

ЛИТЕРАТУРА

1. *Белинская, Е. П.* Социальная психология личности / Е. П. Белинская, О. А. Тихомандрицкая. — М., 2000. — 324 с.
2. *Должанская, Н. А.* Влияние информированности о ВИЧ-инфицировании пациентов на отношение наркологов к их лечению / Н. А. Должанская // Наркология. — 2004. — № 5. — С. 50–52.
3. *Серебряйская, Л. Я.* Социальные представления о психически больных в контексте стигматизации / Л. Я. Серебряйская // Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 2005. — Т. 105, № 3. — С. 47–54.
4. *Финзен, А.* Психоз и стигма: Преодоление стигмы — отношение к предубеждениям и обвинениям / А. Финзен; пер. И. Я. Сапожниковой. — М., 2001. — 215 с.
5. *Ястребов, В. С.* Самостигматизация больных при основных психических заболеваниях / В. С. Ястребов, С. Н. Ениколопов, И. И. Михайлова // Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. — 2005. — Т. 105, № 11. — С. 50–54.

УДК 612.11+616.15:[546.173+546.215]

ВЛИЯНИЕ НЕНАРКОТИЧЕСКИХ АНАЛЬГЕТИКОВ НА ПЕРОКСИНИТРИТ-ЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКАХ КРОВИ

Стародубцева М. Н.

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Ненаркотические анальгетики применяют, главным образом, при болях воспалительного характера. Эта группа препаратов оказывает также противовоспалительное и жаропонижающее действие. Пероксинитрит, продукт реакции монооксида азота и супероксидного анион-радикала, является одним из главных участников воспалительного процесса, а все пероксинитрит-зависимые патологии имеют единую воспалительную основу.

Цель

Изучение влияния ненаркотических анальгетических препаратов (метамизола натрия — анальгина и диклофенака натрия) на пероксинитрит-индуцируемые процессы в эритроцитах и нейтрофилах периферической крови человека.

Материалы и методы

Пероксинитрит получали в реакции NaNO_2 и H_2O_2 в кислых водных растворах с последующим быстрым их защелачиванием. Концентрацию пероксинитрита определяли спектрофотометрически ($\epsilon_{302\text{нм}} = 1670 \text{ см}^{-1} \times \text{М}^{-1}$). Нейтрофилы и эритроциты выделяли из периферической крови здоровых доноров. Клетки ресуспендировали в солевом растворе, содержащем 60 мМ фосфатного буфера (рН 7,4). Кинетическую кривую окисления гемоглобина в эритроцитах записывали с помощью автоматизированного комплекса на базе КФК-2МП (светофильтр 540 нм). Кинетическую кривую хемилюминесценции суспензии нейтрофилов записывали с помощью хемилюминометра (Белорусский государственный университет, Беларусь). Концентрации: люминола — 50 нМ, пероксинитрита — 90 мкМ, диклофенака — 50 мкМ, метамизола натрия (25 % раствор анальгина) — 100 мкМ. Содержание растворов стероидов и L-лизина эсцината в суспензии эритроцитов — 1:1000.

Результаты и обсуждение

Окисление гемоглобина в эритроцитах. Эритроциты рассматриваются многими авторами как клетки, поглощающие монооксид азота и пероксинитрит, а также трансформирующие одни активные формы азота в другие. Пероксинитрит легко проникает через эритроцитарные мембраны, частично через анионный обменник в форме аниона, а частично посредством простой диффузии через липидный бислой в протонированной форме. Гемоглобин, пероксиредоксин-2 и глутатион являются основными молекулярными мишенями пероксинитрита в эритроцитах, они определяют способность эритроцитов поглощать пероксинитрит из крови и трансформировать его в другие формы. Константа скорости взаимодействия гема гемоглобина с различными формами пероксинитрита является вели-

чиной порядка $105 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$. Некоторые исследователи предлагают использовать эритроциты в качестве биомаркера заболеваний, связанных с заболеваниями сосудистой системы или патологиями, вызванными активными формами кислорода и азота.

На рисунке 1 представлены кинетические кривые оптической плотности суспензии эритроцитов (540 нм), отражающие процесс перехода окси-формы гема гемоглобина в мет-форму.

D , отн. ед.

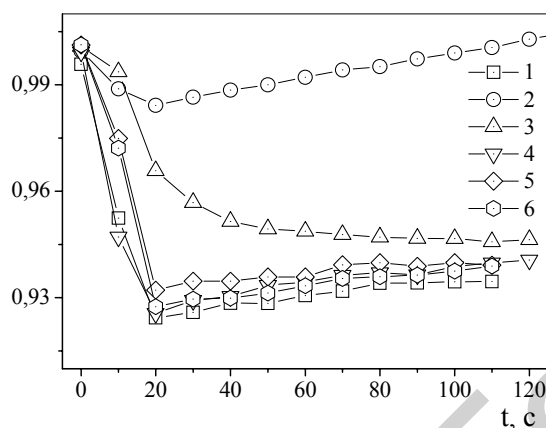


Рисунок 1 — Кинетические кривые пероксинитрит-индуцированного окисления гемоглобина в эритроцитах: 1 — контроль; 2 — диклофенак натрия; 3 — метамизол натрия (анальгин); 4 — L-лизина эсцинат; 5 — преднизолон, 6 — дексаметазон. Кинетические кривые представлены как средние кривые по результатам 3 опытов

Введение в суспензию эритроцитов обезболивающих и противовоспалительных препаратов таких, как L-лизина эсцинат, преднизолон и дексаметазон не оказывало какого-либо заметного влияния на параметры пероксинитрит-индуцированного окисления гемоглобина в эритроцитах (рисунок 1, кривые 4–6). Введение диклофенака натрия и метамизола натрия в суспензию эритроцитов приводило к существенному изменению характера реакции внутриклеточного гемоглобина с экзогенным пероксинитритом. Метамизол натрия заметно уменьшал скорость окисления гемоглобина пероксинитритом (рисунок 1, кривая 3). В реакции пероксинитрита с гемоглобином в присутствии диклофенака натрия образуется окрашенное соединение, поглощающее свет и в области 540 нм (рисунок 1, кривая 2).

Пероксинитрит-индуцированный респираторный взрыв в нейтрофилах. Нейтрофилы — наиболее объемная популяция лейкоцитов в крови. Основной эффекторной функцией нейтрофилов является уничтожение чужеродных клеток с помощью различных механизмов, включающих фагоцитоз, респираторный взрыв и образование специальных внеклеточных нейтрофильных ловушек. Нейтрофилы производят пероксинитрит в ответ на действие различных стимулирующих агентов (например, липосахаридов). Пероксинитрит изменяет свойства и функции нейтрофилов в зависимости от его концентрации и свойств среды. Пероксинитрит в концентрациях 1–200 мкМ вызывает респираторный взрыв в нейтрофилах, активируя системы синтеза активных метаболитов кислорода: NO-синтазу, NADPH-оксидазу и миелопероксидазу. Широко распространенным методом изучения респираторного взрыва в нейтрофилах является хемилюминесцентный метод с использованием люминола в качестве соединения-усилителя свечения. На рисунке 2 представлены кинетические кривые пероксинитрит-индуцированной хемилюминесценции люминола в присутствии метамизола натрия и диклофенака натрия.

Характер кинетической кривой хемилюминесценции, сопровождающей реакцию люминола с пероксинитритом (соотношение концентраций 1:180), в отсутствие обезболивающих и противовоспалительных препаратов является сложным (рисунок 2, кривая 1). Диклофенак натрия примерно в 2 раза уменьшает интегральную интенсивность свечения в реакции люминола с пероксинитритом. Метамизол натрия практически пол-

ностью предотвращает развитие свечения (вспышка свечения наблюдается в первые секунды реакции) (рисунок 2, кривая 3). Подобный характер влияния диклофенака натрия и метамизола натрия на пероксинитрит-индуцированное свечение наблюдается в случае суспензии нейтрофилов в отсутствие люминола (спонтанная хемилюминесценция). Метамизол натрия полностью подавляет пероксинитрит-индуцированное спонтанное свечение суспензии нейтрофилов (рисунок 3, кривая 3). Диклофенак натрия примерно вдвое уменьшает интегральную интенсивность пероксинитрит-индуцированной спонтанной хемилюминесценции суспензии нейтрофилов (рисунок 3, кривая 2).

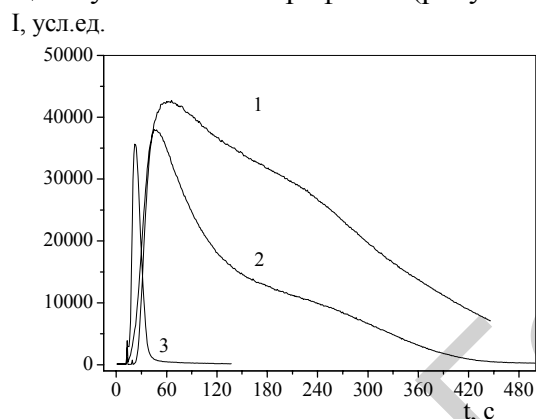


Рисунок 2 — Кинетические кривые пероксинитрит-индуцированной хемилюминесценции люминола: 1 — контроль; 2 — диклофенак натрия; 3 — метамизол натрия (анальгин). Кинетические кривые представлены как средние кривые по результатам 3 опытов

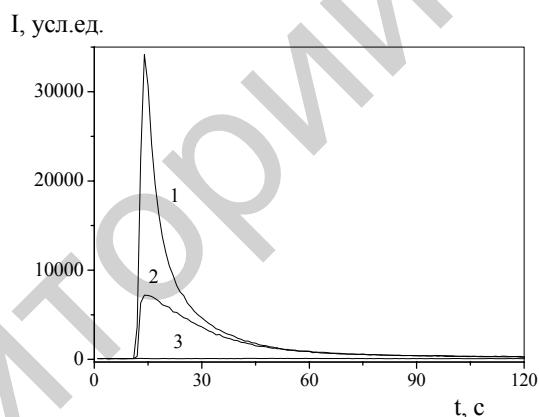


Рисунок 3 — Типичные кинетические кривые спонтанной пероксинитрит-индуцированной хемилюминесценции суспензии нейтрофилов: 1 — контроль; 2 — диклофенак натрия; 3 — метамизол натрия (анальгин)

В присутствии люминола при умеренных концентрациях пероксинитрита (1–200) мкМ для суспензии нейтрофилов наблюдается многостадийная кинетика развития хемилюминесценции. В общем случае в ней можно выделить 2 основных периода: период сильного кратковременного свечения с максимумом свечения в диапазоне (0,1–2) минуты и период слабого продолжительного свечения с максимумом свечения на (5–15) минутах. Характер развития люминол-зависимой хемилюминесценции пероксинитрит-активированных нейтрофилов связан с функционированием определенных клеточных систем, производящих активные формы кислорода и азота. Сильное кратковременное свечение обусловлено образованием супероксидного анион-радикала и монооксида азота NADPH-оксидазой и NO-синтазой нейтрофилов соответственно. Функционирование миелопероксидазы определяет параметры слабого продолжительного свечения люминола в рассматриваемой системе. На рисунке 4 представлены результаты опытов по изучению

влияния диклофенака натрия и метамизола натрия на развитие слабого продолжительного свечения, вызванного взаимодействием пероксинитрита и нейтрофилов. Оба препарата полностью подавляют активацию миелопероксидазы пероксинитритом.

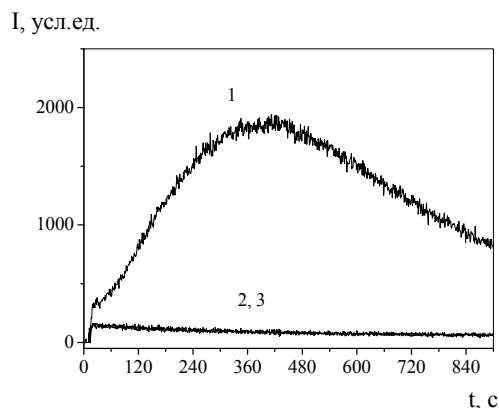


Рисунок 4 — Типичные кинетические кривые люминол-зависимой пероксинитрит-индуцированной хемилюминесценции суспензии нейтрофилов: 1 — контроль; 2 — диклофенак натрия; 3 — метамизол натрия (анальгин). Люминол добавлен через 2 минуты после начала реакции клеток с пероксинитритом

Заключение

Метамизол натрия (анальгин) проявляет выраженное защитное действие в пероксинитрит-зависимых реакциях в клетках крови: замедляет пероксинитрит-индуцированное окисление гема в эритроцитах, препятствует окислению пероксинитритом ароматических соединений (включая белковые остатки ароматических аминокислот) и подавляет активацию пероксинитритом миелопероксидазы нейтрофилов. Диклофенак натрия уменьшает степень окисления пероксинитритом ароматических соединений (включая белковые остатки ароматических аминокислот) и подавляет пероксинитрит-индуцированную активацию миелопероксидазы нейтрофилов. Однако реакция гемоглобина, пероксинитрита и диклофенака натрия в эритроцитах может являться причиной негативных побочных действий препарата и требует дополнительного изучения.

УДК 612.112.91-086:576.3/.7

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРОСКОПИИ ЛАТЕРАЛЬНЫХ СИЛ

Стародубцева М. Н., Егоренков Н. И., Никитина И. А.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Микроскопия латеральных сил (МЛС) является одним из методов атомно-силовой микроскопии (АСМ) в контактном режиме сканирования. МЛС в сравнении с другими методами АСМ позволяет производить оценку не только геометрических характеристик образца, но и его механических (фрикционных) свойств. Оцениваемые с помощью АСМ механические свойства поверхности клеток определяются, в основном, функциональным состоянием подмембранного (кортикального) цитоскелета. При использовании контактного режима сканирования исследуемые клетки предварительно фиксируют с помощью высушивания или использования химических агентов (например, глутарового альдегида). После фиксации клеток их можно сканировать в обычных условиях (на воздухе), что значительно улучшает разрешение АСМ-изображений. Изучение зависимости механи-