

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЦЕОЛИТИТА ЛЮТОГСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ IN VIVO

Голохваст К.С.¹, Паничев А.М.², Памирский И.Э.³, Борисов С.Ю.¹, Гульков А.Н.¹, Рыбалка В.П.⁴

¹Дальневосточный государственный технический университет

²Тихоокеанский институт географии ДВО РАН

³Амурская государственная медицинская академия

⁴Сахалинская областная больница

ASSESSING THE IMPACT OF THE ZEOLITE OF LYUTOGSKY DEPOSIT ON THE PHAGOCYTIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN VIVO

Golokhvast K.S.¹, Panichev A.M.², Pamirskiy I.E.³, Borisov S.Yu.¹, Gulkov A.N.¹, Rybalka V.P.⁴

¹Far Eastern State Technical University

²Pacific Institute of geography FEB RAS

³Amur State Medical Academy

⁴Sakhalin region hospital

Имеется ряд работ по исследованию влияния цеолитовых туфов на иммунную систему (Карташев, Баскурин, 1995; Дырдуева, 2000; Бильдуева, 2001; Ищенко, 2003; Агафонкина, 2006; Ivkovic et al., 2004; Стручко и др., 2004; Вязовая и др., 2007; Голохваст, Паничев, 2008).

Нами было исследовано влияния цеолитита (цеолитовых туфов) Лютогского месторождения (Сахалин) (далее «Цеолит») на фагоцитарную активность нейтрофилов in vivo. В качестве лабораторных животных были взяты белые неинбредные мыши самцы (вес 18-20 г.). Объектом фагоцитоза был выбран латекс для фагоцитоза 1,5 мкм (10% полистерольная суспензия, 10 мл, производство ДИА-М, Россия). Для исследования использовали разведение латекса 1:80 (63 мкл латекса разводили в 5 мл стерильного физиологического раствора). Для разведения «Цеолита» для внутрибрюшинного введения 2,5 мг минерала разводили в 5 мл стерильной дистиллированной воды. Мышам вводили однократно внутрибрюшинно 1,0 мл препарата (500 мкг/мл) за 24 часа до исследования (без последующего введения пептона). Для разведения «Цеолита» для подкожного введения (область холки) 2,5 мг минерала разводили в 2,5 мл стерильной дистиллированной воды. Мышам вводили однократно подкожно 0,5 мл препарата (500 мкг/0,5 мл) за 24 часа до исследования.

Для изучения фагоцитарной активности нейтрофилов, мышам (через 24 часа после введения «Цеолита») вводили внутрибрюшинно 1 мл 2-3% стерильного раствора пептона и через 2 часа выводили из эксперимента с помощью хлороформа. Брюшную полость мышей промывали 3 раза стерильным физиологическим раствором (по 1 мл), массируя брюшко, осторожно собирали перитонеальный экссудат и фильтровали его через стерильный капрон в центрифужные пробирки.

Для отмывания полученный экссудат доводили до объема 10 мл физиологическим раствором и центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин. Надосадок сливали, добавляли 0,5 мл физиологического раствора,

в котором ресуспендировали осадок. Число клеток подсчитывали в камере Горяева и доводили их физиологическим раствором до концентрации 2 млн/мл. К 200 мкл клеток добавляли 65 мкл латекса, встряхивали и инкубировали при 37°C в течение 30 мин. После инкубации пробирки центрифугировали в течение 5 мин. при 1000 об/мин, надосадок сливали, осадок ресуспендировали и готовили мазки на предметном стекле. Мазки высушивали, фиксировали этанолом (10 мин.) и окрашивали азурозинном.

Учет результатов осуществляли при помощи световой микроскопии (100 клеток). Полученные результаты сравнивали по фагоцитарному индексу и фагоцитарному числу в опытных и контрольной группами.

Фагоцитарный индекс в контрольной группе составил $71,33 \pm 2,4$, при внутрибрюшинном введение «Цеолита» - $60,67 \pm 1,76$ ($p=0,023$), при подкожном введение «Цеолита» - $72,0 \pm 2,3$ ($p=0,851$).

Фагоцитарное число в контрольной группе составило $2,93 \pm 0,27$, при внутрибрюшинном введение «Цеолита» - $1,46 \pm 0,17$ ($p=0,011$), при подкожном введение «Цеолита» - $2,86 \pm 0,2$ ($p=0,854$).

На первый взгляд, в качестве выводов можно отметить, что цеолитит Лютогского месторождения снижает фагоцитарную активность нейтрофилов перитонеальной полости мышей при внутрибрюшинном введении и не оказывает влияния при подкожном введении. Оба варианта введения стоит обсудить подробнее. В случае подкожного введения, цеолититы, очевидно, не проявляются системных эффектов. Снижение фагоцитоза в случае внутрибрюшинного введения можно объяснить тем, что, будучи водонерастворимым веществом, цеолит не может дополнительно фагоцитироваться клетками, уже «набравшими» частиц латекса. Очевидно, что в данном случае, примененная в работе методика не дает адекватных данных по оценке фагоцитоза водонерастворимых соединений, к которым относятся цеолититы.

Литература

1. Агафонкина Т.В. Морфофункциональные изменения тимуса и иммунобиохимические показатели крови при воздействии цеолитсодержащим трепелом: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Москва, 2006. – 21 с.
2. Бильдугева Д.Г. Разработка кормовой добавки на основе цеолитов и оценка ее иммуномодулирующей активности: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2001. – 22 с.
3. Вязовая Е.А., Орловская И.А., Козлов В.А. Влияние накожных аппликаций мелкодисперсной минеральной композиции на морфофункциональные показатели иммунной системы // Иммунология, 2007. – Т. 28, №6. – С. 338-342.
4. Голохваст К.С., Паничев А.М. О протекторном действии цеолитов на систему местного иммунитета дыхательных путей / Вестник новых медицинских технологий, 2008. - Т.XV, №2. - С. 217-218.
5. Дырдуева Н.Б. Оценка иммунокорректирующего действия фракции тимуса, иммобилизованной на цеолите, при вторичном иммунодефицитном состоянии: Дисс. ... канд. биол. наук. Улан-Удэ, 2000. – 129 с.
6. Ищенко И.Ю. Морфофункциональное исследование тканевого микрорайона печени и регионарных лимфатических узлов крыс при введении в рацион питания сорбентов (цеолита и СУМС-1) в норме и с последующей интоксикацией карбофосом: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2003. – 17 с.
7. Карташев А.Г., Баскурин А.К. Изменения в системе крови у белых мышей при длительном применении цеолита / Физиологический журнал, 1995. - №41. - С. 14–19.
8. Стручко Г.Ю., Агафонкина Т.В., Меркулова Л.М. Исследование структур тимуса и иммунобиохимических показателей крови после применения полиоксидония и цеолитсодержащего трепела / Вестник Чуваш. ун-та, 2004. – №2. – С. 66-76.
9. Dietary supplementation with the tribomechanically activated zeolite clinoptilolite in immunodeficiency: effects on the immune system / Ivkovic S, Deutsch U, Silberbach A, Walraph E, Mannel M. // Adv. Ther., 2004. - №21(2). – P. 135-47.