

Частичное восстановление НАДН связано как с улучшением оксигенации, так и с возможным прямым влиянием КВЧ на митохондриальные ферменты. Полученные данные согласуются с литературными сведениями об анальгетическом и адаптогенном действии КВЧ-терапии.

Выводы. Пунктурная фотобиомодуляция КВЧ-диапазона с параметрами 150,176-150,664 ГГц, 1 мВт, 10 сеансов по 10 минут на точки GV.14 и BL.37 оказывает корригирующее действие при экспериментальной нейропатической боли у крыс. Это проявляется активацией эндотелиальных, нейрогенных и миогенных механизмов регуляции микрокровотока, снижением венозного застоя (уменьшение амплитуды дыхательных колебаний в 2 раза) и повышением показателя шунтирования на 34%. На системном уровне ПФБМ нормализует индекс напряжения регуляторных систем, снижает коэффициент вагосимпатического баланса на 42% и частично восстанавливает уровень НАДН. Полученные результаты обосновывают целесообразность дальнейшего изучения КВЧ-пунктуры как эффективного немедикаментозного метода коррекции микроциркуляторных, вегетативных и метаболических нарушений при болевых синдромах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крупаткин, А. И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность: руководство для врачей / А. И. Крупаткин, В. В. Сидоров. – М.: Книжный дом "ЛИБРОКОМ", 2013. – 496 с.
2. Москвин, С. В. КВЧ-лазерная терапия / С. В. Москвин, А. А. Хадарцев. – Тверь: Издательство «Триада». – 2016. – 168 с.
3. Данилов, А. Б. Нейропатическая боль / А. Б. Данилов // Клиническая геронтология. – 2007. – Т. 13, № 2. – С. 27-36.

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И СТРУКТУРНУЮ ЦЕЛОСТНОСТЬ НОРМАЛЬНЫХ И СОСТАРЕННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

Потапович А. И., Костюк Т. В., Костюк В. А.

*Белорусский государственный университет
Минск, Беларусь*

Введение. В последние годы наблюдается значительный рост научных публикаций, посвященных изучению роли клеточного старения, а также его влиянию на физиологические и патологические состояния организма [1]. Клеточное старение считается одним из ключевых факторов, определяющих риск развития возрастных заболеваний, таких как нейродегенеративные расстройства, сердечно-сосудистые заболевания, а также различные виды онкологических патологий [2]. В патогенезе этих заболеваний особое значение имеют так называемые сенесцентные клетки. Эти клетки возникают вследствие

различных повреждений, при которых клетка не справляется с их устранением, а также в случае, когда она не способна запустить программируемую клеточную смерть – апоптоз [3]. Сенесцентные клетки часто приобретают повышенную резистентность к определённым сигналам или веществам, включая экзосомы, обусловленную изменениями в сигнальных путях, касающихся апоптоза, воспаления и старения, что способствует накоплению таких клеток в тканях. Доказано, что сенесцентные клетки выделяют широкий спектр сигнальных веществ, включая цитокины, хемокины и ферменты, которые могут оказывать воздействие не только на окружающие клетки, вызывая локальный воспалительный ответ, но и способствовать ускоренному старению тканей, развитию хронических воспалительных процессов, что в свою очередь способствует прогрессированию различных возрастных заболеваний. Образование сенесцентных клеток может происходить под воздействием разнообразных стресс-факторов, начиная от физических, химических и биологических факторов, вызывающих нарушения в молекулярных и клеточных механизмах, и заканчивая пролиферативной истощенностью, когда клетки перестают делиться из-за длительной пролиферации. В рамках данной работы была исследована устойчивость нормальных и экспериментально состаренных фибробластов к воздействию окислительного стресса – одного из ключевых патогенетических факторов.

Цель. Количественно оценить влияние окислительного стресса на состояние ядерной ДНК, жизнеспособность и структурную целостность нормальных и состаренных фибробластов.

Методы исследования. В работе использовали фибробласты из кожи живота человека 3-4 пассажа (нормальные) и состаренные клетки (сенесцентные) 49-50 пассажа. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью реагента PrestoBlue™. Структурную целостность по выходу фермента лактатдегидрогеназа (ЛДГ), повреждение ДНК оценивали с помощью кометного анализа.

Результаты и их обсуждение. Трет-бутилгидропероксид (tBHP) широко используется в научных исследованиях благодаря своей способности генерировать активные формы кислорода внутри клеток, вызывая тем самым развитие окислительного стресса, одним из последствий которого является повреждение ядерной ДНК. Флуоресцентные микрофотографии, иллюстрирующие электрофоретическое поведение ядерной ДНК из клеток, подвергнутых воздействию tBHP, показывают типичные структуры ДНК-комет, характеризующиеся отчетливой головкой (интактная ДНК) и хвостом (поврежденная ДНК). Количественная оценка распределения ДНК в кометах свидетельствует о дозозависимом повреждении ДНК фибробластов уже через 1 ч после воздействия tBHP, при этом различий в электрофоретическом поведении ядерной ДНК нормальных и состаренных клеток не выявлено (таблица 1).

Влияние окислительного стресса на жизнеспособность фибробластов оценивали с помощью реагента PrestoBlue™, позволяющего определять

количество метаболически активных клеток по способности восстанавливать флуоресцентный индикатор состояния клеток – резазурин до резорфуина. Установлено, что tBHP в концентрации 0,25 мМ оказывает цитотоксическое действие и достоверно снижает количество жизнеспособных фибробластов через 24 ч, при этом воздействие на нормальные клетки было более выражено, чем на состаренные. При увеличении дозы tBHP до 0,5 мМ погибали практически все нормальные фибробласты, тогда как количество жизнеспособных состаренных клеток превышало 40% (таблица 1).

Влияние окислительного стресса на степень повреждения клеточных мембран фибробластов оценивали по выходу из клеток в культуральную среду цитоплазматического фермента ЛДГ.

Таблица 1 – Влияние tBHP на состояние ядерной ДНК, жизнеспособность и структурную целостность нормальных и экспериментально состаренных фибробластов

Характеристика фибробластов	Условия эксперимента		
	контроль	tBHP 0,25 мМ	tBHP 0,5 мМ
% ДНК в хвосте комет, через 1 ч после воздействия			
Нормальные	3,7±6,2	38,2±25,0 ^{**}	60,9±14,8 ^{**}
Состаренные	3,1±5,6	36,8±23,5 ^{**}	60,0±15,0 ^{**}
Количество жизнеспособных клеток через 24 ч, в%			
Нормальные	100±6,5	74,8±6,8 [*]	1,6±2,6
Состаренные	100±6,9	82,3±7,5 ^{*π}	43,6±10,2 ^{**ππ}
Выход ЛДГ из клеток через 24 ч (% к общему содержанию)			
Нормальные	1,4±2,2	8,9±2,3 [*]	66,5±7,5 ^{**}
Состаренные	2,1±2,3	2,8±1,9	12,7±3,5 ^{*π}

Примечание: * - $p<0,01$; ** – $p<0,0001$; *** vs контроль; π – $p<0,05$; ππ – $p<0,001$ vs нормальные фибробласты

Установлено, что tBHP в концентрации 0,25 мМ вызывает небольшое, но достоверное повреждение клеточных мембран нормальных фибробластов, но не влияет на целостность состаренных клеток. При увеличении дозы tBHP до 0,5 мМ почти 70% ЛДГ нормальных фибробластов определяется в культуральной среде, тогда как в случае состаренных клеток выход ЛДГ составляет только 13% (таблица 1).

Выводы. В данном исследовании показано, что нормальные и состаренные фибробласты по-разному реагируют на окислительный стресс, вызываемый tBHP. В частности, состаренные фибробласты сохраняли структурную целостность и имели достаточно высокую жизнеспособность даже при условиях, вызывавших гибель нормальных клеток. При этом не было выявлено различий в генотоксичности tBHP для нормальных и состаренных фибробластов. Учитывая, что повреждение ДНК, обнаруженное уже через 1 ч после воздействия tBHP, является механизмом, запускающим процессы клеточной гибели, можно предположить, что различия в ответах нормальных и состаренных фибробластов на окислительный стресс связаны с особенностями реализации апоптоза в этих клетках, вследствие которых состаренные фибробласты оказываются более устойчивыми к клеточной гибели.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wiley, C. D. The metabolic roots of senescence: Mechanisms and opportunities for intervention / C. D. Wiley, J. Campisi // Nat. Metab. – 2021. – Vol. 3. – P. 1290-1301.
2. Finicelli, M. Cellular Senescence in Physiological and Pathological Processes / M. Finicelli, G. Peluso, T. Squillaro // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 1-3.
3. Modeling of the Senescence-Associated Phenotype in Human Skin Fibroblasts / M. Gerasymchuk, G. I. Robinson, O. Kovalchuk, I. Kovalchuk // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 1-30.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В РАЗРАБОТКЕ НАНОБИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ЖЕЛАТИНА

Потапович А. И.¹, Костюк Т. В.¹, Шутова Т. Г.², Костюк В. А.¹

¹Белорусский государственный университет

²Институт химии новых материалов НАН Беларуси
Минск, Беларусь

Введение. Окислительный стресс играет центральную роль в патогенезе многочисленных заболеваний, вызывая повреждение клеточных мембран, белков и ДНК. Он участвует в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз и гипертония, нейродегенеративных расстройств, включая болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона. Усиливая воспалительные процессы, окислительный стресс усугубляет прогрессирование хронических заболеваний [1]. Перспективные терапевтические стратегии при этих состояниях включают использование антиоксидантов. Растения являются основным источником природных антиоксидантов благодаря высокому содержанию флавоноидов и других полифенолов. Хорошо известно антиоксидантное и противовоспалительное действие полифенолов зеленого чая, кверцетина и ресвератрола. Однако, несмотря на их биологический потенциал, клиническое применение полифенолов ограничено прежде всего их плохой растворимостью в воде, что приводит к низкой биодоступности при пероральном приеме. Для преодоления этих ограничений полифенольные молекулы могут быть включены в нанобиологические системы доставки, такие как липосомы или полимерные наночастицы – платформы, которые эффективно повышают биодоступность и стабильность биоактивных соединений. Среди различных биосовместимых наноносителей биоразлагаемые желатиновые наночастицы особенно перспективны для повышения клеточного поглощения и стабильности кверцетина.

Цель. Оценка перспективности наноструктур на основе желатина, как непокрытых, так и покрытых декстрансульфатом (DS) и сополимером хитозан-декстран (CH-DEX), как средств повышения биодоступности кверцетина.