

УДК 615.37:[615.326:549.67]

К.С. Голохваст^{1,4}, *А.М. Паничев*², *А.Н. Гульков*¹, *И.В. Мишаков*³, *А.А. Ведягин*³

¹Дальневосточный государственный технический университет (690990 г. Владивосток, ул. Пушкинская, 37),
²Тихоокеанский институт географии ДВО РАН (690041 г. Владивосток, ул. Радио, 7), ³Институт катализа СО РАН (630090 г. Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 5), ⁴Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (690041 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 150)

АНТИОКСИДАНТНЫЕ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ ЦЕОЛИТОВ

Ключевые слова: цеолиты, ингаляция, лазерное излучение.

Система местного иммунитета легких постоянно испытывает на себе повреждающее действие ряда химико-физических и биологических факторов. К их числу относятся и минеральные микрочастицы. Приведены результаты оценки влияния цеолитов Вангинского и Куликовского месторождений на состояние местного иммунитета легких. В качестве фактора, провоцирующего активацию перекисного окисления липидов и снижающего функциональную активность альвеолярных макрофагов и лимфоцитов, использовали низкоэнергетическое лазерное излучение. Установлено, что цеолиты Вангинского месторождения проявляют иммунопротекторные и антиоксидантные свойства в отличие от цеолитов Куликовского месторождения, усиливающих свободнорадикальные реакции и подавляющих систему местного иммунитета.

Цеолиты – минералы, обладающие уникальной способностью к избирательному ионному обмену и сорбции ряда атомов и молекул, находят все большее применение в медицинской практике. В последние годы в широком спектре фармакологического действия цеолитов активно изучается их иммунная и антиоксидантная активность [12, 13]. Низкоэнергетическое лазерное излучение, которое, как известно, характеризуется целым рядом биологических эффектов, было выбрано нами в качестве фактора, способного запустить каскад перекисного окисления липидов [2, 11].

Цель настоящей работы заключалась в оценке влияния природных цеолитов Куликовского и Вангинского месторождений Амурской области в сочетании с низкоэнергетическим лазерным излучением на биохимические показатели крови и ткани легких крыс, а также на показатели местного иммунитета дыхательной системы при ингаляционном пути введения.

Материал и методы. Исследования проводились на белых беспородных крысах. Для активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) животных облучали низкоэнергетическим лазером. Часть крыс до облучения подвергали ингаляции с применением цеолитсодержащих (морденитовых и клиноптилолитовых) туфов из двух месторождений – Куликовского и Вангинского – Амурской области. Цеолиты измельчали с помощью ультразвукового дезинтегратора Bandelin Sonopulse 3400. Степень измельчения составляла около 1–5 мкм. Части животных до облучения вводили в легкие цеолиты с помощью ультразвукового ингалятора УРСА-0,25П (Россия). Распыление проводили в закрытой

камере в течение 15 мин [4]. Животные были разделены на 4 группы по 20 особей: 1) контроль – интактные животные; 2) «Лазер» – животные, облучавшиеся низкоэнергетическим лазером; 3) «Куликовское+лазер» и 4) «Вангинское+лазер» – животные, которым ингаляционно вводились цеолиты Куликовского и Вангинского месторождений (соответственно) при облучении низкоэнергетическим лазером. После экспериментального воздействия из гомогената легких и плазмы крови экстрагировали липиды по методу Блайя–Дайера для определения продуктов ПОЛ: гидроперекисей, малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК) [1, 8, 9]. В плазме крови и ткани легких определяли компоненты антиоксидантной системы: церулоплазмин и витамин Е [5, 6]. Низкоэнергетическое лазерное облучение было выбрано как фактор, в определенных дозировках подавляющий функциональную активность клеток системы местного иммунитета. Для облучения применяли импульсный инфракрасный лазер Agnis-L01 с длиной волны 850 нм, энергией импульса $3,7 \times 10^{-7}$ Дж, частотой повторения импульса 240–1400 Гц и модуляции – 8–69 Гц [10]. Облучали грудную клетку животных в 6 зонах (субкапиллярной, скапулярной и субскапулярной, справа и слева) по 10 с 1 раз в день на протяжении 15 дней [7]. После опытных мероприятий (в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных от 12.08.1977 г.) забирали материал для исследования. Исследовали клетки бронхоальвеолярного смыва – макрофаги и лимфоциты. На препаратах идентифицировали клетки и в каждой группе подсчитывали содержание жизнеспособных клеток, количество клеток в 1 мл, относительное число макрофагов и лимфоцитов – основных участников системы местного иммунитета легких.

Результаты исследований. Количество жизнеспособных клеток в контроле составило $88,2 \pm 4,3\%$ от общего количества. В группе «Лазер» число жизнеспособных клеток было снижено – $67,3 \pm 3,1\%$. При воздействии цеолитов Вангинского и Куликовского месторождения в сочетании с лазерным излучением количество жизнеспособных клеток достоверно не отличалось от контроля – $84,5 \pm 3,3$ и $83,7 \pm 3,6\%$ соответственно. При этом число клеток в 1 мл незначительно возрастало – с $(1,5 \pm 0,1) \times 10^5$ (контроль) до $(1,6 \pm 0,1) \times 10^5$ («Лазер»), $(1,7 \pm 0,1) \times 10^5$ («Куликовское+лазер») и $(1,8 \pm 0,2) \times 10^5$ («Вангинское+лазер»). Нормальное соотношение макрофагов и лимфоцитов зарегистрировано в контроле

Таблица

Биохимические показатели ПОЛ и компонентов АОС в ткани легких и плазме крови экспериментальных животных

Группа		Церулоплазмин, мг/100 г	ДК, нмоль/г	МДА, нмоль/г	Гидроперекиси, нмоль/г	Витамин Е, мкг/г
Ткань легких	контроль	39,02±2,54	221,76±14,86	8,84±1,22	90,58±4,40	205,44±7,38
	«Лазер»	33,43±1,34 ¹	299,34±18,67 ¹	13,54±1,10 ¹	102,21±6,70 ¹	200,35±8,51 ¹
	«Вангинское + лазер»	38,3±1,94 ¹	237,24±12,29 ¹	12,44±1,38 ¹	92,0±3,96 ¹	198,26±9,83 ¹
	«Куликовское + лазер»	38,98±2,56 ¹	259,58±15,25 ¹	11,32±1,35 ¹	92,14±5,93 ¹	197,5±8,60 ¹
Плазма крови	контроль	21,44±1,27 ¹	51,82±5,15 ¹	4,92±1,15 ¹	20,18±1,21 ¹	27,16±1,69 ¹
	«Лазер»	19,12±0,89 ¹	68,23±5,6 ¹	5,3±1,32 ¹	29,89±2,05 ¹	26,34±1,82 ¹
	«Вангинское + лазер»	11,58±4,82	35,0±7,35 ¹	4,96±0,80 ¹	24,88±0,87 ¹	29,08±2,16 ¹
	«Куликовское + лазер»	21,18±0,55	52,72±6,10 ¹	4,44±0,54 ¹	27,24±2,28 ¹	21,94±1,28 ¹

¹ Разница с контролем статистически значима.

и группе «Лазер»: 70±3,4 к 30±1,7% и 60±3,2 к 40±1,7% соответственно. В группах «Куликовское+лазер» и «Вангинское+лазер» это соотношение составило 67±3,3 к 33±1,6% и 69±4,1 к 31±1,4% соответственно. Морфологических отличий клеток в экспериментальных группах от контроля обнаружено не было.

Обсуждение полученных данных. Низкоэнергетическое лазерное излучение в используемом режиме обладало прооксидантным действием, что согласуется с данными других исследователей [11]. В группе «Куликовское+лазер» по сравнению контролем в ткани легких и плазме крови регистрировалось достоверное увеличение уровней диеновых конъюгатов, МДА, гидроперекисей, а также снижение концентрации церулоплазмينا и витамина Е. Полученные данные свидетельствуют о функциональном снижении активности антиоксидантной системы при ингаляции цеолитов Куликовского месторождения в сочетании с низкоэнергетическим лазерным излучением, что может быть связано с повреждением легочной ткани цеолитом и стимуляцией воспаления лазерным излучением. В группе «Вангинское+цеолит» обнаружено повышение концентрации МДА и снижение уровня церулоплазмينا в гомогенате легких, а также повышение содержания гидроперекисей и МДА в плазме крови. С другой стороны, наблюдалось статистически значимое снижение концентрации диеновых конъюгатов и увеличение концентрации витамина Е в плазме крови (табл.).

Результаты проведенных исследований позволяют предположить, что как в случае с воздействием холода [3], так и при лазерном излучении, индуцирующем ПОЛ, цеолиты отдельных месторождений (например, Вангинского) проявляют себя как вещества с антиоксидантными свойствами. Цеолиты Куликовского месторождения, являясь по типу кристаллической решетки преимущественно морденитом (игольчатая структура), напротив, частично стимулируют ПОЛ. Конкретные механизмы этого процесса непонятны и не описаны в литературе и, несомненно, требуют дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (программа У.М.Н.И.К.) и гранта СО РАН ПСО-10 № 114.

Литература

1. Бородин Е.А., Арчаков А.И. Стабилизация и реактивация цитохрома Р-450 фосфатидилхолином при перекисном окислении липидов // Биологические мембраны. 1987. № 7. С. 719–728.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах М.: Наука, 1972. 320 с.
3. Голохваст К.С., Целуйко С.С. Иммуномодулирующие свойства цеолитов Вангинского месторождения при ингаляционном введении в условиях общего охлаждения // Дальневосточный мед. журн. 2006. № 3. С. 92–94.
4. Голохваст К.С., Гульков А.Н., Паничев А.М. и др. Патент РФ на полезную модель №76566. Установка для изучения внешних воздействий на животное. Опубликовано 27.09.2008. Бюл. № 27.
5. Кисилевич Р.Ж., Скварко С.И. Определение витамина Е в сыворотке крови // Лаб. дело. 1972. № 8. С. 473–475.
6. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. Минск, 1976. 312 с.
7. Прокопенко А.В. Системный анализ структурных проявлений компенсаторно-приспособительных реакций нижних дыхательных путей: дис. ... канд. мед. наук. Благовещенск, 2000. 238 с.
8. Романова Л.А. Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 64–66.
9. Стальная Е.А. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 63–64.
10. Шабалин В.Н., Иваненко Т.В., Скокова Т.В. и др. Иммунологические и физико-химические эффекты лазера на биологические объекты // Иммунология. 1990. Т. 6. С. 30–32.
11. Штарберг М.А. Антиокислительные свойства комбинированных препаратов фосфолипидов с производными малоновой и тиобарбитуровой кислот: дис. ... канд. мед. наук. Благовещенск, 1996. 178 с.
12. Momcilovic B. Megamin, faith, hope and placebos – a critical review // Arh. Hig. Rada. Toksikol. 1999. Vol. 50, No. 1. P. 67–78.
13. Sverko V., Sobocanec S., Balog T. et al. Natural micronized and clinoptilolite mixed with extract *Urtica dioica* L. as possible antioxidant // Food Technol. Biotechnol. 2004. Vol. 42. P. 189–192.

Поступила в редакцию 10.04.2009.

**ANTIOXIDATIVE AND IMMUNE-RESPONSE
MODULATING PROPERTIES OF NATURAL ZEOLITES**

*K.S. Golokhvas^{1,4}, A.M. Panichev², A.N. Gulkov¹,
I.V. Mischakov³, A.A. Vedyagin³*

¹ Far Eastern State Technical University (37 Pushkinskaya St. Vladivostok 690990 Russia), ² Pacific Institute of Geography, FEB RAS (7 Radio St. Vladivostok 690041 Russia), ³ Institute of Catalysis, RAS, Siberian Branch (5 Lavrentiev St. Novosibirsk 630090 Russia), ⁴ Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS (159 100-Anniversary Av. Vladivostok 690022 Russia)

Summary – The local immunity system in lungs is permanently exposed to injurious action of a number of chemical, physical and biological factors. Among other things, these are mineral

microparticles. This paper gives consideration to assessment of effects produced by the Vanginskiy and Kulikovskiy zeolite deposits on the local immunity in lungs. The authors used low-energy laser radiation as a factor very likely to induce lipid peroxidation and reduce functional activity of alveolar macrophages and lymphocytes. The studies allow to conclude that unlike the Kulikovskiy deposit zeolites appeared to intensify free radical reactions and suppress the local immunity system, the Vanginskiy deposit zeolites exhibited immunoprotective and antioxidative properties.

Key words: *zeolites, inhalation, laser radiation.*

Pacific Medical Journal, 2009, No. 3, p. 62–64.

УДК 616.72-002.77-085.37:615.35

С.В. Белова

Саратовский НИИ травматологии и ортопедии (410002 г. Саратов, ул. Чернышевского, 148)

**ФЕРМЕНТНЫЙ ИММУНОМОДУЛЯТОР В ТЕРАПИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
АУТОИММУННОГО АРТРИТА**

Ключевые слова: *экспериментальный аутоиммунный артрит, церулоплазмин.*

У кроликов с экспериментальным аутоиммунным артритом выявлены выраженные метаболические сдвиги, проявлявшиеся нарушением обмена протеогликанов, интенсификацией перекисного окисления липидов и несостоятельностью антиоксидантной системы защиты. При этом изменения наблюдались как в сыворотке крови, так и в суставном содержимом. Кроме того, имела место напряженность иммунопатологических реакций. Внутрисуставное введение иммуномодулятора церулоплазмينا в эксперименте привело к коррекции вышеописанных изменений, улучшению клинической картины и лабораторных показателей.

Аутоиммунные заболевания в развитых странах занимают третье место по частоте встречаемости и регистрируются у 5–8% населения [11]. К системным аутоиммунным поражениям относится и ревматоидный артрит, многие вопросы терапии которого до сих пор остаются открытыми.

Одним из механизмов развития ревматоидного артрита являются воспалительно-деструктивные процессы в суставных тканях, что сопровождается активацией свободно-радикального окисления, интенсификацией процессов перекисного окисления липидов и несостоятельностью антиоксидантной системы защиты [1, 4, 9].

Церулоплазмин (ЦП), являясь ключевым ферментным антиоксидантом сыворотки крови, обладает полифункциональными свойствами, в том числе и иммуномодулирующими. В последние годы данный препарат успешно применяется в комплексном консервативном, пред- и послеоперативном лечении больных ревматоидным артритом [1, 4]. В терапии подобных пациентов предусматривается и внутрисуставная терапия, преимуществом которой является целенаправленное воздействие на патологический очаг [6].

Белова Светлана Вячеславовна – канд. биол. наук, с.н.с. отдела лабораторной и функциональной диагностики СарНИИТО; тел.: 8 (452) 23-46-68; e-mail: sarniito_bsv@mail.ru.

В клинике практикуется внутривенное введение ЦП. Учитывая существенные метаболические изменения в суставных структурах у больных ревматоидным артритом, аутоиммунный компонент данной патологии и собственный положительный опыт по внутривенному применению ЦП [1, 4], а также его свойства [4], можно ожидать положительного эффекта и при внутрисуставном введении препарата.

Целью настоящего исследования послужил анализ эффективности внутрисуставной терапии аутоиммунного артрита ЦП в условиях эксперимента.

Материал и методы. Под наблюдением находилось 47 кроликов-самцов породы «шиншилла русская» в возрасте 6 мес., весом 3–3,6 кг. Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. 10 особей составили группу контроля, 23 особи с экспериментальным аутоиммунным артритом [2] получали внутрисуставную терапию лекарственным препаратом Ceruloplasminum в дозе 1,5 мг/кг массы тела (основная группа). Группу сравнения сформировали 14 животных с экспериментальным артритом, которым выполнялись внутрисуставные инъекции 0,85% раствора NaCl.

Эффективность результатов терапии оценивали с помощью клинических (осмотр, пальпация, измерение окружности коленных суставов и объема движений в них, определение массы тела), инструментальных (тепловизионная термография) и лабораторных методов исследования. Среди последних – гематологические (СОЭ, уровень гемоглобина и эритроцитов, лейкоформула), цитологические (общий цитоз и клеточный состав суставной жидкости), иммунологические (уровень циркулирующих иммунных комплексов). Оценивали состояние процессов перекисного окисления липидов (по уровню малонового диальдегида) и неклеточного ферментного звена