

ВЛИЯНИЕ ЭМУЛЬСИИ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ГЕНЕРАЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В НЕЙТРОФИЛАХ

© 2003 г. Д.Г. Шехтман, В.Г. Сафронова, А.Г. Габдулхакова, А.В. Миллер,
А.Н. Склифас, В.В. Капцов, Н.И. Кукушкин

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино Московской области

Поступила в редакцию 24.09.02 г.

После доработки 02.04.03 г.

Оценена способность эмульсии перфторорганических соединений (ПФОС), стабилизированной проксанолом 268, модифицировать функционирование ферментных систем, ответственных за генерацию активных форм кислорода в перитонеальных нейтрофилах. Функциональная активность нейтрофилов оценена по интенсивности генерации активных форм кислорода методом хемиллюминесцентного анализа. Показано, что эмульсия ПФОС подавляет первую фазу ответа нейтрофилов на форбол-12-миристан-13-ацетат. Эффект зависит от концентрации эмульсии. При стимуляции клеток N-формилметиониллейцилфенилаланином в присутствии эмульсии не наблюдается ингибирования активности нейтрофилов. Полученные результаты косвенно подтверждают предположение о том, что эмульсия ПФОС ингибирует активность НАДФН-оксидазы. Миелопероксидаза в присутствии эмульсии ПФОС играет более существенную роль в формировании люминесцентного ответа при стимуляции нейтрофилов как N-формилметиониллейцилфенилаланином, так и форбол-12-миристан-13-ацетатом. В результате действия эмульсии ПФОС спектр активных форм кислорода в респираторном взрыве нейтрофилов сдвигается в сторону радикалов, продуцируемых миелопероксидазой.

Ключевые слова: нейтрофилы, эмульсии перфторорганических соединений, респираторный взрыв, хемиллюминесценция.

Наиболее быстрый ответ врожденной иммунной системы на вторжение в организм чужеродных частиц обеспечивают полиморфно-ядерные нейтрофильные гранулоциты (нейтрофилы), составляющие самую многочисленную группу лейкоцитов крови. Массированный выброс реактивных метаболитов кислорода, респираторный взрыв, является одним из проявлений цитотоксической функции нейтрофилов [1,2]. Две основные ферментные системы ответственны за генерацию активных форм кислорода (АФК) при респираторном взрыве. НАДФН-оксидаза, иницируемая ассоциацией мембранных и цитоплазматических компонентов, катализирует перенос электронов с НАДФН на молекулярный кислород. Анион

супероксида, образующийся в результате этой реакции, дает начало другим активным формам кислорода, которые определяют в основном первую фазу ответа на форбол-12-миристан-13-ацетат (ФМА) [1]. Миелопероксидаза переводит супероксид в перекисные соединения и гипохлориты, которые выбрасываются нейтрофилами в больших количествах во второй фазе ответа [3].

Дисперсные среды, в том числе различные типы эмульсий, применяемые для парентерального питания, замещения крови и направленного транспорта лекарств, могут модифицировать функции нейтрофилов [4,5]. Эмульсии химически инертных перфторорганических соединений (ПФОС) являются дисперсными системами, частицы которых представляют собой относительно гидрофобные поверхности. Показано, что в зависимости от растворимости перфторуглеродов в липидах некоторые из них могут диффундировать в липидные бислои клеточных мембран [6,7] и оказывать неспецифические эффекты.

Сокращения: АФК – активные формы кислорода, ФМА – форбол-12-миристан-13-ацетат, ПФОС – перфторорганические соединения, ФМЛФ – N-формилметиониллейцилфенилаланин, ПКС – протеинкиназа С, ПФД – перфтордекалин, ПФМЦП – перфторметилциклогексилпиперидин.

Жидкие перфторуглероды уменьшают *in vitro* продукцию активных форм кислорода альвеолярными макрофагами [8]. Эмульсии ПФОС также влияют на функционирование клеток иммунной системы [9,10]. Стабилизированные различными эмульгаторами эмульсии ПФОС ингибировали продукцию АФК перитонеальными нейтрофилами, индуцированную форболовым эфиром. Способность эмульсий ПФОС модифицировать метаболизм нейтрофилов является важным фактором, который необходимо учитывать при широком клиническом применении эмульсий ПФОС в качестве лекарственных препаратов. Однако на сегодняшний день не сложилось ясного представления о возможных механизмах формирования ответа нейтрофилов в присутствии эмульсий ПФОС.

Задача настоящего исследования заключалась в изучении действия эмульсии ПФОС на различные фазы респираторного взрыва нейтрофилов, вызванного N-формилметиониллейцилфенилаланином (ФМЛФ) – агонистом специфического мембранного рецептора, и форболовым эфиром ФМА – прямым активатором протеинкиназы С (ПКС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали зимозан, среду Хенкса, NERES, хемотаксический пептид ФМЛФ, ФМА, фиколл (Sigma, США); урографин (Шеринг АО, Германия); перфторорганические соединения – перфтордекалин (ПФД) и перфторметилциклогексилпиперидин (ПФМЦП) (ИНЭОС РАН); блок-сополимер окиси этилена и пропилена – проксанол 268 (НИИОПИК).

Исследования проводили на клетках мышей SPF-категории (specific pathogen free) аутбредной линии NMRI. Животные были получены из питомника барьерного типа Филиала Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Пушино Московской области). Средняя масса экспериментальных животных составляла 25 – 30 г. Нейтрофилы изолировали из очага острого воспаления через 5 ч после внутрибрюшинной инъекции 150 мкл суспензии зимозана (5 мг/мл). Суспензию клеток разделяли на фракции центрифугированием в растворе фиколла/урографин с плотностью 1,077 г/мл. По окрашиванию акридиновым оранжевым после разделения нейтрофилы составляли не менее 98%, по окрашиванию трипановым синим их жизнеспособность была более 95%. Клетки хранили при 4°C в солевой среде и использовали в экспериментах через 1 ч после выделения.

Были использованы 10 об.% эмульсии ПФОС (состав ПФД/ПФМЦП, 2/1), стабилизированные проксанолом 268. Используемые для приготовления эмульсий ПФОС по данным ЯМР-спектроскопии и газожидкостной хроматографии содержали не менее 98% основного вещества.

Эмульсии были получены на экструзионном дезинтеграторе «Донор-1» при давлении 400 атм в условиях, обеспечивающих стерильность и апиrogenность препарата. Средний диаметр частиц эмульсии составлял 100 нм.

Функциональную активность нейтрофилов оценивали по продукции активных форм кислорода методом хемиллюминесцентного анализа [11]. Был использован хемиллюминесцентный прибор ХЛ-111, изготовленный в лаборатории биофизики нервной клетки Института биофизики клетки РАН (Пушино). Хемиллюминесценцию регистрировали последовательно от 12 ячеек с клетками при 37°. Рабочий объем ячейки составлял 200 мкл, плотность нейтрофилов в ячейке была 10^6 клеток/мл. Последовательную регистрацию хемиллюминесценции от всех 12 ячеек осуществляли в течение 5 с в случае активации клеток ФМЛФ и 10 с при активации нейтрофилов ФМА. Продолжительность записи сигнала определялась задачей эксперимента. Состав среды инкубации был следующим: 138 мМ NaCl, 6 мМ KCl, 1 мМ CaCl₂, 1 мМ MgSO₄, 5 мМ NaHCO₃, 1 мМ Na₂HPO₄, 10 мМ глюкоза, 10 мМ NERES, с добавлением 0,35 мМ люминола, pH 7,4. Для активации респираторного взрыва использовали 10 мкМ ФМЛФ и 1 мкМ ФМА.

Последовательность проведения эксперимента была следующая: в 12 ячеек, заполненных физиологическим раствором с добавлением люминола, вносили по 20 мкл суспензии нейтрофилов и устанавливали ячейки в хемиллюминесцентный прибор. В течение первых 5 мин регистрировали базовый уровень хемиллюминесценции, затем инкубировали в течение 10 мин с эмульсией ПФОС, после чего клетки стимулировали ФМА или ФМЛФ. В качестве неспецифического ингибитора внутриклеточной и внеклеточной активности миелопероксидазы использовали 0,1 мМ азид натрия [3].

Активность нейтрофилов оценивали по интенсивности хемиллюминесценции в первой фазе (через 2 мин) и во второй фазе (через 10 мин) после подачи стимулирующего агента ФМА и по продукции АФК, определяемой площадью под кривой зависимости интенсивности хемиллюминесценции от времени. Продукцию АФК

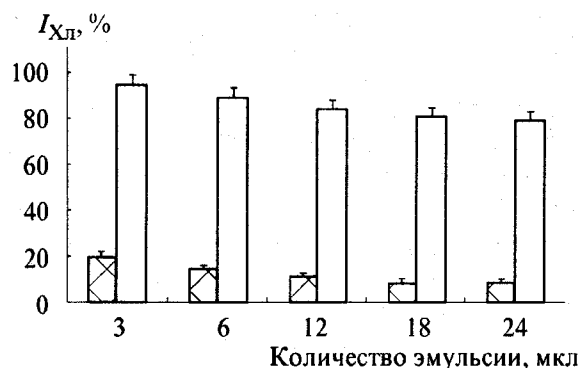


Рис. 1. Зависимости интенсивности хемиллюминесценции ($I_{ХЛ}$, %) в первой и во второй фазах (заштрихованные и светлые столбики соответственно) ответа нейтрофилов на 1 мкМ ФМА от объема эмульсии в среде инкубации. Интенсивность хемиллюминесценции интактных нейтрофилов в ответ на 1 мкМ ФМА в каждой фазе принята за 100%. Представлены средние значения по результатам семи экспериментов, указана средняя квадратичная ошибка. * - $p < 0,05$.

определяли за 50 с или 2,5 мин от момента добавления ФМЛФ или ФМА соответственно. Эффект оценивали по отношению продукции АФК нейтрофилов, подвергнутых действию эмульсии, к суммарной продукции АФК нейтрофилов в отсутствие эмульсии. Статистическая обработка выполнена по результатам обозначенного числа независимых экспериментов, эффект выражен в процентах как среднее значение эффекта \pm средняя квадратичная ошибка. Отличия от контроля или между группами установлены по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эмульсия ПФОС угнетает вызванную форболовым эфиром первую фазу ответа нейтрофилов. Ответ клеток на ФМА в высоких концентрациях (около 1 мкМ) носит двухфазный характер [12]. В наших ранних работах было показано, что в присутствии эмульсии существенно изменяется кинетика ответа нейтрофилов на 1 мкМ ФМА: происходит подавление быстрой фазы; затем медленное развитие ответа с практически полным восстановлением его амплитуды до контрольных значений [9,10]. Показано, что ингибирование первой фазы с увеличением концентрации эмульсии усиливается, а во второй фазе интенсивность хемиллюминесценции приближается к контрольным значениям вне зависимости от концентрации эмульсии (рис. 1). Ингибирование первой фазы ответа нейтрофилов достигало максимальной величины при добавлении 12 мкл эмульсии в ячейку

хемиллюминесценции. Дальнейшее увеличение концентрации эмульсии не изменяло уровень ингибирования.

Исходя из полученных данных, мы предположили, что наблюдаемое угнетение ответа нейтрофилов связано с подавлением эмульсией ПФОС активности НАДФН-оксидазы.

Ответы нейтрофилов, индуцируемые ФМА в присутствии эмульсии ПФОС и различных люминофоров. Известно, что при использовании люцегинина в качестве люминофора в большей степени определяется продукция супероксид-аниона, что отражает функционирование НАДФН-оксидазы [13]. При использовании этого люминофора на фоне эмульсии ПФОС и с учетом полученных выше результатов, можно было ожидать, что первая фаза ответа практически не будет регистрироваться. Люминол-зависимая люминесценция отражает продукцию гипохлоритов и гидроксилрадикалов, обусловленную миелопероксидазной активностью [14]. Используя этот люминофор на фоне эмульсии ПФОС, мы практически регистрируем ответ, обусловленный в большей мере активностью миелопероксидазы.

Оригинальные данные (кривые, представленные на рис. 2б, где в качестве зонда использовался 0,1 мМ люцегинин), подтверждают, что при воздействии эмульсии ПФОС первая фаза ответа не регистрируется. Действительно, как можно видеть из рис. 2а, где приведены оригинальные кривые одного из экспериментов с использованием люминола в качестве хемиллюминесцентного зонда, кроме значительного подавления НАДФН-оксидазной активности эмульсией наблюдается значительно более высокая интенсивность хемиллюминесценции, соответствующая по времени второй фазе и указывающая на то, что в этих условиях сохраняется или даже усиливается активность миелопероксидазы.

Влияние эмульсии ПФОС на вызванную ФМЛФ продукцию АФК в нейтрофилах. Эмульсия ПФОС в используемых концентрациях не изменяла базовый уровень хемиллюминесценции нейтрофилов, но усиливала респираторный взрыв, вызываемый 10 мкМ ФМЛФ (рис. 3). Увеличение концентрации эмульсии ПФОС в среде инкубации усиливало ответ нейтрофилов.

Исходя из литературных и ранее полученных нами данных о значительном подавлении первой фазы ответа нейтрофилов на форболовый эфир и сохранении второй фазы, мы предположили, что усиление ответа клеток на

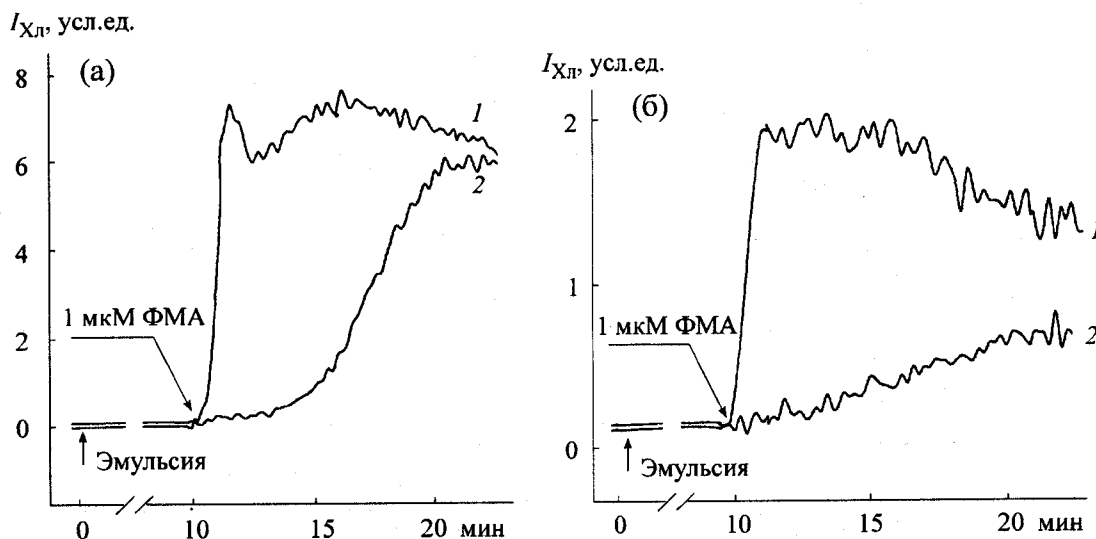


Рис. 2. Изменение кинетики ответа нейтрофилов на форболовый эфир в контроле и в присутствии эмульсии с использованием различных хемилуминесцентных зондов: (а) – люминола; (б) – люцигенина. Стрелками показаны моменты добавления агентов. По оси ординат – интенсивность хемилуминесценции ($I_{Хл}$, усл.ед.).

ФМЛФ на фоне эмульсии ПФОС может быть связано с ее влиянием на миелопероксидазу. В следующей серии экспериментов мы исследовали действие эмульсии ПФОС на респираторный взрыв нейтрофилов на фоне азида натрия, ингибитора миелопероксидазы.

Подавление респираторного взрыва нейтрофилов, индуцируемого ФМЛФ, на фоне эмуль-

сии ПФОС и азида натрия. Действие эмульсии ПФОС на нейтрофилы, обработанные 0,1 мМ азидом натрия, приводило к зависимому от концентрации эмульсии подавлению респираторного взрыва (рис. 4). Из сравнения результатов, представленных на рис. 3 и 4, видно, что эффект эмульсии ПФОС на интактные клетки и клетки, обработанные азидом натрия, противоположен. В отсутствие азида натрия наблюдается усиление интенсивности хемилуми-

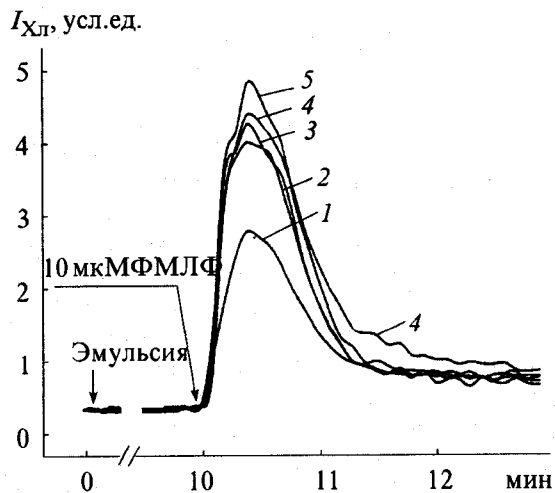


Рис. 3. Кинетика хемилуминесцентного ответа на 10 мкМ ФМЛФ интактных нейтрофилов (1) и нейтрофилов, обработанных эмульсией ПФОС (2 – 5). В среду инкубации было добавлено 6 (2), 12 (3), 18 (4) и 24 мкл (5) эмульсии ПФОС, после инкубации с эмульсией в течение 10 мин клетки были активированы 10 мкМ ФМЛФ. Стрелки указывают момент подачи эмульсии и ФМЛФ. По оси ординат – интенсивность хемилуминесценции ($I_{Хл}$, усл.ед.).

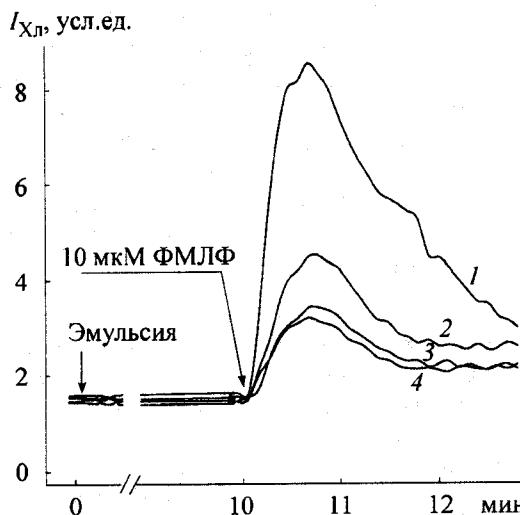


Рис. 4. Кинетика хемилуминесцентного ответа нейтрофилов при активации 10 мкМ ФМЛФ. В среду инкубации были добавлены: 0,1 мМ азид натрия и 3 ед/мл пероксидазы хрена (1–4) и эмульсия ПФОС в объемах 6 (2), 12 (3), 18 мкл (4). Стрелками показаны моменты добавления эмульсии ПФОС и ФМЛФ. По оси ординат – интенсивность хемилуминесценции ($I_{Хл}$, усл.ед.).

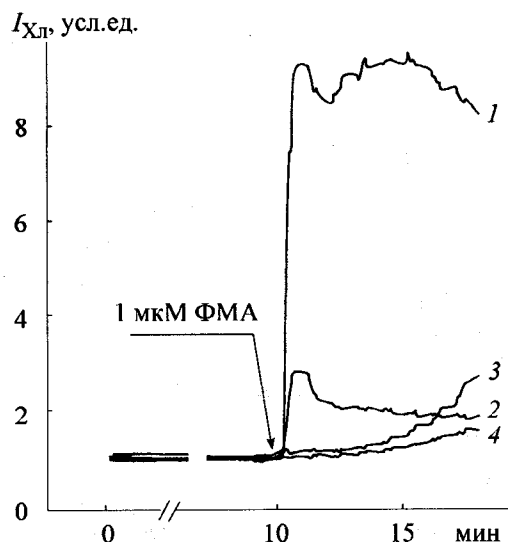


Рис. 5. Кинетика хемиллюминесцентного ответа нейтрофилов при активации 1 мкМ ФМА интактных нейтрофилов (1) и нейтрофилов, в среду инкубации к которым было добавлено 0,1 мМ азид натрия (2, 4) и эмульсия ПФОС (3, 4) в объеме 12 мкл. Стрелками показаны моменты добавления ФМА. По оси ординат – интенсивность хемиллюминесценции ($I_{ХЛ}$, усл.ед.).

несценции с увеличением концентрации эмульсии ПФОС, тогда как при ингибировании миелопероксидазы азидом с увеличением концентрации эмульсии происходит снижение интенсивности ответа. Вероятно, ингибирующее действие эмульсии на активность нейтрофилов на фоне азид натрия вызвано ее блокирующим влиянием на НАДФН-оксидазу, тогда как усиление респираторного взрыва вызвано возможным влиянием эмульсии на миелопероксидазу. Таким образом, можно говорить о том, что несмотря на подавление активности НАДФН-оксидазы эмульсией, общая интенсивность хемиллюминесцентного ответа в этом случае увеличивается, по-видимому, за счет увеличения активности миелопероксидазы.

Подавление респираторного взрыва нейтрофилов, индуцируемого ФМА, на фоне эмульсии ПФОС и азид натрия. Присутствие в среде инкубации азид натрия значительно подавляет индуцированный ФМА ответ нейтрофилов (рис. 5). Действие 0,1 мМ азид натрия на нейтрофилы, обработанные эмульсией ПФОС, привело к еще более значительному подавлению респираторного взрыва, причем наблюдалось ингибирование первой и второй фаз ответа.

Эффект ПФОС на продукцию АФК нейтрофилами зависит от концентрации ФМА. Мы исследовали ответ нейтрофилов, индуцированный различными дозами ФМА, как без эмуль-

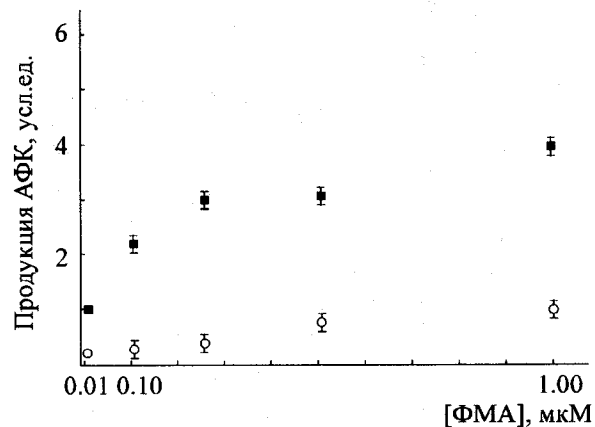


Рис. 6. Зависимости продукции АФК нейтрофилами от концентрации ФМА интактных клеток (квадраты) и в присутствии 3 мкл эмульсии ПФОС (кружки). Приведены абсолютные значения продукции АФК в отн.ед. относительно соответствующей величины в контроле (без эмульсии). Представлены средние значения и средняя квадратичная ошибка по результатам шести экспериментов.

сии, так и в ее присутствии. Показано, что продукция АФК меняется при увеличении концентрации ФМА. В присутствии эмульсии ПФОС при низких концентрациях ФМА продукция АФК нейтрофилами практически полностью подавлена (рис. 6). Зависимость интенсивности ответа нейтрофилов от концентрации ФМА сохраняется в присутствии эмульсии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования показали, что в присутствии эмульсии ПФОС, стабилизированной проксанолом 268, происходит модификация хемиллюминесцентного ответа нейтрофилов, индуцированного как форболовым эфиром, так и хемотаксическим пептидом: эмульсия ПФОС усиливает респираторный взрыв нейтрофилов, вызванный ФМЛФ, значительно подавляет первую фазу ответа на ФМА (в концентрации 1 мкМ). Полученные нами данные хорошо согласуются с результатами более ранних работ, в которых изучалось влияние эмульсии фторуглеродов, стабилизированных различными эмульгаторами [15–18]. Однако в отличие от результатов нашей работы при активации нейтрофилов ФМЛФ было обнаружено снижение интенсивности ответа нейтрофилов в присутствии эмульсии ПФОС, стабилизированной фосфолипидами [19]. Возможно, это отличие связано с тем, что в качестве поверхностно-активного вещества мы использовали проксанол 268, а не фосфолипиды.

Изменения ответа клеток на ФМЛФ связывали с модификацией фторуглеродами взаимодействия рецептор – лиганд [20]. Однако эта гипотеза не позволяет объяснить изменение ответа нейтрофилов на ФМА. Респираторный взрыв, вызываемый ФМА, структурным аналогом диацилглицерина, в условиях *in vitro* происходит при проникновении ФМА в клетку, связывании его с ПКС в ее регуляторном центре, что вызывает транслокацию ПКС к цитоплазматической мембране. После непосредственного действия активатора ПКС в свою очередь фосфорилирует компоненты НАДФН-оксидазы [21,22]. Активность последней в значительной мере определяет интенсивность генерации АФК в респираторном взрыве. Исходя из вышеизложенного, мы предполагаем, что фторуглероды не только модифицируют взаимодействие между рецептором и лигандом, но и влияют на взаимодействие ФМА и ПКС. По-видимому, следствием конкуренции между эмульсией ПФОС и ФМА является замедление процесса сборки комплекса НАДФН-оксидазы, что проявляется в существенном уменьшении продукции АФК во время первой фазы ответа. Можно достаточно уверенно говорить о том, что модифицированный эмульсией ответ нейтрофилов при активации ФМА обусловлен активностью практически только миелопероксидазы. Вопрос о том, оказывает ли эмульсия прямое действие на миелопероксидазу, следствием которого могло бы быть усиление активности последней, остается открытым.

При активации нейтрофилов ФМЛФ наблюдается усиление ответа клеток в широком диапазоне концентраций эмульсии. Опыты с блокадой миелопероксидазы азидом натрия показали, что причиной усиления ответа является влияние эмульсии на функционирование этого фермента. Таким образом, можно говорить о том, что при стимуляции клеток ФМЛФ в присутствии эмульсии ПФОС НАДФН-оксидаза не играет основной роли в формировании ответа нейтрофилов.

Изменения, наблюдаемые в функционировании нейтрофилов в присутствии эмульсий ПФОС, могут быть вызваны тем, что фторуглероды в значительной степени влияют на текучесть и вязкость клеточных мембран [17]. Предположим, что фторуглероды, встраиваясь в клеточную мембрану, как более вязкие вещества, повышают вязкость самой мембраны, понижая при этом подвижность мембранных белков. Подобные изменения физико-химических свойств мембраны, как мы полагаем, могут привести к замедлению скорости сборки субъ-

единиц комплекса НАДФН-оксидазы, что в свою очередь окажет влияние на интенсивность респираторного взрыва.

Полученные *in vitro* эффекты модификации эмульсиями ПФОС функциональной активности нейтрофилов из очага воспаления могут быть приняты во внимание при исследовании медицинских проблем, связанных с воспалительными процессами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Thelen M., Dewald B., Baggioli M. // *Physiol. Rev.* 1993. V. 73. P. 536–542.
2. Downey G.P., Fukushima T., Fialkow L., Waddell T.K. // *Seminars Cell Biol.* 1995. V. 6. P. 345–356.
3. Nurcombe H.L., Edwards S.W. // *Annals Rheumatic Disease.* 1989. V. 48. P. 56–62.
4. Kohelet D., Pellr S., Arbel E., Goldberg M. // *J. Parent. Ent. Nutr.* 1990. V. 14. P. 472–473.
5. Robin A.P., Arain I. // *J. Parent. Ent. Nutr.* 1989. V. 13. P. 608–613.
6. Obratsov V.V., Neslund G.G., Kornbrust E.S. et al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2000. V. 278. L 1018-L 1024.
7. Smith D., Sun X., Neslund G., Flaim S.F. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997. V. 155. A. 752.
8. Smith T.M., Steinhorn D.M., Thusu K., Furman B.P., Dandona P. // *Crit. Care Med.* 1995. V. 23. P. 1533–1539.
9. Образцов В. В., Шехтман Д.Г., Склифас А.Н., Ганеев А.Б., Сафронова В.Г., Чемерис Н.К., Сухарев С.А., Садовников В.Б. // Докл. АН СССР. 1995. Т. 342. С. 819–822.
10. Шехтман Д.Г., Сафронова В.Г., Склифас А.Н., Аловская А.А., Ганеев А.Б., Образцов В.В., Чемерис Н.К. // Биофизика. 1997. Т. 42. С. 1289–1295.
11. Allen R.C., Loose L.D. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1976. V. 69. P. 245–252.
12. Дедкова Е.Н., Аловская А.А., Габдулхакова А.Г., Сафронова В.Г., Зинченко В.П. // Биохимия. 1999. Т. 64. С. 941–948.
13. Koie T., Suzuki K., Shimoyama T., Umeda T. et al. // *Luminescence.* 2001. V. 16. P. 39–43.
14. Сафронова В. Г., Габдулхакова А.Г., Миллер А.В., Косарев И.В., Василенко Р.Н. // Биохимия. 2001. Т. 66. С. 1036–1047.
15. Virmani R., Fink L.M., Gunter K. et al. // *Transfusion.* 1984. V. 24. P. 343–347.
16. Lane T., Smith D., Wancewicz E. et al. // *Art. Cells, Blood Substit. and Immobil. Biotechnology.* 1993. V. 21. P. 163–172.
17. Lowe R.C., Mochizuki M., Honig C.R. et al. // *Oxygen Transport.* N.Y.: Plenum Press, 1988. P. 655.
18. Smith D., Neslund G. // *FASEB J.* 1994. V. 8. A 409.
19. McDonagh P.F., Cerney K., Hokama J.Y., Lai G., Gonzales R.F., Davis-Gorman G., Copeland J.G. // VIIIth

- International Symposium on Blood Substitutes, November, 2000, San-Diego, California, II-8.
20. *Virmani R., Warren D., Rees R. et al.* // *Transfusion*. 1983. V. 23. P. 512-515.
21. *Маянский А.Н., Маянский Д.Н.* // *Очерки о нейтрофиле и макрофаге*. Новосибирск: Наука, 1989.
22. *O'Flaherty J.T., Jacobson D.P., Redman J.F., Rossi A.G.* // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. P. 9146-9152.

The Effect of the Emulsion of Perfluoroorganic Compounds on Enzyme Systems Responsible for the Generation of Reactive Oxygen Species in Neutrophils

D.G. Shekhtman, V.G. Safronova, A.G. Gabdulkhakova, A.V. Miller, A.N. Sklifas, V.V. Kaptsov, and N.I. Kukushkin

Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

The ability of the emulsion of perfluoroorganic compounds stabilized with proxanol 268 to affect the functions of peritoneal neutrophils was evaluated. The functional activity of neutrophils was estimated from the intensity of generation of reactive oxygen species using the method of chemiluminescent analysis. The emulsion was shown to suppress the neutrophil responses to phorbol-12-myristate-13-acetate in a dose-dependent manner. No inhibition of the activity of neutrophils in the presence of the emulsion was observed in N-formylmethionylleucylphenylalanine stimulated cells. The data obtained indirectly confirm the suggestion that the perfluoride emulsion inhibits neutrophil NADPH oxidase activity. In the presence of the perfluoride emulsion, myeloperoxidase plays a more important role in the generation of luminescent responses in both N-formylmethionylleucylphenylalanine- and phorbol-12-myristate-13-acetate-stimulated neutrophils. The effect of perfluoride emulsion results in the preferential myeloperoxidase-produced generation of reactive oxygen species in the neutrophil respiratory burst.

Key words: neutrophil, emulsion of perfluoroorganic compounds, respiratory burst, chemiluminescence