

УДК 576:577:615.8

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ КРИОТЕРАПИИ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕМБРАН ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМИ.В. ПУХТЕЕВА¹, Н.В. ГЕРАСИМОВИЧ¹, Л.А. МАЛЬКЕВИЧ², А.А. МАХАНЁК³, М.Л. ЛЕВИН³¹УО «Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, Республика Беларусь²Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Республика Беларусь³Государственное научное учреждение «Институт тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова НАН Беларуси», Республика Беларусь

Аннотация. В работе изучено влияние кратковременного низкотемпературного воздействия на изменение показателей, отражающих физико-химическое состояние мембран лимфоцитов крови больных артритом. Установлено, что при ревматоидном артрите, происходят изменения текучести липидного компонента биологических мембран клеток организма.

Предполагается, что применение аэрокриотермического воздействия на фоне комплексного медикаментозного лечения, определяющегося индивидуальными особенностями и течением основного и сопутствующих заболеваний, способствует активации коррекции соматоформных вегетативных дисфункций.

Ключевые слова: криотерапия, ревматоидный артрит, лимфоциты периферической крови, плазматическая мембрана, пирен.

Abstract. In this paper presents the influence of short-term low temperature effect on changing indicators reflecting the physic and chemical state of the blood cells in the body. It has been established that in rheumatoid arthritis, changes of structure and properties of biological membranes of cells, especially their microviscosity, reflecting the structural and functional state of the plasma membranes of cells.

It is expected that the application of low temperature impact on the background of the traditional complex treatment, individual characteristics of amplification and over basic and related diseases, promotes activation of the correction somatoform autonomic dysfunction.

Keywords: cryotherapy, rheumatoid arthritis, lymphocytes of peripheral blood, plasmatic membrane, pyren.

Введение

В настоящее время возрос интерес к криотерапии, а криогенный метод получил признание и распространение в различных областях медицины не только вследствие высокой клинической эффективности, но и в связи с появлением новых технических возможностей генерации холода.

Ревматоидный артрит — это заболевание, находящееся в фокусе внимания ревматологов всего мира в течение десятилетий. Это связано с большим медицинским и социальным значением этой болезни. Ее распространенность достигает 0,5–2% от общей численности населения в промышленно развитых странах [1,2]. У больных ревматоидным артритом наблюдается уменьшение продолжительности жизни по сравнению с общей популяцией на 3–7 лет [3]. Трудно переоценить колоссальный ущерб, наносимый этим заболеванием обществу за счет ранней инвалидизации пациентов, которая при отсутствии своевременно начатой активной терапии может наступать в первые 5 лет от дебюта болезни. [1].

Методика эксперимента

В исследовании принимало участие 15 человек (12 мужчин и 3 женщины) с ревматоидным артритом. Критериями включения в исследование лиц в качестве контрольной группы (20 человек) являлись отсутствие анамнестических данных об заболевании ревматоидным артритом, биохимический и общий анализы крови.

Пациенты после общего осмотра и при отсутствии противопоказаний направлялись для прохождения курса общей газовой криотерапии в криокапсуле «КРИОМЕД-20/150-01» (производитель Российская федерация). Температура в процедурной кабине во время прохождения процедуры криотерапии поддерживалась -130 С.

Объектом исследования являлись лимфоциты периферической крови человека.

Забор крови для исследований производили натошак после 12-часового голодания в одно и то же время суток (утром) пункцией локтевой вены (самотеком). Для исследования кровь отбирали в пластиковые пробирки по 10 мл (в качестве антикоагулянта использовался EDTA). Лимфоциты выделяли согласно стандартной методике [4]. Число жизнеспособных клеток, определенное по тесту с трипановым синим (0,2 % раствор красителя), составляло не менее 96 %.

С помощью флуоресцентного зонда пирена (Sigma) проводили исследование структурного состояния липидной фазы мембран.

Согласно литературным данным, мономерная эмиссия пирена происходит преимущественно из полярной фазы липидов мембран, т.е. из областей полярных головок фосфолипидов и полярных областей липидов, прилегающих к белкам. Это, в свою очередь, позволяет оценить полярность в зоне микроокружения зонда.

Способность пирена создавать флуоресцирующие эксимеры используется для оценки мембранной вязкости липидного бислоя и аннулярного липида [5]. Исходя из этого, были проанализированы следующие параметры: степень эксимеризации пирена, полярность окружения зонда в прибелковом липиде и липидном бислое мембран.

Внедрение зонда осуществляли, как описано в работе [5] путем прединкубации его спиртового раствора (4 ммоль/л) с клетками ($1 \cdot 10^6$ кл/мл), находящимися в фосфатном буфере (рН 7,4). Конечная концентрация зонда в среде инкубации составляла 5 мкмоль/л. Регистрацию спектров флуоресценции осуществляли при длинах волн возбуждения 337 и 286 нм на спектрофлуориметре «СМ 2203» (Solar, Республика Беларусь). Микровязкость липидного окружения пирена оценивали по отношению интенсивностей эксимерной и мономерной флуоресценции ($Jэ/Jм$) при $\lambda_{эм.} = 475$ и 373 нм, соответственно. Микрополярность анализировали по отношению второго и первого вибрационных пиков ($F2/F1$) в спектре флуоресценции мономеров с $\lambda_{эм.} = 385$ и 373 нм при длинах волн возбуждения 337 и 286 нм соответственно.

Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета статистических программ Microsoft Excel 2003. Результаты экспериментов выражали в виде среднего значения и стандартной ошибки средней, а достоверность различий в группах оценивали по t-критерию Стьюдента. При этом различия считали достоверными при $p \leq 0,05$ [6].

Результаты и их обсуждение

В первой серии экспериментов проводились исследования показателей полярности аннулярного липида и липидного бислоя плазматических мембран лимфоцитов периферической крови. У пациентов с ревматоидным артритом не отмечено достоверных изменений показателя полярности различных областей мембраны.

Как известно важнейшая биологическая функция липидов – построение клеточных мембран. При образовании мембраны молекулы липидов ориентируются полярными группами («головками») наружу, а неполярными углеводородными концами («хвостами») внутрь. Образованный таким образом двойной слой определяет основное свойство мембран – их избирательную проницаемость. Изменения полярности липидного бислоя и аннулярного липида ведет к возможному нарушению их связывания, образованию «пробелов» в мембранах, а также к нарушению выполняемых функций.

Микровязкость (текучесть) мембраны сильно влияет на ее функционирование. При увеличении текучести мембрана становится более проницаемой для воды и других малых гидрофильных молекул, растет скорость латеральной диффузии интегральных белков. Если белок выполняет транспортную функцию, то изменение свойств липидной фазы может привести к значительному изменению скорости транспорта.

Во второй серии экспериментов были проанализированы показатели микровязкости различных областей плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови. Обнаружено, что микровязкость аннулярного липида плазматической мембраны лимфоцитов у больных ревматоидным артритом снижается в 2,5 раза по отношению к контрольным значениям у здоровых пациентов.

Противоположный характер изменений был отмечен для микровязкости в области общего липидного бислоя. У больных ревматоидным артритом установлено увеличение данного показателя на 25% по отношению к контрольным значениям.

Согласно данным, полученным в ходе исследования, можно предположить, что при системных заболеваниях, в частности, при ревматоидном артрите, происходят изменения структуры и свойств биологических мембран клеток организма, прежде всего их микровязкости. Этот показатель отражает структурно-функциональное состояние липидного

Как видно из результатов, представленных на рисунке 1, у пациентов с ревматоидным артритом не отмечено достоверных изменений показателя полярности аннулярного липида. Значения полярности липидного бислоя в случае использования традиционного лечения рассматриваемого заболевания имеют тенденцию к увеличению.

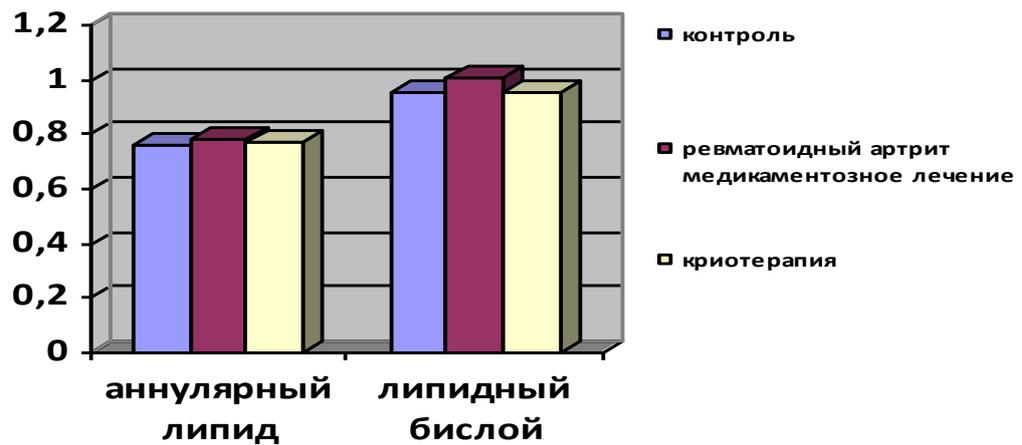


Рис. 1. Влияние криотерапии на показатели полярности (в отн. ед.) плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови доноров при ревматоидном артрите (РА)

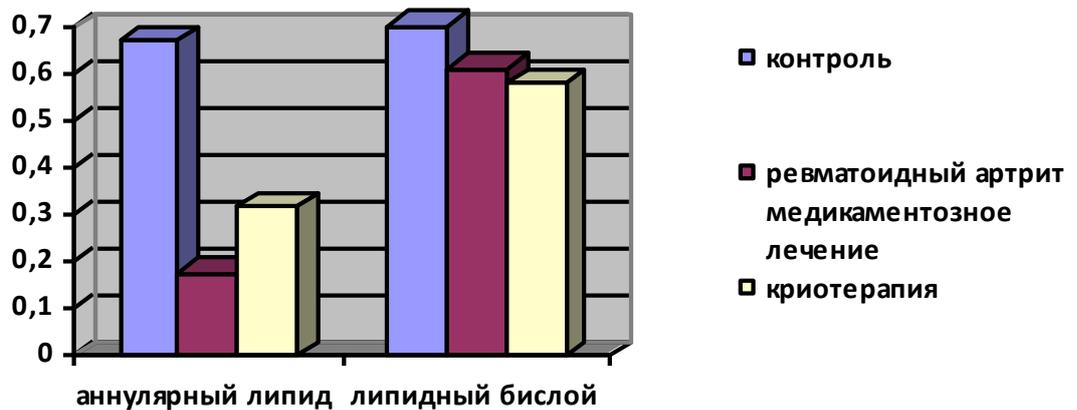


Рис. 2. Влияние криотерапии на показатели микровязкости (в отн. ед) плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови доноров

При сравнении полученных данных при использовании криотерапии в качестве дополнительного метода лечения отмечено, что показатели полярности различных областей плазматической мембраны существенно не отличаются от таковых при традиционном медикаментозном лечении (рисунок 1). Однако пациенты отмечали улучшение общего самочувствия и облегчение болевых симптомов и подвижности суставов после сеансов криотерапии.

Далее были проанализированы показатели микровязкости различных областей плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови (рисунок 2).

В результате анализа данных эксперимента обнаружено, что микровязкость аннулярного липида плазматической мембраны лимфоцитов у больных ревматоидным артритом, получавшим традиционное комплексное лечение, снижается в среднем в 3,6 раза по отношению к контрольным значениям у здоровых пациентов. При этом после криотерапевтического воздействия эти показатели были ниже в 2,5 раза по сравнению с контрольными значениями. Однако были отмечены индивидуальные различия у пациентов, связанные, возможно, с наличием сопутствующих заболеваний, индивидуальной реакцией на принимаемые лекарственные препараты. При анализе значений микровязкости в области общего липидного бислоя было установлено снижение в среднем на 15% по отношению к контролю после традиционного лечения и после криотерапии. Но, как и в случае с показателями микровязкости аннулярного липида, у

некоторых больных ревматоидным артритом установлено снижение данного показателя примерно в 2 раза.

Заключение

Согласно данным, полученным в ходе исследования, можно предположить, что при системных заболеваниях, в частности, при ревматоидном артрите, происходят изменения структуры и свойств биологических мембран клеток организма, прежде всего их вязкостных характеристиках, что отражается на структурно-функциональном состоянии плазматических мембран клеток.

Предполагается, что применение аэрокриотермического воздействия на фоне традиционного комплексного лечения, определяющегося индивидуальными особенностями и течением основного и сопутствующих заболеваний, способствует активации коррекции соматоформных вегетативных дисфункций. Это, в свою очередь, по-видимому, способствует активации в организме пациентов адаптивных перестроек, регуляторных, пластических и метаболических процессов.

Список литературы

1. Алехин, А.И. Аэрокриотерапия в современной медицине / Алехин А. И., Денисов Л. Н., Исаев Л. Р. и др. – М., 2002. – 287 с.
2. Клинические рекомендации. Ревматология/ под. ред. Е. Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 288 с.
3. Насонов, Е.Л. Современные стандарты фармакотерапии ревматоидного артрита / Насонов Е. Л., Каратеев Д. Е., Чичасова Н. В., Чемерис Н. А. // Клиническая фармакология и терапия. □ 2005. – Т. 14. – № 1. – С. 72–75.
4. Лимфоциты: Методы: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Клауса. – М.: Мир, 1990. – 400 с.
5. Добрецов, Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран / Добрецов Г.Е., Владимиров Ю.А. М.: Наука – 1980. – 320 с.
6. Рокицкий, П.Ф. Биологическая статистика / П.Ф. Рокицкий. — Мн.: Высшая школа, 1973. — 320 с.

УДК [575./2 316:599.9]:57.087

ОПТИКО-ЭЛЕКТРОННЫЕ КОМПЬЮТЕРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ «ХРОМОСОМА», «ХРОМОСОМА-FISH» ДЛЯ МАССОВЫХ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОБСЛЕДОВАНИЙ НАСЕЛЕНИЯ В ПОСТ-ЧЕРНОБЫЛЬСКИЙ ПЕРИОД

В.И.ИВАНОВ, Н.И.ИВАНОВ, А.Н.ЛАЗАРЧИК

*Научно-исследовательское учреждение «Институт ядерных проблем»
Белорусского государственного университета
Бобруйская, 11, Минск, 220030, Беларусь*

Поступила в редакцию

Аннотация. Приведены результаты разработки и исследования оптико-электронных компьютерных комплексов «Хромосома», «Хромосома-FISH» для массовых цитогенетических обследований населения в пост-чернобыльский период.

Ключевые слова: цитогенетика, кариотип, хромосомные aberrации, массовые цитогенетические обследования, комплексы «Хромосома».

Abstract. The results of the development and research of optoelectronic computer complexes "Chromosome", "Chromosome-FISH" for mass cytogenetic surveys of the population in the post-Chernobyl period.

Keywords: cytogenetics, karyotype, chromosomal aberrations, mass cytogenetic surveys, complexes «Chromosome».

Введение

В настоящее время общепризнанным фактом является то, что хроническое воздействие на население низкодозовой радиации, обусловленной последствиями различного рода ядерных взрывов и техногенных катастроф, является причиной формирования генетической нестабильности, которая ведет не только к новообразованиям, но может быть также ответственна и за ряд ее отдаленных феноменов, реализующихся на организменном уровне [1-3]. Процессы малигнизации клеток и дальнейшей опухолевой прогрессии тесно связаны с реорганизацией генома, что во множестве случаев выражается структурными и численными aberrациями хромосом, изменениями их отдельных областей (транслокациями), появлением клеточных клонов. В этой связи задача объективной оценки и прогноза цитогенетических изменений у населения, проживающего на экологически неблагоприятных территориях, и в особенности на территориях, пострадавших от чернобыльской катастрофы, является чрезвычайно важной и требует проведения регулярных массовых цитогенетических обследований населения на популяционном уровне.