

Литература

1. Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. Клеточные механизмы прайминга и активации фагоцитов // *Успехи совр. биол.* 1999. Т. 119, № 5. С. 462–475.
2. Кольман Я., Рем К.-Г. *Наглядная биохимия.* М.: Мир, 2000. 468 с.
3. Митькин В.В., Волков Н.И., Пшеничникова Т.Я., Сухих Т.Г. Действие даназола на активность 5'-нуклеотидазы перитонеальных макрофагов мышей // *Бюл. экп. биол. и мед.* 1992. № 2. С. 51–54.
4. Нестерова И.В. Вторичные иммунодефицитные состояния: справочник по иммунологии. СПб.: Диалог, 2002. 214 с.
5. Нестерова И.В., Сепиашвили Р.И. Иммунотропные препараты и современная иммунотерапия в клинической иммунологии и медицине // *Иммунология.* 2002. Т. 23, № 3. С. 132–138.
6. Определение функциональной активности лейкоцитов периферической крови в качестве показателя неспецифической защиты организма: методические рекомендации / Сомова Л.М., Плехова Н.Г., Кондрашова Н.М., Запорожец Т.С. Владивосток: Полиграфкомбинат, 2005. 24 с.
7. Способ получения ДНК из молок рыб / Гаймула М.А., Кална В.Х., Микстайс У.Я., Эпштейн Л.М. Пат. СССР № 915446. Заяв. 10.10.1980; опубл. 01.07.1991 г.
8. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. СПб: Наука, 2000. 232 с.
9. Шамова О.В., Сакута Г.А., Орлов Д.С. и др. Действие антимикробных пептидов из нейтрофильных гранулоцитов на опухолевые и нормальные клетки в культуре // *Цитология.* 2007. Т. 49, № 12. С. 1000–1010.
10. Babior B. M. NADPH oxidase: an update // *Blood.* 1999. Vol. 93, No. 5. P. 1464–1476.
11. Ferencik M., Stefanovic J. Lysosomal enzymes of phagocytes and the mechanism of their release // *Folia microbial. Praha.* 1999. Vol. 24, No. 6. P. 503–575.
12. Forman H.J., Torres M. Reactive oxygen species and cell signaling (Respiratory burst in macrophage signaling) // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002. Vol. 166. P. S4–S8.

13. Levy O. Antimicrobial proteins and peptides: anti-infective molecules of mammalian leukocytes // *J. Leukocyte Biology.* 2004. Vol. 74. P. 909–925.
14. Livescu A., Manda G., Constantin C. et al. Plasma membrane potential interferes with the respiratory burst of peripheral granulocytes // *J. Cell. Mol. Med.* 2003. Vol. 7, No. 1. P. 73–78.

Поступила в редакцию 13.04.2009.

CHANGING METABOLISM OF PHAGOCYTES IN BLOOD IN RESPONSE TO ACTION OF SALMON MILT-DERIVED DEOXYRIBONUCLEIC ACID

N.G. Plekhova¹, L.N. Fedyanina², L.M. Somova¹, N.N. Besednova¹, T.K. Kalenik²

¹ Research Centre of Epidemiology and Microbiology of the RAMS, Siberian Branch (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia), ² Pacific State University of Economics (19 Okeanskiy Av. Vladivostok 690091 Russia)

Summary – The paper provides an integrated study into the state of oxygen-dependent systems of phagocytes in blood. As shown, there was a dose-dependent stimulating effect produced by DNA on these cells that appeared to have capability of decreasing activity of ferments that participated in generation of superoxide anionic radical and, in contrast, increasing activity of myeloperoxidase being a catalyst of oxygen anion conversion into hydrogen peroxide. This allowed to consider the salmon milt DNA to have antioxidative effect with respect to hematophages. Besides, stimulatory effects of this substance on other phagocyte functions (intracellular contents of 5'-nucleotidases and cationic proteins) could be determinative for prospects of applying the salmon milt-derived DNA as immune-response stimulating drug because the cationic proteins have been known to be representatives of low-molecular intracellular regulators very likely to participate in signalling various physiological functions of an organism.

Key words: deoxyribonucleic acid, neutrophils, macrophages, ferments.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 3, p. 52–55.

УДК 611.61:546.815:[615.324:593.95]-092.9

Е.Ю. Приезжева¹, О.А. Лебедько¹, Б.Я. Рыжавский², В.К. Козлов¹

¹ Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания СО РАМН – НИИ охраны материнства и детства (680022 г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49, корп. 1), ² Дальневосточный государственный медицинский университет (680000 г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35)

ВЛИЯНИЕ ЭХИНОХРОМА А НА СТРУКТУРУ И МЕТАБОЛИЗМ ПОЧЕК 40-СУТОЧНЫХ БЕЛЫХ КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ПРЕНАТАЛЬНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ НИТРАТА СВИНЦА

Ключевые слова: свинец, морфология почек, свободнорадикальное окисление.

На модели 40-суточных белых крыс, подвергшихся пренатальному воздействию нитрата свинца, изучено влияние эхинохрома А на морфологию и функциональные показатели почек. Определялись показатели свободно-радикального окисления в гомогенатах почек и сыворотке крови. Нитрат свинца индуцировал оксидативный стресс и деструктивные изменения в почках. Эхинохром А предотвращал формирование этих нарушений.

Соли тяжелых металлов, и прежде всего свинца, являются наиболее распространенными антропогенными токсикантами [9]. К действию ксенобиотиков

организм особо чувствителен на ранних этапах онтогенеза. При этом почки, как главная экскреторная структура, являются органом-мишенью [8]. Ранее на собственной экспериментальной модели отсроченного внешнесредового дизэмбриогенетического эффекта нитрата свинца было выявлено участие свободных радикалов в патогенезе деструктивных изменений в почках, что было обусловлено пренатальным воздействием данного экотоксиканта [5].

Эхинохром А (2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этилнафталиндион-1,4), выделенный из основного пигмента панцирей морских ежей, обладает мембраностабилизирующими, противовоспалительными, иммуномодулирующими свойствами, в основе которых лежит выраженный антиоксидантный антирадикальный

Лебедько Ольга Антоновна – д-р мед. наук, в.н.с., заведующая клинико-диагностической лабораторией НИИ охраны материнства и детства Хабаровского филиала ДНЦ физиологии и патологии дыхания СО РАМН; тел.: 8 (4212) 35-65-91; e-mail: iomid@yandex.ru.

Таблица 1

Показатели хемилюминесценции гомогенатов почек 40-суточных белых крыс, пренатально получавших нитрат свинца и эхинохром А ($M \pm m$), отн. ед.

Группа	Ssp	h	Sind 1	S luc	H	Sind 2
Контроль	0,062±0,004	0,479±0,025	0,557±0,040	0,046±0,004	0,634±0,030	1,295±0,051
2-я группа	0,362±0,021 ¹	3,366±0,177 ¹	3,740±0,149 ¹	0,254±0,010 ¹	5,682±0,287	8,186±0,615 ¹
3-я группа	0,067±0,004	0,433±0,020	0,494±0,030	0,050±0,004	0,617±0,040	1,201±0,053

¹ Разница с контролем статистически значима.

эффект [3, 4, 6, 7]. В доступной литературе мы не встретили данных о применении эхинохрома А для коррекции свободнорадикальных нарушений, опосредованных пренатальным воздействием экотоксикантов. Цель настоящей работы состояла в анализе влияния эхинохрома А на свободнорадикальное окисление в почках и сыворотке крови, а также на морфологию почек белых крыс, подвергшихся пренатальному воздействию нитрата свинца.

Материал и методы. Эксперимент выполняли с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Выведение животных из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями правил проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.).

Экспериментальные животные — 40-суточные белые крысы — были разделены на три группы. 1-я группа — 37 животных — потомство 6 интактных самок (контроль). 2-я группа — 60 животных — потомство 7 самок, которым на 17–18-й день беременности через желудочный зонд вводили однократно 0,9–1,1 мл 4% раствора нитрата свинца (200 мг/кг массы). В 3-й группе — 26 животных — изучалось потомство 3 самок, получавших 1% раствор гистохрома (Gistochrom), содержащий в 1 мл 0,01 г эхинохрома и 0,045 г углекислого натрия. Препарат, разведенный 0,85% раствором NaCl (1:50), в дозе 0,1 мг/кг дважды вводили беременным самкам внутрибрюшинно: за день до введения нитрата свинца, осуществлявшегося на 17–18-е сутки беременности, и на следующий день после затравки. Все животные содержались в условиях одного вивария, пищу и воду получали *ad libitum*. В 40-дневном возрасте животных выводили из эксперимента с использованием эфирного наркоза.

Свободнорадикальное окисление изучали в почечных гомогенатах и сыворотке крови методом хемилюминесценции. Регистрацию результатов осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B PERKIN ELMER [1, 2]. При исследовании спонтанной и индуцированной Fe²⁺ хемилюминесценции определяли: Ssp — светосумму за 1 мин спонтанной хемилюминесценции, величина которой коррелирует с интенсивностью генерации свободных радикалов; максимум быстрой вспышки (h) индуцированной хемилюминесценции, свидетельствующей о содержании гидроперекисей липидов; Sind 1 — светосумму

за 2 мин индуцированной хемилюминесценции, величина которой отражает интенсивность накопления перекисных радикалов. Также определяли S luc — светосумму за 1 мин люцигенинзависимой хемилюминесценции, величина которой прямо коррелирует с содержанием супероксиданион-радикала. Кинетику хемилюминесценции, инициированную перекисью водорода в присутствии люминола, анализировали по двум параметрам: H — амплитуде вспышки и Sind 2 — светосумме за 2 мин, величины которых обратно коррелируют с перекисной резистентностью биосубстрата (H) и активностью антиоксидантной антирадикальной защиты (Sind 2). Интенсивность хемилюминесценции, измеренную в милливольтгах, рассчитывали на 1 мг влажной ткани или на 1 мл сыворотки крови и выражали в относительных единицах.

Для морфологического анализа правую почку экспериментальных животных фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, подвергали обзорному изучению, определяли число почечных телец в стандартном поле зрения, окуляр-микрометром МОВ-15 измеряли их диаметр. Полученные данные обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и обсуждение полученных данных. Анализ хемилюминограмм продемонстрировал, что в почках и крови 40-суточных белых крыс, перенесших пренатальное воздействие нитрата свинца, в сравнении с аналогичными показателями у контрольных животных имело место увеличение интенсивности процессов свободнорадикального окисления в 5,8 и 3,2 раза соответственно, в т.ч. за счет повышения продукции супероксид-анион радикалов в 5,5 и 3,6 раза, перекисных радикалов — в 6,7 и 3,6. При этом активизировался первичный этап пероксидации липидов — концентрация гидроперекисей липидов возросла в 7 раз в почках и в 4 раза в сыворотке крови (табл. 1, 2).

Нарушения процессинга свободных радикалов сопровождалось снижением резистентности к перекисному окислению (амплитуда H увеличилась в 8,9 раз в почках и в 3,5 раза в сыворотке крови) и ослаблением антиоксидантной антирадикальной защиты (показатель Sind-2 возрос в 6,3 раза в почках и в 3,5 раза в сыворотке крови). Подобная динамика свидетельствовала о развитии оксидативного стресса, как в почках, так и на уровне организма в целом, причем в данной ситуации более выраженного на органном уровне. Таким образом, однократное пренатальное

Таблица 2

Показатели хемилюминесценции сыворотки крови 40-суточных белых крыс, пренатально получавших нитрат свинца и эхинохром А ($M \pm m$), отн. ед.

Группа	Ssp	h	Sind 1	S luc	H	Sind 2
Контроль	0,191±0,014	0,110±0,009	0,314±0,024	0,170±0,003	0,873±0,042	1,060±0,044
2-я группа	0,623±0,043 ¹	0,455±0,033 ¹	1,130±0,069 ¹	0,619±0,004 ¹	3,056±0,207	3,777±0,338 ¹
3-я группа	0,213±0,016	0,127±0,008	0,359±0,025	0,184±0,003	0,944±0,048	1,134±0,050

¹ Разница с контролем статистически значима.

воздействие нитрата свинца способно активизировать свободнорадикальное окисление исследуемых субстратов в постнатальном периоде, вплоть до препубертантного возраста (у 40-суточных крыс).

На фоне нарушений свободнорадикального статуса в почках крыс обнаружены патоморфологические изменения. Количество почечных телец на стандартной площади среза коркового вещества у животных, перенесших воздействие нитрата свинца ($9,4 \pm 0,6$), было достоверно меньшим, чем в контроле ($11,5 \pm 0,45$). Если в норме у 40-суточных крыс большая часть почечных телец имела диаметр 70–110 мкм, то у животных, подвергшихся пренатальному воздействию нитрата свинца, нередко наблюдались тельца с диаметром 45–50 мкм. В ряде случаев было обнаружено значительное уменьшение числа капиллярных петель клубочков, образование вокруг них фиброзных капсул, резкое сморщивание почечных телец, пролиферация соединительно-тканых клеток, которая в ряде случаев распространялась на прилежащие к ним канальцы. В отдельных наблюдениях в корковом веществе были обнаружены кисты, сформировавшиеся на месте некротизированных клубочков. Их размеры обычно равнялись 150–200 мкм. В мозговом веществе в просвете канальцев регистрировались цилиндры, а также небольшие участки фиброза. В целом патоморфологические процессы, выявленные у 40-суточных белых крыс, подвергшихся пренатальному воздействию свинца, можно определить как токсический фибропластический гломерулонефрит.

Пренатальное воздействие эхинохрома А предотвращало развитие оксидативного стресса: показатели хемилюминесцентной кинетики у 40-суточных крыс группы «нитрат свинца + эхинохром А» не имели достоверных отличий от аналогичных величин в контроле (табл. 1, 2). На фоне нормализации показателей свободнорадикального статуса морфологическая картина почек также соответствовала норме. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что деструктивные изменения в почках 40-суточных крыс, пренатально получивших нитрат свинца, являются следствием свободнорадикального повреждения и окислительной модификации соответствующих биоструктур.

Выводы

1. Пренатальное воздействие нитрата свинца вызывает оксидативный стресс и токсический фибропластический гломерулонефрит у 40-суточных белых крыс.

2. Эхинохром А предотвращает нарушения свободнорадикального статуса и деструктивные изменения в почках 40-суточных белых крыс, подвергнутых пренатальному воздействию нитрата свинца.

Литература

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: методические рекомендации. СПб.: Наука, 2000. 198 с.
2. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники: ВИНТИ АН СССР. 1991. Т. 29. 147 с.
3. Мищенко Н.П., Федорев С.А., Багирова В.Л. Новый оригинальный отечественный препарат гистохром // Хим.-фармацевт. журнал. 2003. Т. 37, № 1. С. 49–53.
4. Мищенко Н.П., Федорев С.А., Догадова Л.П. Препарат гистохром для офтальмологии // Вестник ДВО РАН. 2004. № 3. С. 111–119.
5. Приезжева Е.Ю., Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я. и др. Влияние введения нитрата свинца беременным крысам на почки их потомства // Дальневосточный мед. журнал. 2007. № 3. С. 30–32.
6. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Echinochrome, a naturally occurring iron chelator and free radical scavenger in artificial and natural membrane systems // Life Sci. 2005. Vol. 76, No. 8. P. 863–875.
7. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Iron chelators and free radical scavengers in naturally occurring polyhydroxylated 1,4-naphthoquinones // Hemoglobin. 2008. Vol. 32, No. 1. P. 165–179.
8. Markowitz M. Lead poisoning // Pediatr Rev. 2000. Vol. 21, No. 10. P. 327–335.
9. Pavlova E.L., Lilova M.I., Savov V.M. Oxidative stress in children with kidney disease // Pediatric. Nephrology. 2005. No. 11. P. 1599–1604.

Поступила в редакцию 20.04.2009.

EFFECT OF ECHINOCHROME ON KIDNEY STRUCTURE AND METABOLISM IN 40-DAY WHITE RATS EXPOSED PRENATALLY TO LEAD NITRATE

E. Yu. Prieszheva¹, O. A. Lebedko¹, B. Ya. Ryzhavskiy², V. K. Kozlov¹

¹ Khabarovsk Branch of the Far Eastern Research Centre of Physiology and Respiration Pathology, RAMS, Siberian Branch – Research Centre of Motherhood and Childhood Protection (1 Building 49 Voronezhskaya St. Khabarovsk 680022 Russia),
² Far Eastern State Medical University (35 Muraviyov-Amurskiy St. Khabarovsk 680000 Russia)

Summary – The authors have studied effect produced by echinochrome A on the kidneys morphology and functional parameters using model of 40-day white rats exposed prenatally to lead nitrate. The studies were aimed at defining parameters of free-radical oxidation in kidney homogenates and blood serum. The lead nitrate induced oxidative stress and destructive changes in kidneys. Echinochrome A prevented these disturbances.

Key words: lead, kidney morphology, free-radical oxidation.