

ществ, которые восстанавливают АФК и выступают, таким образом, в защитной роли антиоксидантов. К ферментативным антиоксидантам относятся супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатионзависимые пероксидазы и трансферазы.

В наших экспериментах было изучено влияние  $O_2^*$ ,  $H_2O_2$  (2 мМ) и  $FeSO_4$  (2 мМ), на активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза и каталаза) в проростках *Allium fistulosum*. В качестве источника  $O_2^*$  использован электроэфлювиальный ионизатор воздуха (аэроионизатор "Сетеон", произведенный НПЦ "Альфа-Ритм"), образующий отрицательно заряженный кислород в процессе тихого разряда без примесей озона и положительных аэроионов.

Активность СОД и каталазы при действии  $H_2O_2$  и ионов  $Fe^{2+}$  уменьшается по сравнению с контролем в среднем в 1,2-1,8 раз и составляет при действии  $H_2O_2$  у СОД 0,66 усл.ед/мг белка, а у каталазы 36,56 мкат/л, а при совместном действии  $H_2O_2$  и  $FeSO_4$  у СОД 0,06 усл.ед/мг белка, а у каталазы 15,92 мкат/л. Обработка семян  $O_2^*$  в течение 40 минут в присутствии  $H_2O_2$  и  $FeSO_4$  стимулировала процессы антиоксидантной защиты, способствуя увеличению активности супероксиддисмутазной и каталазной активностей, снижению уровня пероксидации липидов в проростках. При увеличении времени обработки в присутствии  $H_2O_2$  и  $FeSO_4$  наблюдалось снижение активности антиоксидантных ферментов и повышение уровня пероксидации липидов в проростках *Allium fistulosum*. Наименьшая активность СОД и каталазы наблюдалась при воздействии  $O_2^*$  в течение 80 минут при совместном действии  $H_2O_2$  и  $FeSO_4$ . В этих условиях активность СОД уменьшалась на 77 %, каталазы на 47 % по сравнению с контролем.

Двуликость эффекта  $O_2^*$  определяется концентрацией  $O_2^-$  как во внешней среде, так и внутри клетки. При концентрации супероксида и других АФК характерной для нормально функционирующих клеток (несколько пикомолей), они выполняют медиаторные функции, участвуют в процессах сигнальной трансдукции и, в целом, в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза клеток и гомеостаза  $Ca^{2+}$ . Под действием АФК в клетках происходит активация экспрессии редокс-чувствительных генов, многие из которых необходимы для защиты клеток от токсических эффектов окислительного стресса. Когда концентрация АФК превышает норму в 2-3 раза, в клетках наблюдаются генотоксические эффекты АФК. Генотоксическое действие АФК может усиливаться за счет активизации процессов перекисного окисления липидов. Высокие концентрации АФК и липидных гидропероксидов ингибируют синтез ДНК и деление клеток и могут активировать апоптоз (программированную смерть клеток), предупреждая прогрессирование злокачественных процессов и гибель целого организма.

Таким образом, в данном эксперименте установлено, что  $O_2^*$ ,  $H_2O_2$  (2 мМ) и  $FeSO_4$  (2 мМ) могут нарушать динамическое равновесие в системе про-антиоксиданты у *Allium fistulosum*, активируя свободно-радикальные реакции, что в свою очередь может приводить к дополнительным повреждениям генети-

ческих структур, инициируемых свободными радикалами.

### ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА ГИБЕЛЬ КЛЕТОК МЕРИСТЕМЫ *ALLIUM FISTULOSUM*

Пьянзина Т.А., Трофимов В.А.

Мордовский государственный университет  
им. Н.П. Огарева

Основным рассматриваемым в данной работе фактором, воздействующим на живую систему на клеточном уровне, является активная форма кислорода (АФК) - супероксидный радикал  $O_2^*$ , являющийся непосредственным предшественником перекиси водорода в реакции восстановления кислорода до воды в процессе дыхания аэробных живых систем. В небольших количествах  $O_2^-$  стимулирует функции клетки, играя регуляторную роль. В малых концентрациях (мкМ)  $O_2^*$  активирует те же клеточные функции (рост, синтез белков и т.д.), что и многие естественные активаторы, действуя на активность фосфолипаз и ионных каналов плазматической мембраны, на окислительное фосфорилирование белков, на концентрацию внутриклеточного  $Ca^{2+}$  и т.д. Доказано, что при этом химический потенциал  $O_2^-$  недостаточен для некротического действия на клетку. Более высокие концентрации  $O_2^-$  ингибируют метаболические процессы. Если же количество  $O_2^-$  достигает 3-5% от потребленного кислорода, это приводит к окислительному взрыву и повреждению клеток.

В наших экспериментах было изучено влияние  $O_2^*$ ,  $H_2O_2$  (2 мМ) и  $FeSO_4$  (2 мМ), на гибель клеток меристемы *Allium fistulosum*. В качестве источника  $O_2^*$  использован электроэфлювиальный ионизатор воздуха (аэроионизатор "Сетеон", произведенный НПЦ "Альфа-Ритм"), образующий отрицательно заряженный кислород в процессе тихого разряда без примесей озона и положительных аэроионов.

В контроле в клетках меристемы *A. fistulosum* признаков апоптоза не обнаружено. Ядра в этих клетках ровные, хроматин равномерно распределен внутри ядра по всей площади, что при обработке красителем дает картину гомогенного ровного окрашивания. При действии  $O_2^*$  в течение 40 мин признаки апоптоза также не обнаружены. При увеличении времени воздействия  $O_2^*$  до 60 мин и выше наблюдалось уплотнение ядерного хроматина, прижатого к внутренней ядерной мембране, что является ранним диагностическим признаком апоптоза. При действии  $H_2O_2$  доля апоптотирующих клеток возрастала до 13 %, некротически измененные клетки не наблюдались. В этих условиях при воздействии  $O_2^*$  в течение 40 мин доля апоптотирующих клеток уменьшалась на 33 % по сравнению с контролем, некротически измененные клетки также не наблюдались. При увеличении времени обработки  $O_2^*$  до 60 мин в присутствии  $H_2O_2$  доля апоптотирующих клеток возрастала на 117 % по сравнению с контролем, на долю некротически измененных клеток в этих условиях приходилось около 13 %. Дальнейшее увеличение времени воздействия  $O_2^*$  до 80 минут в присутствии  $H_2O_2$  приводит к воз-

растанию доли апоптотизирующих клеток до 35 %, доля некротически измененных клеток в этих условиях увеличивалась до 17 %. Наиболее яркая картина апоптоза наблюдалась при совместном действии на клетки меристемы *A. fistulosum*  $H_2O_2$  и  $FeSO_4$ . При этом обнаруживались ядра, распадающиеся на 3-5 обломков, различающихся размерами (фрагментация ядер). Очевидно, что высокий уровень гибели клеток связан с образованием в реакции Фентона гидроксильного радикала  $OH^*$ .  $OH^*$  обладает чрезвычайно высокой реакционной способностью и является основным повреждающим агентом в биологических объектах.

Таким образом, механизм действия индукторов апоптоза в значительной мере определяется временем обработки  $O_2^*$ . По-видимому, способность  $O_2^*$  подавлять апоптоз, связана с активацией супероксиддисмутазы и каталазы. Более длительная обработка  $O_2^*$  индуцирует гибель клеток, при этом происходит ингибирование антиоксидантных ферментов и повышение уровня свободнорадикальных процессов в клетке. Веским доказательством роли процессов перекисного окисления липидов в апоптозе клеток *Allium fistulosum* могут выступать результаты экспериментов с использованием прооксидантов. Индуцируемая  $H_2O_2$  гибель клеток резко усиливалась в присутствии ионов  $Fe^{2+}$ . Дисбаланс активности ферментов усиливался при совместном действии  $H_2O_2$  и ионов  $Fe^{2+}$ , в условиях, когда в реакции Фентона образуется гидроксильный радикал, и прооксидантная активность индукторов резко возрастала.

#### ФАГОЦИТАРНЫЕ И ЦИТОКИНОВЫЕ НАРУШЕНИЯ У ДЕТЕЙ СО ВТОРИЧНЫМ ОБСТРУКТИВНЫМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ

Разин М.П.<sup>1</sup>, Лавров О.В.<sup>1</sup>, Разин А.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Кировская государственная медицинская академия, Киров

<sup>2</sup> Сальская центральная больница, Сальск

Обструктивный пиелонефрит (ОП) – самое раннее и частое осложнение разнообразных пороков развития мочевых путей в детском возрасте [1,2]. Из таких аномалий мочевого тракта, прежде всего, следует выделить врожденный гидронефроз, далее (в порядке уменьшения частоты встречаемости) – пузырно-мочеточниковый рефлюкс, стенозирующий уретерогидронефроз, пиелоктазию (которую у детей старше года мы рассматриваем как минорную аномалию мочевой системы), синдром Фредея, синдром врожденной инфравезикальной обструкции. У ряда детей обструктивные уropатии осложняются уролитиазом, артериальной гипертензией, хронической почечной недостаточностью [4,5,7], но наибольшее клиническое значение имеет обструктивный пиелонефрит, который существенноотягощает течение и прогноз основной патологии, создает дополнительные трудности лечения больных, что обусловлено воспалительными изменениями чашечно-лоханочной системы и мозгового слоя почки, возникновением иммунных нарушений и иммунопатологических реакций [3].

В литературе встречаются некоторые данные о нарушениях иммунитета при первичном и вторичном

пиелонефрите [5,6], но, принимая во внимание то, что при пиелонефрите, осложняющем течение врожденных обструктивных уropатий (ВОУ), уже имеется врожденная иммунологическая перестройка организма из-за постоянной антигенной стимуляции по причине врожденного нарушения дифференцировки тканей мочевого тракта, можно предположить наличие у таких больных своеобразного иммунного ответа организма, складывающегося по сочетанному (первичный + вторичный) механизму. Кроме того, остается мало освещенным состояние неспецифической резистентности организма у детей с ОП, причем как ее клеточного, так и гуморального звеньев.

В этой связи представляют интерес данные, полученные при изучении динамики показателей клеточной и гуморальной неспецифической резистентности при ОП у детей с врожденными обструктивными уropатиями. В детской хирургической клинике Кировской медицинской академии мы наблюдали и лечили 50 детей (32 мальчика и 18 девочек) в возрасте от 5 до 15 лет с ВОУ и ОП. Из них врожденным гидронефрозом страдали 29 больных, врожденным пузырно-мочеточниковым рефлюксом – 8, стенозирующим уретерогидронефрозом – 6, пиелоктазия была диагностирована у 4, гидрокаликоз – у 2 больных, синдром врожденной инфравезикальной обструкции – в одном случае. У наблюдаемых больных мы проводили общеклинические, клинико-лабораторные, биохимические, инструментальные и иммунологические исследования.

Все больные с врожденным гидронефрозом II-III степени были прооперированы по Андерсону-Хайнсу, с врожденным пузырно-мочеточниковым рефлюксом – по Козну, со стенозирующим уретерогидронефрозом – по Маршаллу-Стивенсону. Бужирование задней уретры выполнялось мальчику с синдромом инфравезикальной обструкции (врожденный стеноз задней уретры). Консервативно были пролечены больные с пиелоктазией и синдромом Фредея. Терапия этих больных сводилась к санации пиелонефрита.

Вместе с тем, у всех детей общей группы при поступлении в стационар (до лечения) и в отдаленном периоде после стационарного лечения (спустя три месяца после выписки из стационара) определяли состояние неспецифической резистентности организма по изменениям фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН), фагоцитарного индекса (ФИ) и теста восстановления в цитоплазме нейтрофилов нитросинего тетразолия до диформаза (НСТ-тест). Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли, используя в качестве фагоцитируемого объекта частицы латекса, по методу Потаповой С.Г. и соавт. (1977); результаты выражали в процентах. Фагоцитарный индекс рассчитывали как среднее количество частиц латекса, поглощенное одним фагоцитом. Активацию нейтрофилов при постановке НСТ-теста проводили латексом, подсчитывали количество клеток, образующих гранулы диформаза (Петров Р.В. с соавт., 1992); результаты выражали в процентах. Состояние цитокинового статуса исследовали, выявляя в динамике уровни ИЛ-1 $\beta$  (интерлейкина-1- $\beta$ ) и ФНО- $\alpha$  (фактора некроза опухоли- $\alpha$ ) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением наборов реагентов, выпускае-