

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ РИБОКСИНА, ЭССЕНЦИАЛЕ И ФИЛЛОХИНОНА НА ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ И АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО И МАГНИТО-ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК, ВЫЗВАННОМ ГЕНТАМИЦИНОМ

Н. А. Конопля¹, Л. Г. Прокопенко¹, Б. С. Утешев²

Введение гентамицина крысам линии Вистар приводит к развитию токсического поражения почек, супрессирует гуморальный иммунный ответ на эритроциты барана и индуцирует появление у эритроцитов иммуносупрессорных свойств, обусловленных повышением процессов перекисного окисления липидов в их мембранах и нарушением энергетического баланса. В этих условиях сочетание лазерного или магнитно-лазерного облучения с филлохиноном или рибоксином более эффективно корригирует нарушения иммунной реактивности и антиоксидантного статуса, чем излучение или его комбинация с эссенциале. Отмена иммуносупрессирующих свойств у эритроцитов крыс, получавших гентамицин, связана со свойством филлохинона и эссенциале уменьшать выраженность процессов перекисного окисления липидов в мембранах клеток и свойством рибоксина нормализовать их энергетический баланс.

Ключевые слова: магнитно-лазерное облучение, иммуностимуляция, рибоксин, филохинон, эссенциале

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие в терапии многих патологических процессов получило распространение низкоэнергетическое лазерное облучение и комбинация лазерного облучения с действием на ткани магнитного поля. Восприимчивость биологических структур к лазерному и магнитному излучению обусловлена наличием специфических и неспецифических фотоакцепторов, а также железосодержащих молекул, нарушение конформации которых приводит к изменению их парамагнитных свойств. Взаимодействие фотоакцепторов и молекул с измененными парамагнитными свойствами определяют степень поглощения энергии лазерным и магнитно-лазерным облучением (ЛЮ и МЛЮ), обеспечивает ее преобразование в биофизических и биохимических процессах [7].

Основной мишенью для лазерного излучения служат мембраны клеток и внутриклеточных органелл, конформационные перестройки которых являются молекулярной основой его антиоксидантного действия. На основании имеющихся данных лазерное излучение следует рассматривать как антиоксидант физической природы, который по конечному результату действия

не отличается от химических природных и синтетических антиоксидантов [6].

Важным аспектом лазеротерапии является воздействие излучения на функциональное состояние иммунной системы. Под влиянием инфракрасного лазерного излучения повышается экспрессия рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток, возрастает функциональная активность полиморфноядерных лейкоцитов и спонтанная пролиферативная активность лимфоцитов, увеличивается абсолютное количество лимфоцитов, снижается количество Т-супрессоров в крови, тимусе, селезенке и лимфатических узлах [2].

Одной из важных сторон повышения эффективности лазерной терапии является сочетание ее с назначением лекарственных препаратов при различных формах иммунной недостаточности.

Выраженные, трудно поддающиеся коррекции нарушения иммунологических функций возникают при антибиотикотерапии [8, 10], при этом недостаточно эффективными оказываются эссенциале и рибоксин.

Целью настоящей работы было изучение влияния эссенциале, рибоксина и филохинона на иммунометаболические эффекты, вызываемые лазерным и магнитно-лазерным облучением, у интактных крыс и животных с токсическим поражением почек, вызванным введением гентамицина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на крысах линии Вистар массой 180 – 200 г. Токсическое поражение почек вы-

¹ Кафедра биохимии (зав. — проф. Л. Г. Прокопенко) Курского государственного медицинского университета, Курск, 305033, ул. К. Маркса, 3

² Кафедра фармакологии (зав. — проф. Б. С. Утешев) Российского государственного медицинского университета, Москва, 117487, ул. Островитянова, 1

зывали внутримышечным введением гентамицина в дозе 3 мг/кг, 3-кратно с интервалом 24 ч [8]. Для облучения использовали аппарат “Мустанг”, индуцирующий инфракрасное излучение с длиной волны 0,89 мкм в импульсном режиме с частотой 80 Гц. Средняя выходная мощность излучения не превышала 2 Вт. При магнитно-лазерном облучении использовали магнитную насадку, укрепленную на лазерном излучателе. Напряженность постоянного магнитного поля равнялась 25 – 35 мТл. Использовали контактный способ воздействия на переднюю брюшную стенку в области срединной линии. Облучение проводили двукратно с интервалом 12 ч. Филлохинон, эссенциале и рибоксин вводили в зону облучения двукратно с интервалом 12 ч (одновременно с облучением) соответственно в дозах 2,5; 50 (по фосфолипидам) и 10 мг/кг. В опытах без применения лазерного облучения применялись дозы препаратов в два раза больше.

Для индукции гуморального иммунного ответа крыс иммунизировали эритроцитами барана, которые вводили однократно внутривенно в дозе 10^9 клеток на 1 кг массы тела. О выраженности гуморального иммунного ответа судили по количеству антителообразующих и розеткообразующих клеток в селезенке на пятые сутки после иммунизации. Число антителообразующих клеток (АОК) устанавливали методом прямого локального гемолиза в агаре [9], одновременно определяли количество иммунных розеткообразующих клеток (РОК) [5]. Энергообеспечение эритроцитов оценивали по содержанию в них 2,3-бисфосфолипидов и аденозинтрифосфата (АТФ) [3], интенсивность перекисного окисления липидов — по содержанию малонового диальдегида и степени перекисного гемолиза эритроцитов [1]. Результаты обрабатывали статистически. Вычисляли средние арифметические величины определявшихся показателей и их стандартные ошибки. Существенность различий сред-

них оценивали по критериям Стьюдента и Вилкоксона – Манна – Уитни [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У интактных животных лазерное облучение стимулировало развитие гуморального иммунного ответа на эритроциты барана. Филлохинон усиливал эффект лазерного облучения, а эссенциале и рибоксин не влияли на его выраженность. У крыс, получавших гентамицин, лазерное облучение усиливало, но не нормализовало развитие иммунного ответа, филлохинон и эссенциале усиливали действие лазерного облучения, а рибоксин в этом отношении был не активен. Магнитно-лазерное облучение стимулировало развитие иммунного ответа у интактных крыс, выраженность стимуляции была большей, чем при лазерном облучении. Филлохинон и рибоксин усиливали эффект в большей степени, чем эссенциале. Аналогичная картина наблюдалась у крыс, получавших гентамицин (табл. 1).

Лазерное облучение снижало степень перекисного гемолиза и содержание малонового диальдегида, но не влияло на концентрацию 2,3-бисфосфолипидов и АТФ в эритроцитах крыс, получавших гентамицин. Филлохинон и эссенциале усиливали интенсивность действия лазерного облучения, выраженность усиления была большей при введении филлохинона. На энергетический баланс эритроцитов препараты влияния не оказывали. В отличие от этого, рибоксин не влиял на антиоксидантный эффект лазерного облучения, но в сочетании с последним повышал содержание 2,3-бисфосфолипидов и АТФ в эритроцитах крыс, получавших гентамицин. Магнитно-лазерное облучение снижало степень перекисного гемолиза и содержание малонового диальдегида в эритроцитах крыс, получавших гентамицин. Филлохинон и эссенциале усиливали это действие магнитно-лазерного облучения, а

Таблица 1. Влияние филлохинона, эссенциале и рибоксина на иммуномодулирующий эффект лазерным и магнитно-лазерным облучением (ЛО и МЛО)

Условия опыта	Интактные животные		Крысы, получавшие гентамицин	
	АОК	РОК	АОК	РОК
1. Контроль (без облучения и введения препаратов)	28,7 ± 3,3	54,6 ± 5,7	10,3 ± 1,5	34,0 ± 4,2
2. ЛО	36,6 ± 4,2 ^{*1}	67,5 ± 7,2 ^{*1}	18,2 ± 2,1 ^{*1}	46,8 ± 5,0 ^{*1}
3. ЛО + филлохинон	50,3 ± 5,7 ^{*1,2}	79,6 ± 8,4 ^{*1,2}	27,1 ± 3,0 ^{*1,2}	57,3 ± 6,1 ^{*1,2}
4. ЛО + эссенциале	34,2 ± 3,9 ^{*1,3}	68,0 ± 7,4 ^{*1,3}	25,4 ± 2,8 ^{*1,2}	55,0 ± 5,8 ^{*1,2}
5. ЛО + рибоксин	37,2 ± 4,3 ^{*1,3}	64,9 ± 7,0 ^{*1,3}	16,8 ± 1,9 ^{*1,3,4}	48,1 ± 5,2 ^{*1,3,4}
6. МЛО	47,6 ± 5,0 ^{*1,2}	78,3 ± 8,2 ^{*1,2}	24,2 ± 2,9 ^{*1,2}	53,7 ± 5,9 ^{*1,2}
7. МЛО + филлохинон	66,4 ± 6,9 ^{*6}	91,0 ± 9,6 ^{*6}	38,8 ± 4,3 ^{*6}	69,3 ± 7,9
8. МЛО + эссенциале	58,1 ± 6,3 ^{*6,7}	79,6 ± 8,5 ^{*6,7}	32,6 ± 3,7 ^{*6,7}	60,4 ± 6,6 ^{*6,7}
9. МЛО + рибоксин	70,2 ± 7,5 ^{*6,8}	95,3 ± 9,8 ^{*6,8}	41,5 ± 9,8 ^{*6,8}	72,2 ± 7,6 ^{*6,8}

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: АОК — число антителообразующих клеток на селезенку, 10^3 ; РОК — число розеткообразующих клеток на селезенку, 10^6 ; * — достоверность различий средних, $p < 0,05$; Цифра рядом со звездочкой указывает, по отношению к какой группе различия достоверны.

рибоксин не оказывал влияния на антиоксидантное действие облучения. Магнитно-лазерное облучение в отдельности и в сочетании с филлохиноном и эссенциале не влияло на содержание в эритроцитах 2,3-бисфосфоглицерата и АТФ. Рибоксин в сочетании с магнитно-лазерным облучением увеличивал содержание этих соединений в клетках (табл. 2).

Лазерное облучение и магнитно-лазерное облучение в отдельности и в сочетании с филлохиноном, эссенциале или рибоксином не индуцировали появление иммуномодулирующих свойств у эритроцитов интактных крыс. Лазерное облучение уменьшало выраженность иммуносупрессирующих свойств эритроцитов крыс, получавших гентамицин. Филлохинон усиливал этот эффект лазерного облучения, а эссенциале и рибоксин не влияли на него. Магнитно-лазерное облучение в большей степени, чем лазерное, ослабляло иммуносупрессирующие свойства эритроцитов крыс, получавших гентамицин. Эссенциале не влиял на

активность магнитно-лазерного облучения. Филлохинон в сочетании с магнитно-лазерным облучением отменял иммуносупрессирующие свойства эритроцитов, а рибоксин в сочетании с магнитно-лазерным облучением индуцировал появление у них слабовыраженных иммуностимулирующих свойств (табл. 3).

На основании полученных данных можно полагать, что отмена иммуносупрессирующих свойств эритроцитов в определенной степени связана с уменьшением выраженности процессов перекисного окисления липидов в мембране этих клеток, а для появления иммуностимулирующих свойств необходимым условием является нормализация их энергетического баланса. Первый из этих эффектов вызывают антиоксиданты липидной природы — филлохинон и полиненасыщенные фосфолипиды, второй — инозин, распадающийся в эритроцитах с образованием 2,3-бисфосфоглицерата и пентозо-5-фосфата, а также повышающий активность клеточных ферментов гликолиза и пентозо-фос-

Таблица 2. Влияние филлохинона, эссенциале и рибоксина на изменение антиоксидантного и энергетического статуса эритроцитов, вызываемых лазерным и магнитно-лазерным облучением (ЛО и МЛО) у крыс, получавших гентамицин

Группы животных	Малоновый диальдегид	Степень перекисного гемолиза	2,3-бисфосфоглицерат	АТФ
1. Контроль	35,4 ± 2,3	5,8 ± 0,6	5,4 ± 0,3	1,8 ± 0,2
2. Крысы, получавшие гентамицин	52,5 ± 3,4 ^{*1}	12,4 ± 1,4 ^{*1}	3,8 ± 0,2 ^{*1}	0,9 ± 0,1 ^{*1}
3. Крысы, получавшие гентамицин + ЛО	46,4 ± 3,1 ^{*1,2}	9,0 ± 1,1 ^{*1,2}	3,6 ± 0,2 ^{*1,2}	0,8 ± 0,1 ^{*1,2}
4. Крысы, получавшие гентамицин + ЛО + филлохинон	38,1 ± 2,5 ^{*1-3}	7,0 ± 0,8 ^{*1-3}	3,7 ± 0,2 ^{*1-3}	0,9 ± 0,1 ^{*1-3}
5. Крысы, получавшие гентамицин + ЛО + эссенциале	42,5 ± 2,9 ^{*1-3}	7,9 ± 0,9 ^{*1-3}	3,9 ± 0,2 ^{*1-3}	1,0 ± 0,1 ^{*1-3}
6. Крысы, получавшие гентамицин + ЛО + рибоксин	45,0 ± 3,2 ^{*1,2}	9,6 ± 1,0 ^{*1,2}	4,3 ± 0,2 ^{*1,2}	1,4 ± 0,1 ^{*1,2}
7. Крысы, получавшие гентамицин + МЛО	44,3 ± 3,0 ^{*1-4}	8,7 ± 0,9 ^{*1-5}	3,7 ± 0,2 ^{*1}	0,7 ± 0,1 ^{*1}
8. Крысы, получавшие гентамицин + МЛО + филлохинон	38,2 ± 2,6 ^{*7}	6,6 ± 0,7 ^{*7}	3,9 ± 0,3 ^{*7}	0,8 ± 0,1 ^{*7}
9. Крысы, получавшие гентамицин + МЛО + эссенциале	41,0 ± 2,8 ^{*7}	6,8 ± 0,7 ^{*7}	3,7 ± 0,12 ^{*7}	0,7 ± 0,1 ^{*7}
10. Крысы, получавшие гентамицин + МЛО + рибоксин	46,0 ± 3,2 ^{*8,9}	8,9 ± 1,0 ^{*8,9}	4,5 ± 0,3 ^{*1,5,7}	1,3 ± 0,1 ^{*1,7,9}

Таблица 3. Влияние лазерного (ЛО) и магнитно-лазерного (МЛО) облучения, филлохинона, эссенциале и рибоксина на иммуномодулирующие свойства эритроцитов

Группы животных	Эритроциты интактных животных		Эритроциты крыс, получавших гентамицин	
	АОК	РОК	АОК	РОК
1. Контроль	26,4 ± 3,2	54,2 ± 6,0	26,4 ± 3,2	54,2 ± 6,0
2. Эритроциты	27,8 ± 3,3	56,1 ± 6,2	11,2 ± 1,7 ^{*1}	37,4 ± 3,8 ^{*1}
3. Эритроциты + ЛО	25,0 ± 3,2	53,7 ± 5,8	16,2 ± 2,8 ^{*1,2}	43,6 ± 4,5 ^{*1,2}
4. Эритроциты + ЛО + филлохинон	28,6 ± 3,5	57,4 ± 6,2	24,0 ± 2,7 ^{*1-3}	49,3 ± 5,4 ^{*1-3}
5. Эритроциты + ЛО + эссенциале	24,9 ± 2,8	52,2 ± 5,7	15,5 ± 1,9 ^{*1,2,4}	41,8 ± 4,7 ^{*1,2,4}
6. Эритроциты + ЛО + рибоксин	28,0 ± 3,2	55,0 ± 6,1	18,7 ± 2,1 ^{*1,2,4}	44,9 ± 5,0 ^{*1,2,4}
7. Эритроциты + МЛО	27,5 ± 3,0	53,3 ± 5,4	21,7 ± 2,8 ^{*1-3}	50,7 ± 5,4 ^{*1-3}
8. Эритроциты + МЛО + филлохинон	25,3 ± 2,8	56,0 ± 6,2	27,5 ± 3,0 ^{*5,6}	56,7 ± 5,3 ^{*5,6}
9. Эритроциты + МЛО + эссенциале	26,1 ± 3,0	51,9 ± 5,7	20,8 ± 2,7 ^{*7}	48,9 ± 5,4 ^{*7}
10. Эритроциты + МЛО + рибоксин	29,1 ± 3,6	57,4 ± 6,3	38,6 ± 4,2 ^{*6-8}	67,5 ± 7,2 ^{*6-8}

фатного пути и усиливающий таким путем немитохондриальный синтез АТФ [12].

Результаты проведенных исследований показывают, что сочетание лазерного облучения и магнитно-лазерного облучения с введением филлохинона или рибоксина более эффективно корригировало антиоксидантный статус и иммунологическую реактивность, чем излучение как таковое или в комбинации с эссенциале. Филлохинон усиливал действие лазерного и магнитно-лазерного облучения. Вероятно, это обусловлено тем, что филлохинон, модифицируя мембрану, участвует в активировании ее фотоакцепторной функции клеток, чувствительных к лазерному облучению. Рибоксин не оказывал существенного влияния на действие лазерного облучения, но значительно усиливал эффект, вызванный магнитно-лазерным облучением. Выявлено, что магнитно-лазерное облучение и рибоксин оказывают однонаправленное влияние на иммуномодулирующие свойства эритроцитов. По-видимому, активное соединение рибоксина — инозин, проникая в эритроциты, подвергается там метаболическим превращениям, одним из интермедиатов которого является 2,3- бисфосфоглицерат, снижающий сродство оксигемоглобина к кислороду [11]. Дезоксигенирование атома железа изменяет его ориентацию в плоскости порфиринового кольца гема и приводит к изменению парамагнитных свойств гемоглобина. Последнее повышает чувствительность белка к действию лазерного излучения и изменяет характер его электрохимических взаимодействий с интегрированными белками внутренней поверхности мембраны эритроцитов. Вероятно, это изменяет архитектуру (а возможно, и состав) эпитопов поверхности мембраны и повышает эффективность взаимодействия эритроцитов с рецепторами иммуноцитов.

ВЫВОДЫ

1. Сочетание лазерного или магнитно-лазерного облучения с филлохиноном или рибоксином более эффективно корригирует нарушения иммунной реактивности и антиоксидантного статуса в условиях токсического поражения почек, вызванного гентамицином, чем излучение или его комбинация с эссенциале.

2. Отмена иммуносупрессирующих свойств эритроцитов крыс, получавших гентамицин, связана со свойством филлохинона и эссенциале уменьшать выраженность процессов перекисного окисления липидов в мембранах клеток и свойством рибоксина нормализовать энергетический баланс клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. И. Бенисович, Л. И. Идельсон, *Вопр. мед. химии*, **19**(6), 596 – 599 (1973).
2. Б. С. Брискин, А. К. Полонский, И. М. Алиев и др., *Клин. медицина*, № 1, 54 – 56 (1996).
3. И. Л. Виноградова, С. Ю. Багрянцева, Г. В. Дервиз, *Лаб. дело*, № 7, 424 – 426 (1980).
4. Е. В. Гублер, *Вычислительные методы анализа в распознавании патологических процессов*, Медицина, Москва (1978).
5. Х. Зауэр, *Иммунологические методы*, Г. Фримель (ред.), Медицина, Москва (1987), сс. 278 – 282.
6. С. М. Зубкова, *Вопр. курортол.*, № 2, 3 – 7 (1997).
7. Т. В. Кончугова, С. Б. Прешин, А. А. Миненков, *Вопр. курортол.*, № 1, 42 – 45 (1997).
8. А. И. Лазарев, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Москва (1998).
9. К. Мальберг, Э. Зигль, *Иммунологические методы*, Г. Фримель (ред.), Медицина, Москва (1987), сс. 57 – 72.
10. Л. Г. Прокопенко, Е. Н. Конопля, И. Л. Ласкова и др., *Метаболическая коррекция токсических и лекарственных иммунопатий*, Курск (1997).
11. Л. Страйер, *Биохимия*, Мир, Москва (1985).
12. С. Б. Французова, В. Я. Кривелевич, В. П. Пархонюк, *Фармакол. и токсикол.*, № 1, 115 – 118 (1984).

Поступила 28.12.2000

THE EFFECTS OF RIBOXIN, ESSENTIALE, AND PHYLLIQUINONE ON THE IMMUNOMODULANT AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF LASER AND MAGNETO-LASER RADIATION IN ANIMALS WITH GENTAMYCINE INDUCED TOXIC LIVER DAMAGE

N. A. Konoplya¹, L. G. Prokopenko¹, and B. S. Uteshev²

¹ Biochemistry Department, Kursk State Medical University, ul. K. Marksa 3a, Kursk, 305033 Russia

² Pharmacology Department, State Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117437 Russia

The introduction of gentamycin to Wistar rats leads to the toxic liver damage, suppresses humoral immune response to goat erythrocytes, and induces immunosuppressant properties in erythrocytes (caused by increased lipid peroxidation in their membranes and violated cell energy balance) Under these conditions, a combination of the laser or magneto-laser irradiation with the administration of phylloquinone of riboxin provides for a more effective correction of the immune reaction and antioxidant status as compared to the radiation treatment without drugs or with essential. Elimination of the gentamycin induced immunosuppressant properties of erythrocytes is explained by the ability of phylloquinone and essential to reduce the intensity of lipid peroxidation in the cell membranes and with the ability of riboxin to normalize the cell energy balance. An important factor of immunosuppression development in the case of a toxic liver damage caused by D-galactosamine is the interaction of thrombocytes and light erythrocytes with serum factors. The introduction of essential and riboxin favors this interaction and stimulates the development of immunosuppression in thrombocytes.