

работы, проводить эксперименты, не причиняя вреда лабораторным животным; выполнять эксперименты, которые трудно провести в реальных лабораторных условиях из-за отсутствия оборудования, длительности эксперимента или его высокой стоимости. Программа прекрасно зарекомендовала себя при проведении дистанционных on-line занятий. На кафедре нормальной физиологии данная программа успешно используется в обучении студентов более 10 лет благодаря сотрудничеству с организацией InterNICHE.

Таким образом, использование лабораторных симуляторов на примере PhysioEx 8.0, значительно повышает эффективность проведения лабораторной части занятий, повышает наглядность и усвояемость изучаемого материала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гревцов К. Ю., Кадеева О. Е. Виртуальные лаборатории и интерактивные симуляторы: назначение и возможности на уроках естественно-научного цикла // Ученые записки университета имени П. Ф. Лесгафта. – 2020. – № 12 (190) – С. 45-47.

2. Зинчук В. В. и др. Организация образовательного пространства в компетентностной модели обучения физиологии // Материалы Республиканской с международным участием научно-практической конференции, посвященной 60-летию Гродненского государственного медицинского университета (28 сентября 2018 г.). – 2018. – С. 331-334.

3. Панина Т. С., Вавилова Л. Н. Современные способы активизации обучения: учеб. пособие для студентов. высш. учеб заведений / под ред. Т. С. Паниной. – М.: Академия, 2008. – 176 с.

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ И ТОКСИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ ЛИТИЯ НА ЗАПУСК ПРОЦЕССА ЭРИПТОЗА

Белевич Е. И.¹, Тамашевский А. В.¹, Гармаза Ю. М.¹, Канащ Ю. С.², Слобожанина Е. И.²

¹ГУ РНПЦ Трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
г. Минск, Беларусь

²ГНУ Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
г. Минск, Беларусь

Введение. В терапии биполярных расстройств широкое применение нашли препараты на основе солей лития [1]. Положительный эффект данных препаратов связывают с их нейропротекторным действием [2]. В то же время механизм действия ионов Li^+ на клетки остается не ясным. Известно, что Li^+ поступает в клетки через Na^+ -каналы и Na^+/Li^+ обменники, а удаляется Na^+/K^+ АТФазой, однако низкая скорость данного процесса способствует накоплению Li^+ в клетках, которое в свою очередь может стать причиной его токсичного воздействия на клетки. В качестве одного из возможных механизмов воздействия Li^+ на клетки рассматривают активацию в них свободнорадикальных процессов. Однако анализ литературы выявил противоречивые данные на этот счет. В работе

[3] показано, что воздействие Li^+ на разные типы ядерных клеток приводит к повышению уровня активных форм кислорода (АФК) и последующему развитию окислительного стресса. В свою очередь в работе [4] выявлен протективный эффект Li^+ на клеточные линии PC5 и RAW264.7, который авторы объясняют: 1) способностью Li^+ обеспечить защиту клеток от апоптоза [2]; 2) антиоксидантным действием Li^+ [5], реализуемым за счет повышения уровня восстановителей и влиянием на экспрессию генов, участвующих в окислительной цитопroteкции. В то же время выявлено, что высокие концентрации ионов Li^+ (20 мМ) усиливают передачу апоптотических сигналов, вызванных активацией Fas-рецептора [2]. На начало исследования нами сделано предположение о возможном воздействии ионов лития на запуск процесса запрограммированной гибели эритроцитов – эриптоза за счет нарушения в них редокс-статуса.

Цель – изучение влияния ионов Li^+ в терапевтических и токсичных концентрациях на протекание свободнорадикальных процессов, жизнеспособность эритроцитов человека и запуск процесса эриптоза.

Материалы и методы исследования. В исследовании были использованы терапевтические (0,1; 0,3 и 1 мМ) и токсичные (3 и 10 мМ) концентрации хлорида лития (LiCl). Инкубацию суспензии эритроцитов человека с разными концентрациями LiCl проводили в течение 3 часов при 37°C . О протекании свободнорадикальных процессов в эритроцитах судили по уровню АФК, который определяли с помощью 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата ($\text{CM-H}_2\text{DCFDA}$), учитывая интенсивность флуоресценции его конечного продукта – CM-DCF . Оценку уровня жизнеспособности эритроцитов проводили по интенсивности флуоресценции кальцеина в клетках. Экспонирование фосфатидилсерина (ФС) – маркера эриптоза, во внешнем монослое липидного бислоя мембран эритроцитов оценивали с помощью FITC-конъюгированного аннексина V. Цитофлуориметрический анализ эритроцитов выполнен на проточном цитофлуориметре CytoFLEX (Beckman Coulter, США), в FL-1 канале.

Статистическая обработка результатов экспериментов проводилась с использованием непараметрических критериев Уилкоксона. Данные представлены как $\bar{x}_{\text{ср}} \pm \text{sd}$.

Результаты. Обработка эритроцитов LiCl в концентрациях 0,1-10 мМ в течение 3 часов при 37°C приводила к снижению интенсивности флуоресценции CM-DCF на 15-20% по сравнению с контрольными клетками. Снижение интенсивности флуоресценции CM-DCF может быть обусловлено несколькими факторами. Во-первых, для того чтобы зонд мог вступить в реакцию с АФК, от 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата ($\text{CM-H}_2\text{DCFDA}$) внутриклеточные эстеразы должны отщепить ацетатные группы, если же активность внутриклеточных эстераз будет снижена, будет ингибирована и продукция $\text{CM-H}_2\text{DCF}$, способного вступать в реакцию с АФК. Во-вторых, в случае повышения проницаемости клеточной мембраны будет происходить выход CM-DCF (флуоресцирующей формы зонда) из клеток в буфер, что проявляется в снижении интенсивности его флуоресценции в эритроцитах.

В связи с этим с помощью флуоресцентного красителя кальцеина была

изучена цитозольная эстеразная активность (маркер жизнеспособности клеток) в Li-модифицированных эритроцитах. Проведенные эксперименты позволили выявить статистически значимое снижение жизнеспособности эритроцитов на 20-25% при воздействии на них LiCl в концентрациях 0,3-10 мМ по сравнению с интактными клетками. Снижение жизнеспособности эритроцитов свидетельствует о ранних стадиях развития эритроптоза, который в дальнейшем может проявиться перераспределением маркерного ФС во внешний монослой плазматической мембраны эритроцита и его экспонированием на поверхности клетки.

Далее для выяснения вопроса о влиянии ионов Li^+ на перераспределение ФС в мембранах эритроцитов были использованы следующие концентрации LiCl: 1 мМ (максимальная терапевтическая) и 10 мМ (токсичная). Обработка эритроцитов доноров LiCl в концентрациях 1 мМ и 10 мМ не приводила к значимому изменению количества аннексин-V-положительных эритроцитов в данных образцах по сравнению с интактными клетками. Так в контрольных образцах число аннексин-V-положительных эритроцитов составляло $3,6 \pm 0,6\%$, а в образцах, обработанных 1 мМ и 10 мМ LiCl, число таких клеток составляло $2,2 \pm 0,8\%$ и $2,4 \pm 0,6\%$, соответственно. Не наблюдалось также достоверных различий по интенсивности флуоресценции FITC-аннексин-V между опытными образцами и контролем. В образцах, обработанных 1 мМ LiCl, происходило уменьшение числа FITC-аннексин-V-окрашенных везикул, тогда как при воздействии 10 мМ LiCl наблюдалось увеличение числа таких везикул по сравнению с контролем. Однако эти различия не носили достоверный характер. Не обнаружено достоверных различий и по интенсивности флуоресценции между FITC-аннексин-V-окрашенными везикулами в опытных и контрольных образцах. Так, число аннексин-V-окрашенных везикул в контрольных образцах составляло $8,2 \pm 1,1\%$, тогда как в образцах, подвергшихся воздействию LiCl в концентрациях 1 мМ и 10 мМ, число таких везикул составляло $6,1 \pm 1,6\%$ и $11,2 \pm 2,8\%$, соответственно.

Некоторое снижение числа аннексин-V-положительных эритроцитов и везикул в образцах, обработанных 1 мМ LiCl, может быть связано как с цитопротекторным действием Li^+ , так и с прямым взаимодействием ионов Li^+ с молекулами фосфолипидов, что может приводить к изменению конформации фосфатидилсерина [6] и, соответственно, к нарушению его сродства к аннексину-V.

Выводы. Показано, что воздействие как токсичных, так и терапевтических концентраций хлорида лития не оказывало значимого влияния на протекание свободнорадикальных процессов в эритроцитах человека и не приводило к запуску эритроптоза, что подтверждается отсутствием значимых изменений по количеству экспонирующих ФС на своей поверхности эритроцитов относительно интактных клеток. Вместе с тем установленное снижение уровня жизнеспособности эритроцитов человека, обработанных хлоридом лития, свидетельствует о снижении эстеразной активности в эритроцитах либо об увеличении проницаемости клеточной мембраны и указывает на потенциальную токсичность ионов лития для эритроцитов человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Miklowitz D.J., Johnson S.L. The psychopathology and treatment of bipolar disorder // Annu. Rev. Clin. Psychol. – 2006. – № 2. – P. 199–235.
2. Song L., Zhou T., Jope R.S. Lithium facilitates apoptotic signaling induced by activation of the Fas death domain-containing receptor // BMC Neurosci. – 2004. – Vol. 5, № 20. – P. 1–7.
3. Lee Y., Kim S.M., Jung E.H. et al. Lithium chloride promotes lipid accumulation through increased reactive oxygen species generation // Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Biol. Lipids. – 2019. – Vol. 1865, № 2. – P. 1–27.
4. Aminzadeh A. et al. Investigating the protective effect of lithium against high glucose-induced neurotoxicity in PC12 cells: involvements of ROS, JNK and P38 MAPKs, and apoptotic mitochondria pathway // Cell. Mol. Neurobiol. – 2014. – Vol. 34, № 8. – P. 1143–1150.
5. Won E., Kim Y.K. An oldie but goodie: lithium in the treatment of bipolar disorder through neuroprotective and neurotrophic mechanisms // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18, № 12. – P. 2679–2696.
6. Jakobsson E. et al. Towards a Unified Understanding of Lithium Action in Basic Biology and its Significance for Applied Biology // J. Membr. Biol. – 2017. – Vol. 250, № 6. – P. 587–604.

РОЛЬ ОЗОНА В МЕХАНИЗМАХ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

Билецкая Е. С., Зинчук В. В., Гуляй И. Э., Володина А. А.

*Гродненский государственный медицинский университет,
г. Гродно, Беларусь*

Актуальность. Озон (O_3) обладает высокой реактогенной способностью при растворении в крови, активирует антиоксидантную и иммунную систему, стимулирует синтез гипоксического индукцибельного фактора [1], оказывая влияние на транспорт кислорода. Газотрансммиттеры представляют собой эндогенно генерируемые газы (монооксид азота, сероводород и монооксид углерода), которые могут свободно проникать через клеточные мембраны, имеют специфические клеточные и молекулярные мишени, выполняют важные физиологические функции [3]. Ранее нами показано участие монооксида азота (NO) и сероводорода (H_2S) в эффекте O_3 на кислородтранспортную функцию крови (КТФ) [1]. Представляется целесообразным проанализировать вклад озона в формирование кислородсвязывающих свойств крови в разных условиях кислородного обеспечения.

Цель – исследовать роль озона в механизмах транспорта кислорода кровью в разных условиях кислородного обеспечения.

Материалы и методы исследования. Для эксперимента использовалась смешанная венозная кровь, взятая из правого предсердия у белых крыс-самцов массой 250-300 г, предварительно содержавшихся в стандартных условиях вивария. Проведены 4 серии экспериментов в условиях дез- и оксигенации и