

этого заболевания признаками. В дальнейшем было показано, что трехнедельное введение викасола сопровождалось существенным ослаблением литогенеза, о чем свидетельствовали снижение мочевого концентрации оксалат-ионов, стабилизация активности маркерных ферментов повреждения нефроцитов, а также уменьшение количества и среднего размера кальциевых депозитов. Вероятно, это произошло из-за длительной стимуляции выработки протромбина в печени подопытных крыс, в результате которой в крови, а затем и в почках, повысилась концентрация фрагмента протромбина 1, что обеспечило эффективное лечение нефролитиаза [3].

Выводы

1. Длительное применение викасола для фармакологической коррекции экспериментального нефролитиаза сопровождается ослаблением тяжести заболевания, что проявляется уменьшением пересыщения мочи, восстановлением структурной и функциональной целостности почечного эпителия, снижением количества и размеров кальциевых депозитов.

2. Полученные результаты открывают новые перспективы в клиническом использовании препаратов витамина К.

1. Жариков, А.Ю. Современные методы моделирования оксалатного нефролитиаза. / А.Ю. Жариков, В.М. Брюханов, Я.Ф. Зверев, В.В. Лампатов // Нефрология. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 28-35.

2. Жариков, А.Ю. Новый способ определения оксалат-ионов в моче / А.Ю. Жариков, В.В. Лампатов, Я.Ф. Зверев, В.М. Брюханов, А.В. Кудинов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 12. – С. 3-5.

3. Зверев, Я.Ф. Современные представления о модуляторах оксалатного нефролитиаза. Ингибиторы кристаллизации. / Я.Ф. Зверев, А.Ю. Жариков, В.М. Брюханов, В.В. Лампатов // Нефрология. – 2010. – Т. 14, №1. – С. 29-49.

УДК 581.17

Н.А. Забиняков, Е.А. Сладкова

ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ-ГИПЕРКАПНИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИМФОЦИТОВ

Белгородский государственный университет, г. Белгород

Научный руководитель – **М.З. Федорова**, доктор биологических наук, профессор

Введение. Организм животных и человека постоянно подвергается разнообразным неблагоприятным воздействиям среды, одним из которых является гипоксия. Кислородная недостаточность встречается довольно часто и служит патогенетической основой или компонентом различных заболеваний. Кроме того, гипоксию часто сопровождает гиперкапния – избыточное накопление диоксида углерода в сердечно-сосудистой и дыхательной системах [1]. Изучению эффектов гипоксии и гиперкапнии посвящены многочисленные исследования, свидетельствующие о выраженном влиянии на уровень кислорода в тканях, нарушение метаболизма и структуры клеток, в том числе адсорбционно-транспортных свойств эритроцитов [2, 3]. Вместе с тем, остаются малоизученными вопросы о воздействии гипоксии на структурные и механические параметры белых клеток крови.

Цель работы – изучить влияние острой гипоксии-гиперкапнии на морфофункциональные характеристики лимфоцитов.

Материалы и методы. Исследования проведены на базе научно-исследовательской лаборатории «Физиология адаптационных процессов» национального исследовательского университета «БелГУ». В работе использовали 12 половозрелых самцов беспородных лабораторных крыс. Состояние острой гипоксии-гиперкапнии моделировали путем помещения животных в замкнутый сосуд объемом 750 см³ на 25 минут. Крысы контрольной группы содержали в клетках при стандартных условиях окружающей среды. Забор крови проводили путем декапитации наркотизированных животных. В качестве антикоагулянта использовали гепарин в количестве 20 Ед/мл. Кровь центрифугировали 10 мин при 1500 об./мин, собирали нижнюю часть плазмы, богатую лейкоцитами, и лейкоцитарное кольцо. Примесь эритроцитов разрушали 0.83% раствором хлорида аммония. Лейкоциты дважды отмывали изотоничным буферным раствором (раствор Дульбекко, рН = 7.4). Для оценки морфометрических параметров, потенциала и упругих свойств клеточной поверхности использовали атомно-силовой микроскоп NTEGRA Vita фирмы NT-MDT (г. Зеленоград). В каждой серии эксперимента сканировали по 15 лимфоцитов согласно разработанному «Способу исследования нативных клеток крови» (патент № 2398234). Данные о локальном модуле упругости получали в режиме силовой спектроскопии. Электрический заряд измеряли, используя метод пробы Кельвина. Достоверность различий между группами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. При анализе морфометрических параметров лимфоцитов в опытной группе животных выявлено уменьшение площади поверхности и объема клеток соответственно на 6,7% (p<0,05) и 15,4% (p<0,05) по сравнению с контролем. При этом высота лимфоцитов возрастала на 24,4% (p<0,05), что свидетельствует о снижении пластичности клеток. На сканах клеток не обнаружено различий в ультраструктуре поверхностей между опытной и контрольной группами. Полученные результаты и данные других исследований [4] об угнетении локомоторной функции и изменении хемотаксической активности лейкоцитов делают вероятным предположение о структурных перестройках цитоскелета.

По данным силовой спектроскопии установлено увеличение упругости лимфоцитов во всех точках наноидентификации в условиях острой гипоксии-гиперкапнии. Возрастание модуля Юнга в области ядра на 43,3% (p<0,05) может быть следствием компактизации хроматина. Кроме того, одной из причин возрастания упругости мембран клеток крови, может быть изменение состава сфинголипидов, существенно влияющих на структуру липидного бислоя мембран [5].

По результатам метода пробы Кельвина установлено, что острая гипоксия-гиперкапния индуцирует уменьшение потенциала лимфоцитов на 41,6% (p<0,05). Не исключено, что зафиксированное снижение отрицательного электрического заряда клеток крови является результатом потери карбоксильных групп силовых кислот на поверхности плазмалеммы. Изменение соотношения катионов и анионов в свою очередь проявляется в нарушении мембранного транспорта и активности клеточных рецепторов лимфоцитов [6].

Выводы. В условиях острой гипоксии-гиперкапнии установлено изменение геометрических параметров, увеличение локального модуля Юнга и снижение мембранного потенциала лимфоцитов. Возрастание упругости клетки способствует снижению ее деформационных свойств. В результате чего, «жесткие» лимфоциты провоцируют ухудшение оксигенации тканей.

1. Куликов, В.П. Состояние мозговой гемодинамики при долговременной адаптации к гиперкапнической гипоксии / В.П. Куликов, А.Г. Беспалов, Н.Н. Якушев // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2008. – №2. – С. 191-197.

2. Тихонова, Н.К. Исследование гидратации эритроцитов в оценке состояния детей раннего возраста с тяжелой дефицитной анемией при определении показаний к заместительной терапии / Н.К. Тихонова, Н.Ф. Фаращук // Вестник новых медицинских технологий. – 2005. - № 1. – С. 51-52.

3. Попова, И.Е. Изучение структурных свойств эритроцитов крови новорожденных при оксидативном стрессе, вызванном гипоксией / И.Е. Попова. – Воронеж, 2007. – 250 с.

4. Simone, A. Strategies and results of atomic force microscopy in the study of cellular adhesion / A. Simone, M.C. Durrieu [text] // Micron. – 2006. – V. 37. – P. 1–13.

5. Dexiang, Z. Assessing the Cytoskeletal System and its Elements in C6 Glioma Cells and Astrocytes by Atomic Force Microscopy / Z. Dexiang, J. Xiaodan // Cell Mol Neurobiol. – 2008. – P. 895-905.

6. Козинец, Г.И. Электрический заряд клеток крови: лабораторно-клиническое значение / Г.И. Козинец, О.В. Попова, М.И. Будник. – М.: Практическая медицина, 2007. – 208 с.

УДК 616.61:615.5

Е.Н. Зайцева

СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ В РЕГУЛЯЦИИ ЦЕЛЛЮЛЯРНОГО И ПАРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА НАТРИЯ В НЕФРОНАХ

Самарский государственный медицинский университет,
г. Самара

Научный руководитель – А.В. Дубищев, доктор медицинских наук, профессор

Введение. 5-гидрокситриптамин, серотонин, вызывает разнообразные физиологические и фармакологические эффекты, осуществляемые путем воздействия на соответствующие рецепторы многих органов и систем [1]. Достаточно хорошо изучено влияние серотонина на центральную нервную систему, сердечно-сосудистую систему и гемостаз [2].

Однако роль серотонина, серотониновых рецепторов, серотонинергических веществ в функции почек мало изучена [3]. Выявление препаратов с натриуретическим эффектом, в том числе и среди серотонинергических веществ, остается одной из наиболее актуальных задач.

В проведенных ранее острых экспериментах нами было доказано преобладание у крыс в норме серотонина в корковом слое почек по сравнению с мозговым. При моделировании постишемической острой почечной недостаточности (ОПН) уровень серотонина значительно возрастал в кортикальных структурах. Кроме того, было выявлено антидиуретическое и антисалуретическое действие серотонина и противоположный эффект селективного блокатора 5-HT₃-рецепторов ондансетрона, а также нефропротекторный эффект последнего при экспериментальной постишемической ОПН.

Целью настоящего исследования явилось проведе-

ние анализа влияния серотонина и ондансетрона на целлюлярный и парацеллюлярный транспорт натрия в нефронах.

Материалы и методы. Для изучения механизма действия серотонина и ондансетрона на клеточном и мембранном уровнях были использованы модельные опыты на биологических мембранах, осуществляющих направленный транспорт электролитов, аналогично переносу натрия, калия и других катионов в почечных канальцах. Таким объектом явились отрезки тонкого кишечника крыс, из которых формировались замкнутые сегменты. Крысы наркотизировались, вскрывалась брюшная полость. Производилась мобилизация тонкого кишечника. Кишечник тщательно промывался раствором Рингера, сегментировался на равные отрезки. Потом внутрь этих сегментов вводился раствор Рингера, сами они помещались в среду инкубации – раствор Рингера, содержащий вместо ионов натрия ионы лития.

Количество натрия, перенесенного со стороны слизистой оболочки к серозной при инкубации в течение 4 часов, явилось показателем транспортных процессов. Каждый час из среды инкубации забирались пробы для анализа. Среда инкубации аэрировалась воздухом. Изучался эффект на транспорт натрия серотонина, ондансетрона, совместного действия препаратов, гипоксии аргонном.

Аналогично были поставлены опыты с маркером парацеллюлярного транспорта уранином (флуоресцеина динатриевой солью), который помещался внутрь отрезков тонкой кишки крыс. Количество уранина, перенесенного со стороны слизистой оболочки к серозной при инкубации в течение 4 часов, явилось показателем транспортных процессов. Среда инкубации аэрировалась воздухом/аргоном. Изучалось влияние на транспорт уранина серотонинергических веществ – серотонина, ондансетрона, а также совместного действия препаратов. Определение содержания уранина проводилось методом флуориметрии, длина волны возбуждения 365 нМ, флуоресценции – 510 нМ.

Также были выполнены модельные опыты на отмытых эритроцитах с маркером мембранного транспорта флуоресцентным зондом АНС (1-анилино-8-нафталинсульфонат). Суть метода заключается в том, что при инкубации эритроцитов в среде АНС одна часть его фиксируется на стенке эритроцитов, а другая часть переносится через мембрану с наружной стороны внутрь клеток. Кинетика выбирания нативными эритроцитами АНС из раствора имела быструю фазу (длительность меньше 1 мин), определяемую адсорбцией красителя на наружной стороне мембраны, и медленную фазу, обусловленную переносом АНС через мембрану внутрь клетки. Количество АНС, проникшего в полость эритроцитов, является критерием проницаемости.

Под легким эфирным наркозом у крыс из задней полой вены забиралось 6-8 мл крови. После центрифугирования и получения пасты эритроцитов, последние 2 раза промывались 6-ти кратным объемом стерильного изотонического раствора натрия хлорида и снова центрифугировались. Полученное количество эритроцитов делилось на 2 порции, одна из которых являлась опытной, вторая – контрольной. Обе порции эритроцитов (1,5-2 мл) разбавлялись 25 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида и помещались в аппарат для встряхивания на 15 мин. К опытной порции добавлялся препарат (серо-