. Cramer, H. Mittenzwei [et al.] // Arzneimittelforschung. – 1989. – V. 39, № 12. – P. 1565—1567.
16. Effects of storage and incubation conditions on human granulocyte phagocytic, bactericidal, and chemotactic functions / M.C. Hammer, A.L. Baltch, J.V. Conroy [et al.] // Cryobiology. – 1986. – V. 23, № 6. – P. 525—530.
17. Evaluation of solutions for the storage of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized granulocyte concentrates / T. Lightfoot, J. Gallelli, K. Matsuo [et al.] // Vox. Sang. – 2001. – V. 80, № 2. – P. 106—111.
18. Liquid preservation of polymorphonuclear leukocytes: effect of various additives on chemotaxis preservation / L. Verstraeten, M. Marchand-Arvier, F. Schooneman [et al.] // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. – 1991. – V. 29, № 11. – P. 717—724.
19. Morphological investigation of human blood neutrophil phagocytosis in vitro by AFM / S.N. Pleskova, M.I. Zaslavzkaja, Yu. Yu. Guschina [et al.] // Phys. Low-Dim. Struct. – 2001. – V. 3/4. – P. 229—236.
20. Schwanke U. Storage of neutrophil granulocytes (PMNs) in additive solution or in autologous plasma for 72 h / U. Schwanke, L. Schrader, R. Moog // Transfus. Med. – 2005. – V. 15, № 3. – P. 223—231.
21. Shleef H. Effect of colchicine and indomethacin on leukocytic phagocytosis of Staphylococcus aureus and E.coli / H. Shleef, A. Stelzner, M. Kunze // Zentralbl. Bakteriол. Mikrobiol. Hyg. [A] – 1984. – V. 257, № 3. – P. 388—399.

Резюме

**ВПЛИВ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНОЇ ФРАКЦІЇ
КОРДОВОЇ КРОВІ НА ФАГОЦИТАРНУ
АКТИВНІСТЬ ЛЕЙКОЦИТІВ, ПІДДАНИХ
ГІПОТЕРМІЧНОМУ ЗБЕРІГАННЮ**

Гулевський А.К., Горіна О.Л., Мойсеева Н.Н.

Отримані результати обґрунтовують перспективу включення низькомолекулярної фракції кордової крові і актовегіна до складу поновлюючих середовищ після гіпотермічного зберігання лейкоцитів

**INFLUENCE OF LOW-MOLECULAR FACTION
OF CORD BLOOD ON FAGOCYTIC ACTIVITY
OF LEUCOCYTES, CITIZENS TO
HYPOThERMAL STORAGE**

Gulevskiy A.K., Gorina O.L., Moiseeva N.N.

The got results ground the prospect of including of low-molecular faction of cord blood and actovegin in the complement of evocative environments after hypothermal storage of leucocytes

для підвищення їх фагоцитарної активності.

Ключові слова: кордова кров, актовегін, лейкоцити.

Стаття надійшла 16.11.10 р.

for the increase of them fagocytic activity.

Key words: cord blood, actovegin, leucocytes.

УДК 612.821.7+ 616.853

В.В. Деслятський,
Одеський національний медичний університет, м. Одеса

ПЛАВАТЕЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ И АГРЕССИВНОСТЬ КИНДЛИНГОВЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДУЛЯЦИИ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА

Варіабельність плавання тварин, яка була зниженою в результаті формування кіндлінгу, зростала під впливом L-аргініну (500,0 мг/кг, в/очер) на 19,0%. L- аргінін і L-NAME не впливали на варіабельність плавання інтактних тварин. Порог уникнення із басейну, який був збільшений у зв'язку з розвитком кіндлінгу, знижувався під впливом L- аргініну (200,0 і 500,0 мг/кг) відповідно на 65,3% і 119,7%. L-NAME (10,0 мг/кг) викликав його збільшення на 71,2%. При цьому у інтактних щурів L-аргінін викликав зниження, а L-NAME, навпаки,- підвищення порогу уникнення в найбільших із досліджуваних доз відповідно на 22,4 і 37,5%. Кіндлінг обумовлене зниження порогу агресивних реакцій зменшувалось під впливом L- аргініну (500,0 мг/кг) на 29,0%. L-NAME (10,0 мг/кг) викликав зниження порогу розвитку бійок на 23,3%. У інтактних тварин під впливом L- аргініну (500,0 мг/кг) зростання порогу агресивних реакцій складо 24,8%.

Ключові слова: кіндлінг, епілептична активність, плавальна поведінка, агресивність, оксид азоту.

Оксид азота выполняет нейромедиаторную функцию, его повышенная продукция обеспечивает снижение выраженности агрессивных реакций у мышей [3]. Уменьшение синтеза и высвобождения оксида азота вызывает редукцию медленноволнового и парадоксального сна, наряду с увеличением длительности фазы бодрствования у крыс [4]. Подавление активности нейрональной синтазы оксида азота провоцирует развитие спайк- волновые эпилептиформные комплексов у крыс с наследственной формой абсансной эпилепсии [7]. В то же время, применение L- аргинина, усиливающего продукцию оксида азота обеспечивает подавление эпилептиформных проявлений у животных [10]. Однако, до последнего времени остаются мало исследованными особенности поведения киндлинговых крыс в условиях модуляции системы продукции оксида азота. Вместе с тем, данная модель хорошо исследована с точки зрения патогенетической роли различных нейромедиаторных систем в формировании поведенческих межприступных нарушений [1, 2].

Целью работы было изучение особенностей реализации двигательных программ плавания крыс с моделированным киндлинговым синдромом в тесте M.C.Vrijmoed-de Vries, A.R.Cools [8], а также выраженность порога развития агрессивных реакций в условиях модуляции продукции оксида азота применением ингибитора активности синтазы оксида азота N^G-нитро- L - аргинина метилового эфира (L - NAME), а также L-аргинина, обеспечивающего повышение его синтеза.

Материал и методы исследования. Исследования проводились в условиях хронического эксперимента на 150 половозрелых белых крысах линии Вистар массой от 180 до 220 г, которых содержали в индивидуальных боксах с естественной 12 часовой сменой света и темноты, влажностью воздуха 60% и его температурой 22±1°C, со свободным доступом к воде и пище. С целью приручения, крыс перед началом эксперимента держали в руках по 2 - 3 мин в течение 5 дней, что облегчало последующие экспериментальные исследования с животными. Работу проводили с соблюдением основных нормативных и этических требований к проведению лабораторных и иных опытов с участием экспериментальных животных. Данные исследования были одобрены комиссией ОГМУ по этическому проведению экспериментов. Киндлинг у крыс формировали с помощью методики [1], путем ежедневных повторных введений коразола в подпороговой дозе (25,0-30,0 мг/кг, в/бр). В исследовании использовали тех крыс, которые в течение последних трех инъекций эпилептогена демонстрировали генерализованные судорожные реакции. Крысам группы контроля осуществляли внутрибрюшинное введение аналогичного объема физиологического раствора NaCl.

Изучение плавательного поведения проведено по методу M.C.Vrijmoed-de Vries, A.R.Cools [8]. Бассейн для исследования плавательного поведения представлял собой стеклянный цилиндр высотой 45 см, диаметром 30 см, наполненный на 2/3 водой при температуре 37оС. Метод заключался в наблюдении характера плавания животных в течение 6 мин после их помещения в бассейн. По окончании плавательного теста определяли способность крыс к переключению на активно-адаптивное поведение, для чего определяли интенсивность внешнего раздражения, индуцирующего у животного целенаправленный завершённый двигательный акт. С этой целью в бассейн с водой опускали веревку диаметром 1 см, фиксированную на Г- образном кронштейне высотой 65 см. Степень контакта с веревкой, необходимая для избегания животного из воды, выражали в баллах. Крыса осуществляет выход из воды после: 1) того как заметила веревку (визуальный контакт) - 0 баллов, 2) контакта с веревкой кончиком морды - 1 балл, 3) контакта с веревкой кончиком морды и передними лапами - 2 балла, 4) контакта с веревкой кончиком морды и всеми конечностями - 3 балла, 5) при контакте с веревкой мордой, передними и задними конечностями крыса не осуществляет выход из воды - 4 балла.