

### Заключение

Модель острого и хронического панкреатита основана на локальном криовоздействии и является удачным воспроизведением поражения поджелудочной железы. С помощью этой модели можно изучать вопросы патогенеза и патоморфологии панкреатитов и добиться различной степени поражения поджелудочной железы. В отличие от представленных моделей, данная модель отличается стабильностью воспроизведения и высокой специфичностью, так как при этом первоначально поражается лишь поджелудочная железа, она позволяет выполнить эксперимент на мелких лабораторных животных.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Шалимов, С. А. Руководство по экспериментальной хирургии / С.А. Шалимов, А.П. Рудзиковский, Л.В. Кейсевич. — М.: Медицина, 1989. — С. 190–205.
2. Бойко, Ю. Г. Патологическая анатомия и патогенез острого панкреатита / Ю. Г. Бойко. — Мн.: Беларусь, 1970. — С. 84–110.
3. Молоденков, М. Н. О патогенезе и лечении острого панкреатита / М. Н. Молоденков // Хирургия. — 1964. — № 11. — С. 72.
4. Благовидов, Д. Ф. Компенсаторные процессы после резекции поджелудочной железы / Д. Ф. Благовидов, Д. С. Саркисов. — М.: Медицина, 1976. — С. 23–31.
5. Канаян, А. С. Влияние тиосульфата натрия на поджелудочную железу при экспериментальном панкреатите / А. С. Канаян, П. С. Симаворян // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1978. — № 11. — С. 548–552.

Поступила 10.12.2008

УДК (546.173+546.215):612.014+612.111

## ИНДУЦИРОВАННЫЙ ПЕРОКСИНИТРИТОМ АПОПТОЗ ЭРИТРОЦИТОВ

М. Н. Стародубцева

Гомельский государственный медицинский университет

Хотя эритроциты не содержат ядер и митохондрий, необходимых для протекания апоптоза, однако при действии различных факторов у них проявляются черты, характерные для апоптотических процессов. В работе показано, что апоптоз-подобная форма гибели эритроцитов запускается пероксинитритом. Она сопровождается увеличением пассивного потока ионов через эритроцитарные мембраны за счет открытия катионных каналов, включая АТФ-чувствительные  $K^+$ -каналы, и образования дефектов в мембране, а также изменениями в структуре мембранного скелета.

Ключевые слова: эритроциты, апоптоз, пероксинитрит.

## PEROXYNITRITE-INDUCED RED BLOOD CELL APOPTOSIS

M. N. Starodubtseva

Gomel State Medical University

Though red blood cells contain no apoptotic organelles like nuclei and mitochondria, under the action of various factors these cells are characterized by many features peculiar to apoptotic cells. In the paper we show that «apoptosis-like» cell death program is triggered by peroxynitrite and is accompanied by the increase in passive ionic flux through red blood cell membrane mainly due to opening the cationic channels including ATP-sensitive  $K^+$  channels and membrane defect formation, as well as by the changes in membrane skeleton structure.

Key words: red blood cells, apoptosis, peroxynitrite.

### Введение

Окончание жизненного цикла любой клетки происходит различными путями, наиболее общими из которых считаются апоптоз и некроз [1, 2]. Некроз является формой гибели клеток, которая запускается в клетках со значительными нарушениями, вызванными различными физическими и химическими стимулами. Некроз, как правило, начинается с нарушения способности клетки поддерживать гомеостаз, что ведет к избыточному поступлению в нее молекул воды и ионов, набуханию и лизису внутренних органелл и самой клетки в целом. В большинстве случаев некроз *in vivo* затрагивает группу близлежащих клеток и сопровождается выраженной воспалительной реакцией.

Апоптоз представляет собой форму гибели клетки, посредством которой происходит удаление опасных и ненужных клеток из организма. При апоптозе происходит нарушение транспорта ионов, в основном, ионов  $Na^+$  и  $K^+$ . В результате клетки теряют воду и сжимаются, что приводит к нарушению их контактов с субстратом и с другими клетками. Наблюдаются вздутия на поверхности клеток из-за перестройки структуры цитоскелета и локальные отделения структуры цитоскелета от мембраны клетки. Кроме того, происходит конденсация хроматина и фрагментация ДНК. Образуются апоптотические тельца, содержащие рибосомы, морфологически интактные митохондрии и ядерный материал. *In vivo*, апоптотические тельца быстро распознаются и фагоцитируются макрофагами и

соседними клетками. Апоптоз не сопровождается выраженной воспалительной реакцией. *In vitro*, апоптозные тельца и клеточные фрагменты набухают с течением времени и лизируются в результате «вторичного некроза».

Признанными стимулами для различных форм гибели клеток являются активные формы кислорода и азота, к числу которых относится пероксинитрит. Пероксинитрит синтезируется в организме многими типами клеток (в основном, клетками иммунной системы) в реакции  $\text{NO}$  с  $\text{O}_2^-$ . Пероксинитрит вызывает апоптоз клеток эпителия и эндотелия, фоторецепторных клеток, кардиомиоцитов, мышечных клеток, остеобластов, нейронов, астроцитов и клеточных линий (PC12, HL-60, SH-SY5Y клеток нейробластомы), а также некроз эпителиальных, эндотелиальных и мышечных клеток, фибробластов, кардиомиоцитов, макрофагов и клеточных линий U937 и H9C2 [3]. Согласно современным представлениям, пероксинитрит в низких и средних концентрациях способен запускать апоптотическую программу клеточной смерти, в то время как высокие концентрации пероксинитрита вызывают гибель клеток по некротическому пути [4].

До недавнего времени полагали, что эритроцитам не свойственен такой путь гибели клеток, как апоптоз вследствие отсутствия в эритроцитах ядер и митохондрий. Однако исследования последних лет показали, что некоторые механизмы, характерные для апоптоза, имеют место и в случае эритроцитов. Апоптоз-подобная форма гибели эритроцитов была названа эриптозом [5].

**Целью** работы является анализ эриптоза, как особой программы гибели эритроцитов, вызванной пероксинитритом.

#### **Материал и метод**

##### *Синтез пероксинитрита*

Пероксинитрит синтезировали методом, описанным Векман с соавторами, с небольшими модификациями [6]. Охлажденный раствор 1,2 М  $\text{NaNO}_2$  смешивали с закисленным с помощью  $\text{HNO}_3$  охлажденным раствором 1,2 М  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Полученную смесь быстро защелачивали с помощью  $\text{NaOH}$  (концентрация в растворе — 0,5 М). Затем раствор пропускали сквозь гранулированный  $\text{MnO}_2$  и замораживали при температуре  $-20^\circ\text{C}$  в течение семи дней. Концентрацию пероксинитрита в 1 М  $\text{NaOH}$  растворе определяли непосредственно перед опытом по поглощению света на длине волны 302 нм ( $\epsilon_{302\text{nm}} = 1670 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

##### *Кровь и растворы*

В работе использовали венозную кровь добровольцев, стабилизированную гепарином. Образцы крови хранили при  $4^\circ\text{C}$  не более 72 часов. В работе использовали буферный раствор следующего состава: 100 мМ  $\text{NaCl}$ , 50 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4/$

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 7,4 при  $37^\circ\text{C}$ ). Для получения буферного раствора, свободного от хлорида,  $\text{NaCl}$  был замещен  $\text{NaNO}_3$ .

##### *Обработка эритроцитов пероксинитритом.*

Пероксинитрит добавляли в суспензию эритроцитов или в цельную кровь в виде капли при постоянном перемешивании. Время инкубации с пероксинитритом было 10 минут. В опытах по измерению внутриклеточного рН пероксинитрит добавляли в виде капли непосредственно в кювету (во время записи флуоресценции образца) при постоянном перемешивании.

##### *Измерение потока ионов калия через эритроцитарные мембраны.*

Поток ионов  $\text{K}^+$  через эритроцитарные мембраны измеряли радиометрическим методом при  $37^\circ\text{C}$  с использованием изотопа цезия  $^{86}\text{Rb}^+$  [7]. В суспензию эритроцитов дополнительно добавляли  $\text{KNO}_3$  для сохранения 7,5 мМ концентрации ионов  $\text{K}^+$ . Гематокрит суспензии эритроцитов был 4–5 %. Для ингибирования  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -насоса,  $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ -котранспортера и  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимого  $\text{K}^+$ -канала в суспензии эритроцитов до введения препарата рубидия добавляли 0,1 мМ убаина, 0,01 мМ буметанида и 0,01 мМ клотримазола соответственно. В работе поток ионов  $\text{K}^+$  выражен в единицах, принятых для измерения потока ионов, — миллимоль на литр клеток в час.

##### *Измерение внутриклеточного рН (pH<sub>i</sub>).*

Измерение внутриэритроцитарного рН проводили на спектрофотометре «F-2500 FL Spectrophotometer» с использованием флуоресцентного зонда BCECF (2,7-бикарбокси-5(6)-карбоксифлуоресцеин) [8]. Эритроциты в буферном растворе при 1 % гематокрите инкубировали в течение 45 минут при  $37^\circ\text{C}$  с 10  $\mu\text{M}$  BCECF-AM (формой флуоресцентного зонда, способной проходить через клеточные мембраны). Затем клетки отмывали ( $12000\times\text{g}$ ; 20 сек.) и ресуспендировали в том же буфере (Hct 10 %). Флуоресцентные исследования проводили в суспензии эритроцитов с гематокритом 0,01 % при постоянном перемешивании при температуре  $37^\circ\text{C}$ . Длины волн возбуждения флуоресценции — 439 и 490 нм; длина волны флуоресценции — 535 нм. Отношение интенсивностей флуоресценции (490/439) напрямую отражает внутриклеточный рН и не зависит от утечки зонда из клеток, его фотообесцвечивания и изменения клеточного объема [8]. Для преобразования отношения интенсивностей флуоресценции в значение рН проводили дополнительную калибровку с использованием нигерицина. Калибровку проводили с эритроцитами, ресуспендированными в растворе с высоким содержанием ионов калия (135 мМ  $\text{KCl}$ , 15 мМ  $\text{NaCl}$ , 1 мМ  $\text{MgSO}_4$ , 2 мМ  $\text{CaCl}_2$ , 10 мМ HEPES).

##### *Оценка внутриклеточного уровня АТФ и мембранного потенциала эритроцитов*

Величину АТФ в эритроцитах оценивали с использованием набора «ATP light kit» (Perkin Elmer) и хемиллюминметра «Micro Beta chemiluminometer». Мембранный потенциал эритроцитов (E) оценивали, измеряя pH суспензии эритроцитов в присутствии ионофора СССР (карбонилцианид m-хлорофенилгидразон), в растворе Рингера до (pH<sub>1</sub>) и после (pH<sub>2</sub>) лизиса клеток Тритоном-X. Расчет величины E проводили по формуле:

$$E = -61,5(pH_1 - pH_2), \text{ мВ.}$$

*Атомная силовая микроскопия (АСМ) поверхности эритроцитов и анализ АСМ-данных*

Для проведения АСМ-исследований эритроциты подвергали химической фиксации с помощью 1 % глутарового альдегида. Эритроциты отмывали один раз в буферном растворе, а затем два раза — в дистиллированной воде. После этого эритроциты помещали на предметное стекло и высушивали. АСМ-исследования проводили на атомно-силовом микроскопе «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь) в контактом режиме сканирования с использованием игл типа CSC38 («МикроМаш»). Записывали топографию, карты вертикальных отклонений АСМ зонда и карты латеральных сил участков поверхности эритроцитов. Количественную оценку механических свойств участков мембраны проводили с помощью статической силовой спектроскопии. Для количественной оценки изменений структуры поверхности эритроцита был проведен фрактальный анализ карт латеральных сил площадью (1×1μм<sup>2</sup>). Фрактальная размерность рассчитана с использованием программы «SurfaceXplore 1.3.11» (МикроТестМашины, Беларусь). [9]

*Статистический анализ данных*

Результаты измерений представлены в виде доверительного интервала с доверительной вероятностью 95 %. Символ *n* обозначает размер выборки. Для каждого опыта была исследована кровь, по крайней мере, 3 различных доноров. Сравнения выборочных характеристик проводи-

ли с использованием критерия Стьюдента или Манна-Уитни для независимых групп.

### **Результаты и их обсуждение**

Пероксинитрит вызывает нарушение ионного и водного гомеостаза эритроцитов. В пероксинитрит-обработанных эритроцитах имеет место увеличение потоков пассивного транспорта ионов K<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup> через мембраны клеток. В транспорте ионов участвуют сразу несколько из известных транспортных систем. Так, пероксинитрит в концентрации до 300 μM активизирует работу K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>-котранспортера (Cl<sup>-</sup>-зависимый транспорт ионов K<sup>+</sup>), в то время как пассивный транспорт ионов K<sup>+</sup>, независимый от ионов Cl<sup>-</sup>, значительно возрастает при высоких концентрациях пероксинитрита (таблица 1). Этот поток ионов K<sup>+</sup> частично связан с АТФ-чувствительными K<sup>+</sup>-каналами или с дефектами мембраны, образованными в результате ее окислительной модификации [7]. Дисбаланс транспортных потоков ионов через мембраны вызывает изменение уровня pH окружающей клетки среды, а также к изменению трансмембранной разности потенциалов (таблица 1). При этом пассивный поток ионов K<sup>+</sup> через каналы и дефекты мембраны увеличивается с увеличением концентрации пероксинитрита. Уровень АТФ в клетках снижается, а уровень pH вне клетки увеличивается с увеличением концентрации пероксинитрита (таблица 1). При этом изменение уровня АТФ с ростом концентрации пероксинитрита коррелирует с увеличением трансмембранного потока ионов K<sup>+</sup> (r = -0,85) и изменением уровня внеклеточного pH (r = -0,88). Мембранный потенциал изменяется с ростом концентрации пероксинитрита не монотонно. При концентрациях меньше 300 μM наблюдается деполяризация мембраны, а при более высоких концентрациях пероксинитрита — ее гиперполяризация. Концентрационный пик деполяризации мембраны, вызванной пероксинитритом, совпадает с пиком активности K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>-котранспортера.

Таблица 1 — Содержание АТФ и электрохимические характеристики эритроцитов, обработанных пероксинитритом

Интервал концентраций пероксинитрита, μM	Содержание АТФ, %	Трансмембранный поток ионов K <sup>+</sup> в отсутствие ионов Cl <sup>-</sup> , %	Трансмембранный поток ионов K <sup>+</sup> в присутствии ионов Cl <sup>-</sup> , ммоль/л кл. ч	pH незабуференной суспензии эритроцитов	Мембранный потенциал, мВ
0	1,00±0,14	1,00±0,14	0,07±0,10	7,06±0,05	-9,41±2,07
0–100	0,83±0,04	1,04±0,02	0,44±0,05*	7,18±0,07*	-6,83±3,72
100–200	0,80±0,05*	1,25±0,04*	0,83±0,07*	7,46±0,09**	-4,54±1,27**
600–700	0,74±0,03**	—	—	7,60±0,05**	-10,20±5,70
1000–1100	0,67±0,05**	2,01±0,09**	0,21±0,11	8,18±0,09**	-13,78±1,93

n = 4–10, \* p < 0,05, \*\* p < 0,001 в сравнение с контролем, критерий Манна-Уитни.

Пероксинитрит вызывает сжатие эритроцитов и изменение их формы. Статистически значимое различие площадей поперечного сечения дискоцитов наблюдается при концен-

трациях пероксинитрита выше 600–700 μM (таблица 2). При этих же концентрациях пероксинитрита имеют место изменения в жесткости и форме клеток. Дискоциты при увеличении

концентрации пероксинитрита становятся более плоскими, их диаметр заметно увеличивается. В суспензиях, обработанных пероксинитритом, появляются клетки со вспученной мембраной — кренированные формы эритроцитов. Наблюдаемые изменения морфологических и механических параметров эритроцитов в основном связаны с изменением в структуре мембранного скелета эритроцитов — актин-спектриновой сети. Количественно изменения в структуре мембранного скелета эритроцитов можно оценить с помощью фрактальной размерности карт латеральных сил, полученных

при сканировании поверхности клеток с помощью АСМ [7]. Статистически значимые различия в степени сложности структуры мембранного скелета эритроцитов наблюдаются при концентрациях пероксинитрита выше 600–700  $\mu\text{M}$  (таблица 2). Пероксинитрит реорганизует структуру актин-спектриновой сети эритроцитов, перестройки носят локальный характер и преимущественно проявляются в сгущении цитоскелетной сети. Изменения в структуре цитоскелета ведет к увеличению жесткости клеток как в форме дискоцита, так и в кренированной форме (таблица 3) [9].

Таблица 2 — Структурные и геометрические характеристики эритроцитов, обработанных пероксинитритом

Интервал концентраций пероксинитрита, $\mu\text{M}$	Содержание кренированных форм в суспензии эритроцитов, %	Диаметр дискоцитов, $\mu\text{m}$	Относительная площадь сечения дискоцитов ( $A/A_0$ ), %	Фрактальная размерность участков карты латеральных сил поверхности дискоцитов ( $D_F$ )
0	$1,0 \pm 0,8$	$6,04 \pm 0,42$	$1,00 \pm 0,06$	$2,88 \pm 0,04$
100–200	$7,4 \pm 4,0^{**}$	$6,12 \pm 0,51$	$0,88 \pm 0,10$	$2,92 \pm 0,05$
600–700	$7,5 \pm 4,0^{**}$	$6,56 \pm 0,20$	$0,88 \pm 0,09^*$	$2,94 \pm 0,05^*$
1100–1200	$8,0 \pm 5,0^{**}$	$6,97 \pm 0,50^*$	$0,86 \pm 0,23$	$2,96 \pm 0,06^*$
2500–2600	$22,0 \pm 12,6^{**}$	$6,87 \pm 0,39^{**}$	$0,83 \pm 0,06^{**}$	$2,97 \pm 0,05^{**}$

$n = 11-20$ , \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,005$ , в сравнение с контролем, критерий Стьюдента.

Таблица 3 — Упругие свойства мембран эритроцитов, обработанных пероксинитритом

Образец	Относительный модуль упругости ( $E/E_0$ ), отн. ед.	Образец	Относительный модуль упругости ( $E/E_0$ ), отн. ед.
Контрольные дискоциты	$1,00 \pm 0,09$	Контрольные дискоциты	$1,00 \pm 0,09$
Дискоциты после обработки 2,5 мМ пероксинитритом	$1,16 \pm 0,10^*$	Кренированные в результате обработки 2,5 мМ пероксинитритом эритроциты (верхушка выпучивания)	$1,20 \pm 0,07^*$
		Кренированные в результате обработки 2,5 мМ пероксинитритом эритроциты (основание выпучивания)	$1,27 \pm 0,21^{**}$

$n = 5-23$ , \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,005$ , в сравнение с контролем, критерий Стьюдента.

Как известно, эритроциты в процессе эриптопоза потеряли ядра и митохондрии, которые являются одними из ключевых органелл, участвующих в апоптозе клеток. Недавние исследования показали, что при окислительном стрессе, осмотическом шоке, энергетическом истощении и воздействии  $\text{Ca}^{2+}$ -ионофора иономицина эритроциты характеризуются многими чертами, свойственными апоптотическим клеткам. Названные стимулы вызывают сжатие клеток, вздутие мембран, появление фосфатидилхолина на внешней стороне плазматической мембраны, активацию  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительных  $\text{K}^+$  каналов [5, 10–12]. Как отмечает Lang [5], не все эритроциты в суспензии подвергаются эриптозу при действии различных стимулов. Чувствительность клеток к эриптозу зависит от возраста эритроцитов [5]. Важной характеристикой, определяющей чувствительность клеток к эриптозу, является их энергетическое состояние. Истощение клеток по АТФ спо-

собствует ослаблению антиоксидантной защиты клеток, фосфорилированию белков, активации катионных каналов, появлению фосфатидилхолина на поверхности клеток и сжатию клеток, а также другим явлениям, свойственным эриптозу.

Полученные нами данные показывают, что пероксинитрит истощает эритроциты по АТФ, увеличивает активность катионных каналов (АТФ-чувствительных  $\text{K}^+$ -каналов), участвует в реорганизации мембранного цитоскелета. Объем эритроцитов уменьшается, и появляются кренированные формы эритроцитов. Все это указывает на то, что инициированный пероксинитритом в эритроцитах процесс можно назвать эриптозом. В литературе показано, что пероксинитрит вызывает появление на поверхности эритроцитов типичных маркеров апоптоза. [13]. Авторы работы [13] обнаружили увеличение содержания в суспензии эритроцитов аннексин V-положительных (апоптотических) клеток (3,7 %)

после воздействия на нее пероксинитритом (50μM, 0,25 % гематокрит, pH 7,4). В контроле апоптотических клеток было не больше 0,45 %. Этим было показано, что пероксинитрит вызывает появление на внешней стороне мембраны фосфатидилсерина и активацию каспазы 8 и 3 в этих клетках, которая частично или полностью ингибировалась добавлением в суспензию бикарбонат-аниона. Кроме того, было установлено, что пероксинитрит ведет к потере эритроцитами мембраны вследствие ее везикулизации. Было предположено, что апоптотический путь гибели эритроцитов (эриптоз) является мем-

бранно-связанной разновидностью апоптоза и может вызываться пероксинитритом [13]. Наши данные свидетельствуют в пользу такого предположения. При этом нами установлено, что значительное изменение объема эритроцитов (сжатие клеток и их кренирование) наблюдается при концентрациях пероксинитрита выше 200–600 мкмоль на литр и сопровождается изменениями в структуре мембранного скелета эритроцитов и пассивного транспорта катионов. В таблице 4 приведен сравнительный анализ основных параметров классического апоптоза и эриптоза.

Таблица 4 — Сравнительный анализ основных параметров апоптоза и эриптоза [5, 7, 13]

	Апоптоз	Эриптоз (мембранно-связанный апоптоз)
Функциональная значимость	Необратимое прекращение жизнедеятельности клетки, завершающееся ее поглощением макрофагами или соседними клетками без воспалительной реакции. Наблюдается в индивидуальных клетках в ответ, в основном, на физиологические стимулы (факторы роста, гормоны и др.)	Необратимое прекращение жизнедеятельности эритроцитов, завершающееся их поглощением макрофагами без воспалительной реакции. Наблюдается в индивидуальных эритроцитах при окислительном стрессе, осмотическом шоке, энергетическом истощении и воздействии Ca <sup>2+</sup> -ионофора иономицина.
Морфологические параметры	Потеря микроворсинок и межклеточных контактов. Агрегация хроматина при ядерной мембране, конденсация ядра и цитоплазмы. Уменьшение объема клетки. Вспучивание мембраны без потери ее целостности. Фрагментация клетки на везикулы из плазматической мембраны, фрагменты клетки и апоптотические тельца. Образование пор в мембране митохондрий.	Нет аналога.  Нет аналога.  Уменьшение объема клетки. Кренирование клеток, везикулизации мембраны.  Нет аналога.
Биохимические параметры	Строго регулируемый энергозависимый процесс. Моно- и олигонуклеосомная фрагментация ДНК до лизиса клетки. Выделение различных регулирующих факторов (AIR, цитохром C) митохондриями в цитоплазму клетки. Активация каскада каспаз. В основном, каспаз-зависимый механизм.  Изменение в асимметрии мембран (появление фосфатидилхолина на внешней стороне плазматической мембраны).  Изменения в структуре цитоскелета. Появление рецепторов на поверхности клетки, аккумуляция кераминов. Активация катионных каналов.	Энергозависимый процесс.  Нет аналога.  Нет аналога.  Активация некоторых каспаз. В основном, каспаз-независимый механизм.  Изменение в асимметрии мембран (появление фосфатидилхолина на внешней стороне плазматической мембраны).  Изменения в структуре мембранного скелета. Появление рецепторов на поверхности клетки, образование кераминов. Активация катионных каналов.

**Заключение**

Пероксинитрит вызывает мембранно-связанный апоптоз эритроцитов, сопровождаемый увеличением пассивного потока ионов за счет открытия катионных каналов, включая АТФ-чувствительные K<sup>+</sup>-каналы, и образования де-

фектов в мембране, а также изменениями в структуре их мембранного скелета.

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Лушников, Е. Ф. Гибель клетки (апоптоз) / Е. Ф. Лушников, А. Ю. Абросимов. — М.: Медицина, 2001. — С. 29–80.

2. Манских, В. Н. Пути гибели клетки и их биологическое значение / В. Н. Манских // Цитология. — 2007. — Т. 49, №11. — С. 909–915.
3. Pacher, P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // *Physiol. Rev.* — 2007. — Vol. 87. — P. 315–424.
4. Szabo, C. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics / C. Szabo, H. Ischiropoulos, R. Radi // *Nat. Rev. Drug. Discov.* — 2007. — Vol. 6, № 8. — P. 662–680.
5. Mechanisms and significance of eryptosis / F. Lang [et al.] // *Anioxid. redox signal.* — 2006. — Vol. 8. — P. 1183–1192.
6. Robinson, K. M. Synthesis of peroxynitrite from nitrite and hydrogen peroxide / K. M. Robinson, J. S. Beckman // *Method Enzymol.* — 2005. — Vol. 396. — P. 207–214
7. Ellory tructural and functional changes in membrane and membrane skeleton of red blood cells induced by peroxynitrite / M. N. Starodubtseva [et al.] // *Bioelectrochemistry.* — 2008. — Vol. 73. — P. 155–162.
8. Kumerov, D. Variation of intracellular pH in human erythrocyte via  $K^+(Na^+)/H^+$  exchange under low ionic strength conditions / D. Kumerov, J. Hamann, J. A. Browning // *J. Membrane Biol.* — 2000. — Vol. 176. — P. 207–216.
9. Стародубцева, М. Н. Механические свойства мембран эритроцитов человека при действии пероксинитрита / М. Н. Стародубцева, Т. Г. Кузнецова, С. Н. Черенкевич // *Бюл. экспер. биол. мед.* — 2007. — Т. 143, № 2. — С. 222–230.
10. Cation channels trigger apoptotic death of erythrocytes / K. S. Lang [et al.] // *Cell Death Different.* — 2003. — Vol. 10. — P. 249–256.
11. Mechanisms of suicidal erythrocyte death / K. S. Lang [et al.] // *Cell Physiol. Biochem.* — 2005. — Vol. 15. — P. 195–202.
12. Decreased cation channel activity and blunted channel-dependent eryptosis in neonatal erythrocytes / T. Hermle [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* — 2006. — Vol. 291. — P. 710–717.
13. Two different pathways are involved in peroxynitrite-induced senescence and apoptosis of human erythrocytes / D. Pietraforte [et al.] // *Free Rad. Biol. Med.* — 2007. — Vol. 42. — P. 202–214.

Поступила 07.12.2008

УДК 616. 833. 156. 6 – 001 – 008. 3: 591. 4

### ИЗМЕНЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОМ НЕВРИТЕ НИЖНЕАЛЬВЕОЛЯРНОГО НЕРВА

Е. А. Авдеева, И. О. Походенько-Чудакова

Белорусский государственный медицинский университет

Цель — изучить клинические и функциональные изменения при травматическом неврите нижнеальвеолярного нерва в эксперименте. Экспериментальная модель создана на 24 кроликах. Определяли порог проявления «периорального» рефлекса (ПППР) и коэффициент асимметрии порога его проявления (Кас). Получили, что травматизация нижнеальвеолярного нерва влечет за собой нарушение афферентной части периорального рефлекса в 75 % наблюдений, что проявляется хронической механической травмой и образованием травматической язвы слизистой оболочки нижней губы. Максимальные значения ПППР и Кас регистрировались к 7 суткам наблюдения, а к 14 суткам — признаки восстановления функции нерва, не зависимо от степени повреждения нерва. При этом в течение 28 суток не достигнуто достоверной нормализации показателей.

Ключевые слова: клинические показатели, функциональные показатели, неврит, нижнеальвеолярный нерв.

### CLINICAL AND FUNCTIONAL INDICES CHANGE IN LABORATORY ANIMALS AT TRAUMATIC NEURITIS OF INFERIOR ALVEOLAR NERVE

E. A. Avdeeva, I. O. Pohodenko-Chudakova

Belarus Stat Medikal University

Aim is to study clinical and functional changes under traumatic neuritis of inferior alveolar nerves in experiment. Experimental model was made on the 24 rabbits. Threshold of perioral reflex demonstration (TPRD), coefficient of asymmetry for threshold of its demonstration (Cas) were fixed for all animals. According to the received results we can conclude the following: trauma of inferior alveolar nerve of the experimental animal involves afferents part of the perioral reflex malfunction in 75% of cases what has clinical manifestation in defect of upper lip mucous tunic appearance which corresponds to the traumatic ulcer during the chronic mechanism of trauma; when forming the experimental model of the traumatic neuritis of the inferior alveolar nerve, maximum indices of TPRD and Cas, are fixed by the 7 day of examination. First signs of the nerve functions restoration are evident after the 14 day regardless of the level of the nerve trunk damage. Authentic normalization of the functional indices was not achieved during 28 days.

Key words: clinical indices, functional indices, neuritis, inferior alveolar nerve.

#### Введение

Частота встречаемости травматического неврита нижнеальвеолярного нерва составляет 85,2 % от общего числа пациентов с патологией

III ветви тройничного нерва, обратившихся за специализированной помощью [1], что определяет актуальность избранной тематики исследования. В течение 2005 г. 94,5 % врачей челюст-