

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТОВ ЖИРОРАСТВОРИМЫХ ВИТАМИНОВ ПОСЛЕ ИНТЕНСИВНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК, ВЫПОЛНЯВШИХСЯ ПРИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

А. Р. Авакян¹, И. Л. Бровкина¹, А. И. Лазарев¹, Б. С. Утешев²

Препараты жирорастворимых витаминов (А, Е и К) введенные по отдельности, уменьшали выраженность изменений иммунологической реактивности и неспецифической резистентности крыс линии Вистар, плававших в течение 4 ч в воде, имеющей температуру $10 \pm 2^\circ\text{C}$. Совместное введение препаратов витаминов А и Е или А и К нормализовало иммунологическую реактивность и неспецифическую резистентность крыс, плававших в холодной воде. Сочетанное применение препаратов витаминов Е и К такого эффекта не вызывало.

Ключевые слова: физическая нагрузка, охлаждение, жирорастворимые витамины, иммунологическая реактивность, неспецифическая резистентность

ВВЕДЕНИЕ

При различных формах стресса и патологии изменяется неспецифическая резистентность и иммунологическая реактивность организма в отношении многих антигенных раздражителей [9]. Значительные нарушения иммунологических функций возникают после интенсивных физических нагрузок [8] и при остром холодном стрессе. Одной из основных причин иммуносупрессии при стрессе и патологии является усиление генерации активных метаболитов кислорода, повышение интенсивности перекисного окисления липидов, нарушение структуры и функции клеточных мембран [1].

В производственных условиях, при занятиях спортом и выполнении специальных заданий интенсивные физические нагрузки нередко выполняются при низкой температуре окружающей среды [18]. Сочетанное влияние физических и холодных нагрузок на иммунологические функции мало изучено [10]. В соответствии с этим не разработаны средства иммунокоррекции после физических нагрузок, выполняемых при низкой температуре окружающей среды.

Угнетение иммунологической реактивности после физических нагрузок, выполняемых без охлаждения, и с охлаждением эффективно корректируется препаратами витаминов А, Е и К [7, 15]. Учитывая это, целью работы было изучение иммуномодулирующей эффективности препаратов жирорастворимых витаминов после интенсивных физических нагрузок, выполняемых при низкой температуре окружающей среды.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на крысах линии Вистар массой 180 – 200 г. Животные однократно плавали по 4 ч с грузом 3,5 – 4% от массы тела при температуре воды $(10 \pm 2)^\circ\text{C}$. Препараты витаминов А, Е и К (ретинола ацетат, токоферола ацетат и филлохинон) вводили 5-кратно с 12-часовым интервалом в желудок. Первое введение препаратов проводили непосредственно после плавания и охлаждения. Разовые дозы витаминов А, Е и К равнялись 15, 30 и 10 мг/кг соответственно.

Развитие гуморального иммунного ответа (ГИО) и гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) индуцировали внутрибрюшинным введением эритроцитов барана — ЭБ (однократно в дозе 10^6 клеток/кг). Для оценки выраженности ГИО в селезенке определяли количество антителообразующих клеток [12] и число иммунных розеткообразующих клеток [4] через 5 сут после иммунизации. При оценке выраженности ГЗТ через 4 сут после внутрибрюшинной инъекции в подушечку задней конечности вводили разрешающую дозу ЭБ (10^6 клеток). Спустя 24 ч после этого определяли разницу массы и количества кариоцитов в регионарном и контралатеральном лимфатических узлах [16]. О функционально-метаболической активности (ФМА) лейкоцитов периферической крови судили по величинам фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса и показателям НСТ-теста (спонтанного и индуцированного латексом) [17].

В эритроцитах, выделенных по Bcutler [19], определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионредуктазы [11], каталазы [13] и глутатионпероксидазы [3], содержание 2,3-бифосфоглицерата (БФГ) и аденозинтрифосфата (АТФ) [2]. Эритроциты фракционировали в градиенте плотности яичного альбумина [5]. Выделяли лёгкую ($< 1,079$) и тяжёлую ($> 1,117$) фракции клеток. Иммуномодулирующую активность лёгких и тяжёлых эритроцитов устанавливали путём трёхкратного с 12-часовым интервалом введения в

¹ Кафедра биологической химии (зав. — проф. Л. Г. Прокопенко) Курского государственного медицинского университета, Курск, 305041, ул. К. Маркса, 3

² Кафедра фармакологии (зав. — проф. Б. С. Утешев) Российского государственного медицинского университета, Москва, 117869, ул. Островитянова, 1.

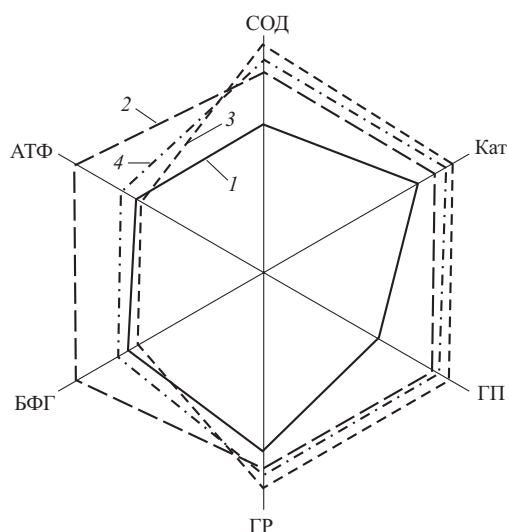


Рис. 1. Влияние парных сочетаний жирорастворимых витаминов на антиоксидантный и энергетический статус эритроцитов. 1 — ФНИО; 2 — ФНИО + витамин А; 3 — ФНИО + витамин Е; 4 — ФНИО + витамин К. Здесь и на рис. 2: Кат — каталаза; ГП — глутатионпероксидаза; ГР — глутатионредуктаза.

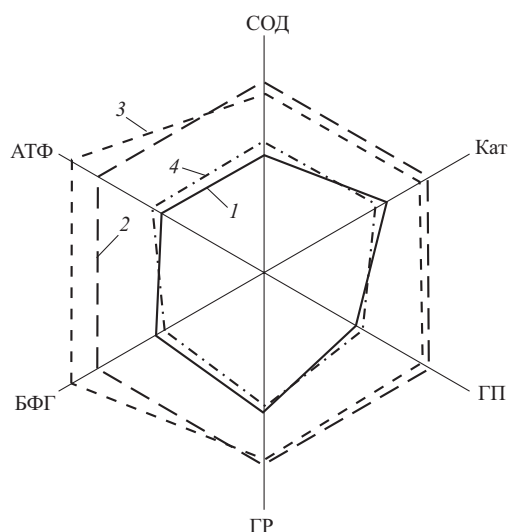


Рис. 2. Влияние жирорастворимых витаминов на антиоксидантный и энергетический статус эритроцитов при ФНИО. 1 — ФНИО; 2 — ФНИО + витамин А и Е; 3 — ФНИО + витамин А и К; 4 — ФНИО + витамин Е и К. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

дозе 10^7 клеток/кг аллогенным животным с последующей иммунизацией их ЭБ.

Результаты исследований подвергали статистической обработке. Различия средних величин оценивали по Стьюденту и Вилкоксоу-Манну-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Физическая нагрузка, сочетавшаяся с иммерсионным охлаждением (ФНИО), значительно угнетала развитие ГИО и ГЗТ, снижала ФМА лейкоцитов. Введение всех жирорастворимых витаминов по отдельности в различной степени уменьшало выраженность угнетения ГИО и ГЗТ, а также снижало ФМА лейкоцитов. Вместе с тем витамины А и К не влияли на вызванное ФНИО снижение показателей НСТ-теста, а витамин Е не резко (но статистически существенно) увеличивал это снижение (табл. 1 и 2).

При совместном введении дозы витаминов были равны половине тех, которые использовали при раздельном применении. Установлено, что совместное введение плававшим и охлажденным крысам витаминов А и Е вызывало более выраженное увеличение показателей ГИО, ГЗТ и ФМА лейкоцитов, чем каждый из витаминов в отдельности. Совместное введение витаминов А и К нормализовало большинство показателей иммунологической реактивности и неспецифической резистентности. В отличие от этого сочетанное введение витаминов Е и К не влияло на угнетение ГИО, ГЗТ и ФМА лейкоцитов крови, вызываемое ФНИО (табл. 3 и 4). Можно предположить, что при совместном введении плававшим и охлажденным животным витаминов Е и К, характерные для них антиоксидантные свойства инвертируются в прооксидантные. Возможность такой инверсии доказана для β -каротина [6],

однако применительно к жирорастворимым витаминам подобный феномен не описан. Принципиальное научно-практическое значение этого феномена обосновывает целесообразность его детального изучения.

Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что применение указанных сочетаний жирорастворимых витаминов позволяет получить разнонаправленные эффекты, целесообразность которых при различных состояниях может быть неодинаковой. Этим, вероятно, объясняется отсутствие эффекта или возникновение парадоксальных эффектов при использовании препаратов поливитаминов.

Развитие различных форм иммунного ответа при стрессе и в условиях патологии определяется состоянием иммуноцитов и влиянием на них клеточных элементов микроокружения. Постоянной составной частью такого микроокружения иммуноцитов в крови являются эритроциты. Изучена роль различных популяций эритроцитов в механизме развития иммуносупрессии и действия метаболических иммуномодуляторов при физической нагрузке без охлаждения и при иммерсионном охлаждении без нагрузки [14]. Не изучен вопрос об участии эритроцитов в реализации иммунологических функций при интенсивных физических нагрузках, сочетающихся с действием на организм других агентов, индуцирующих состояние стресса. Не выяснена направленность и выраженность сочетанного применения жирорастворимых витаминов на метаболический статус и иммуномодулирующие свойства эритроцитов при различных формах стресса и патологии.

Изучение иммунометаболического состояния эритроцитов и влияния витаминов А, Е и К на антиоксидантный потенциал, энергетический статус и иммуно-

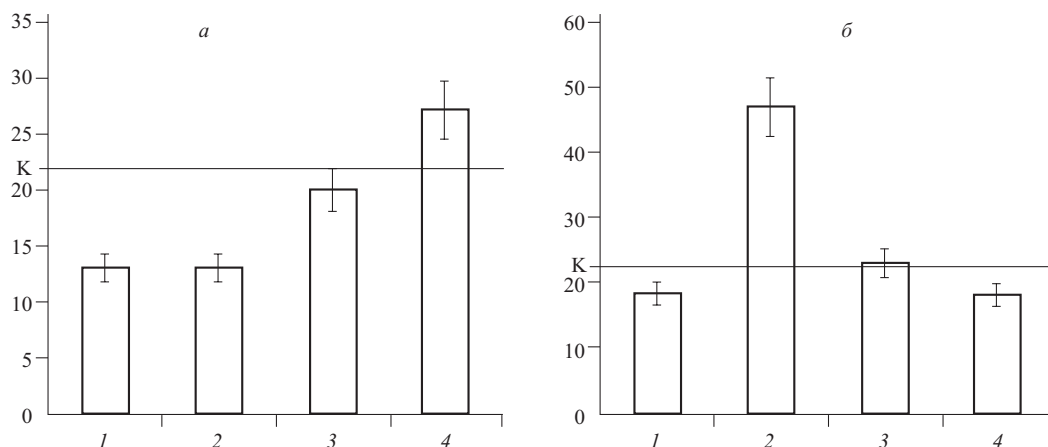


Рис. 3. Влияние витаминов А, Е и К на иммуномодулирующие свойства эритроцитов при ФНИО.

По оси абсцисс: 1 — ФНИО; 2 — ФНИО + витамин А; 3 — ФНИО + витамин Е; 4 — ФНИО + витамин К. Здесь и на рис. 4: по оси ординат: количество АОК (тыс./орган); К — уровень контроля; а — легкие эритроциты; б — тяжелые эритроциты.

модулирующие свойства эритроцитов при ФНИО показало, что ФНИО значительно снижала активность ферментов антиоксидантной системы в эритроцитах и уменьшала содержание в этих клетках макроэргических соединений. Введение плавающим и охлажденным животным всех жирорастворимых витаминов по отдельности уменьшало выраженность вызванного нагрузкой снижения активности СОД, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы. В наибольшей степени этот эффект характерен для токоферола ацетата. Витамины А и Е не влияли на показатели энергетического статуса эритроцитов. В отличие от этого витамин К повышал (но не нормализовал) содержание БФГ и АТФ в эритроцитах после ФНИО (рис. 1). Совместное введение витаминов А и Е, а также А и К нормализовало показатели антиоксидантного и энергетического статуса эритроцитов крыс, выполнявших ФНИО. В противоположность этому сочетанное введение витаминов Е и К не влияло на выраженность нарушения антиоксидантного и энергетического статуса эритроцитов, вызываемое ФНИО (рис. 2).

Плавание при низкой температуре индуцировало появление в крови легких эритроцитов обладающих иммуносупрессорными свойствами. Раздельное введение витаминов Е и К плавающим и охлажденным животным предотвращало появление у легких эритроцитов иммуносупрессирующих свойств. Витамин А не влиял на свойства легких эритроцитов, но индуциро-

вал появление иммуностимулирующей активности у тяжелых клеток плавающих и охлажденных крыс (рис. 3).

Совместное введение плавающим при низкой температуре крысам витаминов А и Е или А и К отменяло иммуносупрессирующие свойства легких эритроцитов и индуцировало появление сильно выраженных иммуностимулирующих свойств у тяжелых эритроцитов. В отличие от этого сочетанное применение витаминов Е и К не влияло на иммуносупрессирующие свойства легких эритроцитов и не индуцировало появление иммуностимулирующих свойств у тяжелых клеток после ФНИО (рис. 4).

Результаты проведенных исследований показывают, что витамины А и Е оказывают выраженное влияние на антиоксидантный потенциал и не влияют на энергообеспечение эритроцитов. Витамин К на уровне эритроцитов проявляет антиоксидантные и энергезирующие свойства. Витамин А индуцирует появление иммуностимулирующих свойств у тяжелых эритроцитов. Витамины Е и К предотвращают появление иммуносупрессирующих свойств у легких клеток. Витамины А и Е, а также А и К являются синергистами в отношении изменения метаболического статуса эритроцитов и коррекции их иммуномодулирующей активности. Витамины Е и К взаимно ослабляют или отменяют вызываемые ими иммунометаболические эффекты при ФНИО.

Таблица 1. Влияние жирорастворимых витаминов на развитие иммунного ответа, индуцированного ЭБ у крыс, выполнявших ФНИО

Условия опыта	АОК	РОК	РМЛ	РКЛ
1. Контроль без ФНИО и введения витаминов	23,5 ± 2,7	49,8 ± 5,4	4,2 ± 0,5	5,6 ± 0,6
2. ФНИО (без введения витаминов)	6,6 ± 0,7* ¹	19,6 ± 2,3* ¹	1,6 ± 0,2* ¹	2,2 ± 0,3* ¹
3. ФНИО и введение витамина А	13,4 ± 1,5* ^{1,2}	34,6 ± 3,8* ²	2,1 ± 0,2* ¹	2,5 ± 0,3* ¹
4. ФНИО и введение витамина Е	14,8 ± 1,7* ^{1,2}	35,6 ± 3,9* ^{1,2}	1,8 ± 0,2* ¹	2,3 ± 0,3* ¹
5. ФНИО и введение витамина К	13,7 ± 1,5* ^{1,2}	36,8 ± 4,1* ^{1,2}	2,0 ± 0,3* ¹	2,4 ± 0,4* ¹

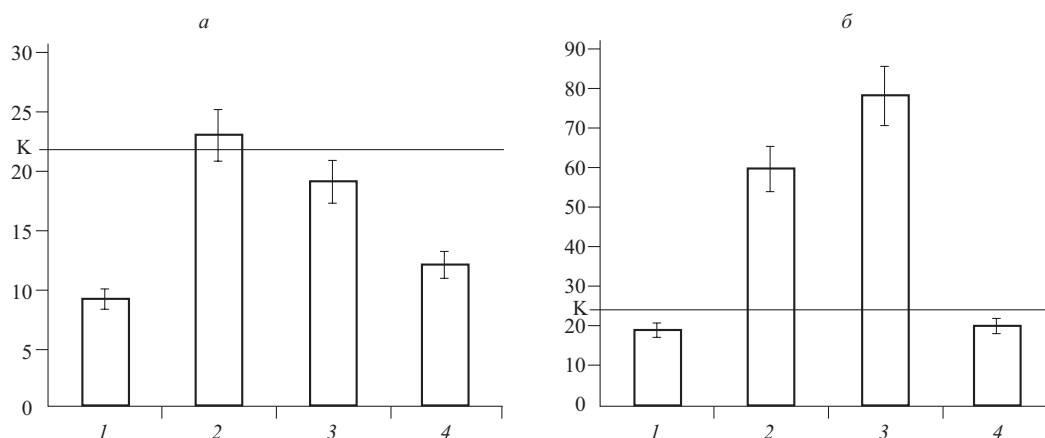


Рис. 4. Влияние парных сочетаний витаминов А, Е и К на иммуномодулирующие свойства эритроцитов при ФНИО.

По оси абсцисс: 1 — ФНИО; 2 — ФНИО + витамины А и Е; 3 — ФНИО + витамины А и К; 4 — ФНИО + витамины Е и К. Остальные обозначения те же, что на рис. 3.

Не выявлено четкой зависимости между метаболическим и иммуномодулирующим действием жирорастворимых витаминов на уровне эритроцитов при ФНИО.

Это позволяет предположить, что появление иммуномодулирующих свойств у эритроцитов обусловлено как изменением метаболического состояния клеток, вызываемым жирорастворимыми витаминами, так и связыванием с наружной поверхностью их мембраны соединений, накапливающихся в крови при ФНИО.

ВЫВОДЫ

1. Плавание в течение 4 ч с грузом 3,5 – 4% от массы тела в воде, имеющей температуру (10 ± 2)°С, значительно угнетает иммунологическую реактивность и функционально-метаболическую активность лейкоцитов крови, снижает антиоксидантный и энергетиче-

ский потенциал эритроцитов, индуцирует появление у них иммуносупрессирующих свойств.

2. Ретинола ацетат, токоферола ацетат и филлохинон при раздельном введении уменьшают выраженность угнетения иммунологической реактивности и функционально-метаболической активности лейкоцитов, повышают антиоксидантный (все препараты) и энергетический (филлохинон) потенциал эритроцитов. Витамины Е и К ослабляют иммуносупрессирующие свойства лёгких эритроцитов, витамин А индуцирует появление иммуностимулирующих свойств у тяжелых клеток.

3. Сочетанное введение ретинола ацетата и токоферола ацетата или ретинола ацетата и филлохинона нормализует иммунологическую реактивность и функционально-метаболическую активность лейкоцитов, антиоксидантный и энергетический статус эритроцитов, отменяет иммуносупрессирующие свойства лёгких

Таблица 2. Влияние витаминов на функционально-метаболическую активность лейкоцитов периферической крови крыс, выполнявших ФНИО

Условия опыта	ФЧ	ФИ	НСТ _{спонт.}	НСТ _{индуц.}
1. Контроль без ФНИО и введения витаминов	42,3 ± 4,7	1,3 ± 0,1	11,4 ± 1,2	33,4 ± 1,8
2. ФНИО (без введения витаминов)	30,4 ± 3,3 ^{*1}	0,5 ± 0,06 ^{*1}	6,2 ± 0,7 ^{*1}	21,8 ± 1,4 ^{*1}
3. ФНИО и введение витамина А	36,2 ± 3,9 ^{*1,2}	0,9 ± 0,07 ^{*1,2}	6,0 ± 0,5 ^{*1}	23,6 ± 1,5 ^{*1}
4. ФНИО и введение витамина Е	37,0 ± 3,5 ^{*1,2}	0,8 ± 0,06 ^{*1,2}	4,7 ± 0,5 ^{*2,3}	17,2 ± 1,2 ^{*1,2}
5. ФНИО и введение витамина К	36,9 ± 3,7 ^{*1,2}	0,9 ± 0,1 ^{*1,2}	6,4 ± 0,8 ^{*1,4}	22,7 ± 1,6 ^{*1,4}

Таблица 3. Влияние совместного введения жирорастворимых витаминов на развитие иммунного ответа, индуцированного ЭБ крыс, выполнявших ФНИО

Условия опыта	АОК	РОК	РМЛ	РКЛ
1. Контроль без ФНИО и введения витаминов	23,5 ± 2,7	49,8 ± 5,4	4,2 ± 0,5	5,6 ± 0,6
2. ФНИО (без введения витаминов)	6,6 ± 0,7 ^{*1}	19,6 ± 2,3 ^{*1}	1,6 ± 0,2 ^{*1}	2,2 ± 0,3 ^{*1}
3. ФНИО и введение витаминов А и Е	18,8 ± 2,0 ^{*1,2}	41,6 ± 4,7 ^{*2}	3,3 ± 0,4 ^{*1,2}	3,6 ± 0,4 ^{*1,2}
4. ФНИО и введение витаминов А и К	24,1 ± 2,8 ^{*2,3}	52,4 ± 5,5 ^{*2,3}	4,0 ± 0,5 ^{*2,3}	5,3 ± 0,6 ^{*2,3}
5. ФНИО и введение витаминов Е и К	6,9 ± 0,5 ^{*1,3,4}	22,0 ± 2,4 ^{*1,3,4}	1,4 ± 0,2 ^{*1,3,4}	2,4 ± 0,3 ^{*1,3,4}

Таблица 4. Влияние совместного введения жирорастворимых витаминов на функционально-метаболическую активность лейкоцитов периферической крови крыс, выполнявших ФНИО

Условия опыта	ФЧ	ФИ	НСТ _{спонт.}	НСТ _{индуц.}
1. Контроль без ФНИО и введения витаминов	42,3 ± 4,7	1,3 ± 0,1	11,4 ± 1,2	33,4 ± 1,8
2. ФНИО (без введения витаминов)	30,4 ± 3,3 ^{*1}	0,5 ± 0,06 ^{*1}	6,2 ± 0,7 ^{*1}	21,8 ± 1,4 ^{*1}
3. ФНИО и введение витамина А и Е	37,8 ± 4,2 ^{*2}	0,8 ± 0,07 ^{*1,2}	8,6 ± 0,8 ^{*1,2}	26,4 ± 1,6 ^{*1,2}
4. ФНИО и введение витамина А и К	40,4 ± 4,2 ^{*2}	1,2 ± 0,1 ^{*2,3}	10,9 ± 0,5 ^{*1,2,3}	31,7 ± 1,8 ^{*1,2,3}
5. ФНИО и введение витамина Е и К	28,4 ± 3,2 ^{*1,3,4}	0,4 ± 0,05 ^{*1,3,4}	6,6 ± 0,5 ^{*1,3,4}	20,1 ± 1,2 ^{*1,2,4}

эритроцитов, индуцирует появление выраженных иммуностимулирующих свойств у тяжелых клеток.

4. Сочетанное применение токоферола ацетата и филлохинона не оказывает существенного влияния на иммунометаболические изменения, вызываемые интенсивной физической нагрузкой при низкой температуре окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

- В. А. Афанасьев, *Автореф. дис. докт. мед. наук*, (Москва) 1995.
- И. Л. Виноградова, С. И. Багрянцева, Г. В. Дервиз, *Лаб. дело*, № 7, 424 – 426 (1980).
- А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара, *Лаб. дело*, № 12, 72 – 74 (1986).
- Х. Зауэр, *Иммунологические методы*, Медицина, Москва (1987), сс. 278 – 281.
- Т. В. Кобзев, Н. А. Троицкая, В. И. Куприенко, О. М. Кобозева, *Пат. сист. крови и кровообращ.*, Симферополь (1978), сс. 49 – 51.
- В. В. Ланкин, А. И. Козаченко, *Бюл. эксперим. биол.*, № 9, 314 – 316 (1999).
- И. Л. Ласкова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Киев (1990).
- И. Л. Ласкова, *Автореф. дис. докт. мед. наук*, Москва (1995).
- В. А. Левандо, Р. С. Суздальницкий, Г. Н. Кассиль и др., *Усп. физиол. наук*, 21(3), 79 – 97 (1990).
- А. М. Лосенок, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Курск (1995).
- Е. В. Макаренко, *Лаб. дело*, № 11, 48 – 50 (1988).
- К. Мальберг, Э. Зигль, *Иммунологические методы*, Медицина, Москва (1987), сс. 57 – 72.
- М. А. Подильчак, *Клиническая энзимология*, Киев (1967).
- Л. Г. Прокопенко, В. А. Афанасьев, А. Р. Авакян и др., *Иммунометаболические аспекты холодового стресса*, Курск (1999).
- В. Н. Рыбников, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Курск (1997).
- В. Н. Федосеева, Г. В. Порядин, Л. В. Ковальчук и др., *Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях*, ПРОМЕДЭК, Москва (1993).
- Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, Х. И. Истомов, *Экологическая иммунология*, ВИИРО, Москва (1995).
- В. М. Шубик, М. Н. Левин, *Иммунитет и здоровье спортсменов*, Физкультура и спорт, Москва (1985).
- Е. Vcutler, *Brit. J. Haematol.*, 61, 377 – 384 (1985).

Поступила 17.01.2002

IMMUNOMODULANT ACTION OF FAT-SOLUBLE VITAMINS UPON INTENSE PHYSICAL LOADING AT LOW AMBIENT TEMPERATURES

A. R. Avakyan¹, I. L. Brovkina¹, A. I. Lazarev¹, and B. S. Uteshev²

¹ Biochemistry Department, Kursk State Medical University, ul. K. Marksa 3a, Kursk, 305041 Russia

² Pharmacology Department, State Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117869 Russia

Introduced separately, preparations of the fat-soluble vitamins A, E and K decreased the expression of changes in the immunological reactivity and nonspecific resistance of Wistar rats after a 4-h swimming in water at a temperature of 10 ± 2°C. Joint administration of the vitamin preparations A + E or A + K normalized both the immunological reactivity and nonspecific resistance of rats after cold swim test, while the joint introduction of vitamins E + K produces no such effect.