

2) в период с 35 до 57 лет происходит уменьшение объема чечевицеобразного ядра приблизительно в 2 раза;

3) в период с 58 до 79 лет также происходит незначительное уменьшение объема чечевицеобразного ядра.

Зависимость объема чечевицеобразного ядра мужчин и женщин от возраста представлены на рисунке 1.

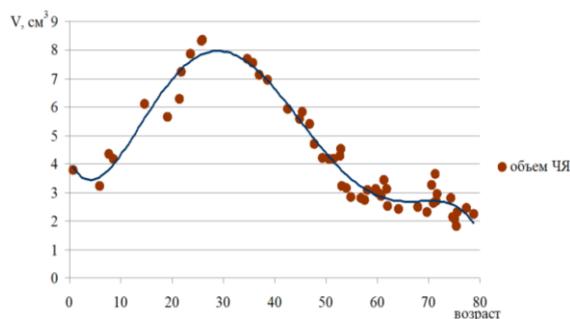


Рисунок 1 — Зависимость объема чечевицеобразного ядра от возраста

При анализе графика можно заметить, что некоторые значения сильно отклоняются от среднего, что связано с индивидуальными особенностями развития организма человека.

### **Выводы**

Результаты исследования показали, что с возрастом наблюдается сначала увеличение, а затем снижение объема чечевицеобразного ядра, что может быть связано с развитием и старением организма в постнатальном периоде. Снижение объема чечевицеобразного ядра может привести к таким патологиям как нарушение двигательной активности, тремор, рассеянный склероз. Данные нарушения могут наблюдаться у людей пожилого возраста.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Анатомия человека / М. Р. Сапин [и др.]. — М.: Медицина, 1997. — С. 329.
2. Неврология и нейрохирургия: учебник: в 2 т. / под ред. А. Н. Коновалова [и др.]. — 2009. — Т. 2. — С. 183.
3. <http://allcalc.ru/node/40>.
4. [http://mojvuz.com/index.php?page=story&node\\_id=468&story\\_id=331](http://mojvuz.com/index.php?page=story&node_id=468&story_id=331).

УДК 612.112.014-071

## **ОПТИМИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ NO-ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ**

*Железко В. В.*

**Учреждение образования**

**«Гомельский государственный медицинский университет»**

**г. Гомель, Республика Беларусь**

### **Введение**

Способность лейкоцитов к продукции оксида азота (NO) является одной из важнейших функций, которая в совокупности с другими проявлениями функциональной активности определяет их бактерицидный потенциал. Интенсивность генерации NO среди пулов лейкоцитов периферической крови имеет различия, однако основной вклад в образование NO вносят нейтрофилы (Нф). Существуют прямые и косвенные методы определения NO [1]. Прямые способы детекции NO (газовая хроматография, хемилюминесценция, ампервольтамперметрия, масс-спектрометрия и др.) основаны на непосредственной регистрации NO или его комплексов, однако они сложны, трудоемки и требуют дорогостоящего специального оборудования. Косвенные методы основаны на культивировании NO-продуцирующих клеток в питательных средах с последующим фотометрическим определением в надосадочной жидкости концентрации конечных метаболитов NO (нитратов и нитритов) [1–3]. Наиболее широко для этих целей используется реактив Грисса, однако его применение ограничивается сложностью приготовления самого реагента и токсичности входящих в его состав компонентов (в частности, альфа-нафтиламина). Метод определения NO по накоплению нитрированной аминокислоты тирозина (3-нитротирозина, 3-NT) в надосадочной жидкости в практической работе не применяется, т. к. не определены методические подходы.

### Цель

Подобрать оптимальные условия оценки нитроксид-продуцирующей способности нейтрофилов крови по накоплению 3-NT в надосадочной жидкости.

### Материал и методы исследования

Материалом для исследования служили лейкоциты 10 практически здоровых лиц. Клетки получали путем отстаивания гепаринизированной венозной крови (10 Ед/мл) в течение 45 минут при 37 °С. Количество Нф в лейкоцитарной суспензии доводили до концентрации  $5 \times 10^6$  клеток/мл путем разведения необходимым количеством фосфатно-солевого буфера (рН = 7,4). Жизнеспособность Нф в тесте исключения трипанового синего составляла не менее 95 %. Оценка NO-продуцирующей активности лейкоцитов проводилась по методу J. P. Crow по накоплению 3-NT в плазме [4].

Выделенные из крови лейкоциты инкубировали различные промежутки времени (30, 60, 150 и 180 минут) при 37 °С в среде RPMI-1640. По окончании времени инкубации клеточную суспензию центрифугировали в течение 5 минут при 250 g. Надосадочную жидкость фотометрировали при  $\lambda = 430$  нм. Концентрацию 3-NT рассчитывали по формуле:  $C = A/d \times \epsilon$ , где C — концентрация 3-нитротирозина, A — показатель абсорбции, d — длина оптического пути,  $\epsilon$  — коэффициент молярной абсорбции  $\epsilon_{430} = 4400$ . Результат выражали в (мМ/л)<sup>-1</sup>.

Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов. Результаты выражали в виде Me (25 %; 75 %), где Me — медиана, 25 % — нижний квартиль, 75 % — верхний квартиль. Различия считали значимыми при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что для оценки продукции NO клеточные культуры обычно инкубируют не менее 6 ч при температуре 37 °С [1]. Считается, что именно такой период необходим для продукции оксида азота активированной индуцибельной NO-синтетазой. Однако такое длительное культивирование клеток существенно повышает трудоемкость процесса и делает метод малопригодным для практической работы. Поэтому мы оценили способность лейкоцитов к продукции NO за различные промежутки времени — 30, 60, 150 и 180 минут (таблица 1).

Таблица 1 — Нитроксид-продуцирующая способность лейкоцитов в зависимости от длительности инкубации клеточных культур

| Оцениваемый параметр       | Длительность инкубирования культур лейкоцитов, мин |                 |                    |                    |
|----------------------------|----------------------------------------------------|-----------------|--------------------|--------------------|
|                            | 30 минут                                           | 60 минут        | 150 минут          | 180 минут          |
| 3-NT, (мМ/л) <sup>-1</sup> | 5,8 (4,4; 7,6)                                     | 7,5 (3,2; 10,8) | 21,0 (18,8; 39,6)* | 31,8 (28,0; 38,0)* |

\*Различия значимы ( $p < 0,05$ ) в сравнении с 30-минутным культивированием. Данные представлены в виде Me (25 %; 75 %).

Как видно из таблицы 1, в надосадочной жидкости лейкоцитов, инкубированных в течение 30 и 60 минут, накапливается небольшое, но определяемое фотометрически количество 3-NT (5,8 (4,4; 7,6) и 7,5 (3,2; 10,8) (мМ/л)<sup>-1</sup> соответственно). Увеличение длительности культивирования приводило к значимому повышению содержания NO в центрифугате (21,0 (18,8; 39,6) через 150 минут и 31,8 (28,0; 38,0) через 180 минут соответственно). При этом различий в накоплении NO при инкубировании за 150 и 180 минут не наблюдалось. Полученные результаты свидетельствуют о том, что культивирование лейкоцитов периферической крови в течение 150 минут является минимально достаточным для определения их способности к продукции NO.

При отборе лейкоконцентрата не исключено загрязнение небольшим количеством плазмы, белки которой также могут оказать влияние на результаты измерения. В оригинальной методике Crow J. P. [4] фотометрия проводилась после депротеинизации. Поэтому мы провели сравнительный анализ содержания 3-NT в надосадочной жидкости лейкоцитов до и после осаждения белков. Для этих целей мы использовали 10 % водный раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ) как наиболее удобный метод депротеинизации в пробах с небольшим количеством белка [5]. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Содержание 3-NT в надосадочной жидкости лейкоцитов до и после осаждения белков ТХУ

| Оцениваемый параметр       | Центрифугат надосадочной жидкости лейкоцитов (n=10) |                     |
|----------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------|
|                            | до осаждения ТХУ                                    | после осаждения ТХУ |
| 3-NT, (мМ/л) <sup>-1</sup> | 16,6 (11,8; 22,7)                                   | 19,4 (13,9; 24,8)   |

Примечание: данные представлены в виде Me (25 %; 75 %).

Как видно из таблицы 2, результаты фотометрического исследования образцов значимо не различались.

Известно, что для оценки функциональной активности лейкоцитов важно определить не только исходную способность клеток к продукции NO (спонтанный тест), но и ответ клеток на стимуляцию (стимулированный тест). В качестве стимулятора мы использовали наиболее широко распространенный в практике индуктор Нф — инактивированный нагреванием *S. aureus* в концентрации  $10^8$  КОЕ/мл (контроль по стандарту мутности шкалы McFarland). При этом установлено, что культивирование лейкоцитов с индуктором в течение 150 минут приводило к увеличению 3-NT в надосадочной жидкости лейкоцитов в 1,8 раз по сравнению с инкубацией лейкоцитов без стимулятора ( $p = 0,036$ ). Одновременная оценка спонтанной и стимулированной NO-продукции позволит рассчитать коэффициент их функционального резерва:  $ФР_{3-NT} = 3-NT_{ст}/3-NT_{сп}$ . В наших исследованиях он равен 1,8 (1,6; 1,9).

Проведенные исследования позволили оптимизировать метод определения NO-продуцирующих свойств Нф периферической крови и сделать его более доступным для клинико-диагностических лабораторий.

#### **Выводы**

1. Оценка NO-продуцирующих свойств Нф по накоплению 3-NT в надосадочной жидкости при краткосрочном культивировании лейкоцитов крови является удобным диагностическим тестом.
2. Для оценки NO-продуцирующих свойств Нф по накоплению 3-NT минимально достаточная длительность инкубации составляет 150 минут.
3. Фотометрическое исследование содержания 3-NT в надосадочной жидкости краткосрочных культур лейкоцитов можно осуществлять без предварительной депротеинизации.
4. Одновременная оценка спонтанной и стимулированной NO-продукции позволяет оценить функциональный резерв клеток.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Метельская, В. А. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова // Лабораторная медицина. — 2005. — № 7. — С. 19–24.
2. Новикова, И. А. Комплексная оценка функциональной активности нейтрофилов при хроническом рецидивирующей фурункулезе / И. А. Новикова, Н. В. Гусакова, А. В. Гомоляко // Медицинская иммунология. — 2014. — Т. 16, № 1. — С. 81–88.
3. Новикова, И. А. Особенности нитроксидного статуса лейкоцитов у больных хроническим рецидивирующим фурункулезом / И. А. Новикова, А. В. Гомоляко // Иммунология. — 2010. — № 6. — С. 332–334.
4. Crow, J. P. Manganese and iron porphyrins catalyze peroxynitrite decomposition and simultaneously increase nitration and oxidant yield: implications for their use as peroxynitrite scavengers in vivo / J. P. Crow // Arch. Biochem. Biophys. — 1999. — № 371. — P. 41–52.
5. Bollag, D. M. Protein Methods / D. M. Bollag, S. J. Edelman. — Wiley-Liss, Inc., New York, 1991. — 723 p.

УДК 616.12-008.331:616.61]-073.97-085.217.2

## **ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРОВ ПРИ ПОЧЕЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

*Жигальцов А. М.*

**Учреждение образования**

**«Гродненский государственный медицинский университет»**

**г. Гродно, Республика Беларусь**

#### **Введение**

Значительное место в структуре артериальной гипертензии (АГ) занимают вторичные артериальные гипертензии, среди которых особая роль по значимости и распространенности отводится почечной артериальной гипертензии (ПАГ). У пациентов с почечной патологией, даже при еще нормальной функции почек, АГ наблюдается в 2–4 раза чаще [1]. Гипертензия, связанная с патологией почек, является важнейшим фактором прогрессирования заболевания почек и риска развития сердечно-сосудистых осложнений (инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, нарушения мозгового кровообращения и др.). Указанная кардиocereбральная патология является основной причиной смертности у пациентов с патологией почек как в додиализном периоде, так и после начала заместительной терапии.

В последнее время активно ведется поиск новых подходов к повышению эффективности нефропротективной терапии у пациентов АГ. Одним из таких подходов может быть подавление активности симпатической нервной системы (СНС), которая является характерной особенностью хронической болезни почек (ХБП) и связанной с ней хронической почечной недостаточности (ХПН) [2].

Постоянная повышенная активность СНС возникает уже на начальных этапах ХПН и участвует в развитии дисбаланса нейрогуморальных систем, который рассматривается сейчас в качестве патогенетической основы прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний. У пациентов ХБП под