

митохондрий в локализации и нейтрализации источника свободных радикалов.

Выводы. Препарат для фотодинамической терапии Фотолон распределяется в культуре клеток НЕК293Т неравномерно – он связан с цитоплазматическими мембранными структурами, но не проникает в клеточное ядро. В процессе фотодинамического эффекта локализация препарата в клетках изменяется. При этом он накапливается преимущественно вокруг клеточного ядра, формируя одно или два округлых скопления. Характер перераспределения препарата Фотолон в клетках НЕК293Т по мере развития фотодинамического эффекта позволяет предположить, что в реакции на окислительный стресс принимают участие митохондрии.

Литература

1. Трухачева, Т. В. Фотолон – новое средство для фотодинамической терапии / Т.В. Трухачева [и др.]. – Минск: РУП «Белмедпрепараты», 2009. – 156 с.
2. Внутриклеточные мишени фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором Фотолон / С.В. Глушен [и др.] // Труды БГУ. – 2010. – Т. 5. – Часть 2. – С. 255-267
3. Mitochondrial metabolism contributes to oxidative stress and reveals therapeutic targets in chronic lymphocytic leukemia / Regina Jitschin [et al.] // Blood. – 2014. – vol. 123. – P. 2663-2672

ИЗМЕНЕНИЯ РЕЛЬЕФА ПОВЕРХНОСТИ И МИКРОВЯЗКОСТИ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ ПЛАЗМОЛЕММЫ ЭРИТРОЦИТОВ ИНТАКТНЫХ И ВАГОТОМИРОВАННЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ

Дубовая Т.К., Цибулевский А.Ю., Максина А.Г.

Российский национальный исследовательский медицинский
университе, Москва, Россия (gusvbr@mail.ru)

Введение. Одним из широко распространенных патологических состояний является кровопотеря, сопряженная с нарушением целостности нервных проводников [1,2]. Несмотря на многолетнюю историю исследования данной патологии, некоторые ее аспекты остаются малоизученными. В частности, требует дальнейшего изучения состояние эритроцитов (Эр) — форменных элементов кроки, от состояния которых существенным образом зависит

развитие и исход постгеморрагического синдрома в этих условиях. В наших предыдущих работах на модели острой массивной кровопотери у крыс, перенесших перерезку блуждающих нервов, было показано изменение ряда морфологических характеристик эритроцитов Эр (размер, диаметр, поляризация, фактор формы, анизоцитоз и др.) [8].

Цель. В настоящем исследовании мы сосредоточили внимание на изучении рельефа поверхности плазмолеммы Эр и микровязкости ее липидного бислоя — характеристик, во многом определяющих, с одной стороны, структурную пластичность Эр, с другой — способность связывать и транспортировать на своей поверхности различные субстраты.

Методы исследования. Эксперименты проводили на 75 беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Исследовали 4 группы животных: 1-ая — интактные; 2-ая — животные через 14 сут после двусторонней поддиафрагмальной стволовой ваготомии; 3-я и 4-я соответственно интактные и денервированные крысы, перенесшие кровопотерю. Кровопускание производили из яремной вены в размере 35 – 37% от общего объема крови. Материал для исследования брали через 0,25; 0,5; 3; 10; 24; 96 и 240 (10 сут) ч после кровопотери. С помощью метода спинового зонда исследовали микровязкость липидного бислоя и рельеф поверхности эритроцитарной мембраны (через 24 часов после кровопотери). Для этого суспензию эритроцитов инкубировали с одним из трех зондов: спинмечеными аналогами стеариновой кислоты с нитроксильным фрагментом у пятого (зонд 1) или четырнадцатого (зонд 2) углеродного атома ацильной цепи и спинмеченым бензокарболином (зонд 3). Существенно, что зонды 1 и 2 встраиваются в липидный бислой таким образом, что карбоксильная группа находится на его поверхности, а жирнокислотная цепь погружена в бислой параллельно ацильным цепям фосфолипидов. При этом радикальные фрагменты зондов располагаются на разной глубине (0,6 – 0,8 нм и 2,0 – 2,2 нм соответственно). Зонд 3 локализуется в области периферических белков плазмолеммы. По кинетике восстановления его сигнала феррицианидом калия судили о рельефе поверхности эритроцитов. Показателем скорости тушения зонда является тангенс угла наклона кинетической прямой по отношению к горизонтальной оси ($\text{tg } \alpha$). Чем больше $\text{tg } \alpha$, тем быстрее происходит тушение сигнала (тем доступнее зонд) и, следовательно, более рыхлым является

гликокаликс плазматической мембраны эритроцита. Для характеристики поведения спиновых зондов в мембране использовали параметр упорядоченности, рассчитываемый по спектрам электронного магнитного резонанса и характеризующий подвижность ацильных цепей в области локализации нитроксильного фрагмента зонда. При этом параметр S1 характеризует упорядоченность мембраны на глубине 0,6 – 0,8 нм от поверхности, параметр S2 — на глубине 2,0 – 2,2 нм. Полученные данные подвергали статистической обработке по методу Фишера-Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Анализ кинетики восстановления сигнала зонда 3 показал, что массивная кровопотеря у исходно интактных крыс сопровождается выраженными преобразованиями рельефа поверхности Эр. В этих условиях также выявлено уменьшение параметра упорядоченности для зондов 1 и 2, что указывает на снижение микровязкости липидной фазы по всему профилю мембраны Эр. Перерезка блуждающих нервов не приводит к существенным изменениям рельефа поверхности эритроцитарной мембраны и

микровязкости ее липидного бислоя. Достоверных отличий в изменениях физико-химических характеристик эритроцитов в условиях острой кровопотери у ваготомированных крыс по сравнению с исходно интактными не обнаружено. Можно лишь отметить несколько меньшую степень изменений профиля поверхности плазмолеммы Эр у крыс, подвергнутых ваготомии. Обобщая полученные данные, можно констатировать, что массивная острая кровопотеря у крыс приводит к существенным изменениям структурных (рельеф поверхности) и физико-химических (микровязкость липидной матрицы) характеристик Эр как у исходно интактных, так и у ваготомированных животных. Эти факты согласуются с результатами наших морфологических исследований, в которых было продемонстрировано искажение формы Эр в тех же экспериментальных условиях [8]. Уменьшение микровязкости липидной фазы плазмолеммы Эр при кровопотере предположительно может быть связано с активацией свободнорадикального окисления липидов мембраны Эр [4] и изменением ее липидного состава в сторону увеличения доли кислых фосфолипидов и холестерина [3]. Весьма вероятно, что определенную роль в данном процессе играют липопротеиды плазмы, поскольку одним из результатов их взаимодействия с эритроцитарной мембраной является изменение

содержания холестерина и триацилглицеринов в ее липидной фазе [3]. Заметный вклад в изменение химического состава и физико-химических свойств мембраны Эр могут вносить продукты перекисного окисления липидов, биогенные амины и другие физиологически активные вещества, содержание которых в крови существенно повышается при кровопотере [6,10]. Считается, что сдвиги в химическом составе липидного бислоя плазмолеммы Эр и связанные с ними изменения вязкоэластических свойств этих форменных элементов можно рассматривать как неспецифическую приспособительную реакцию организма к гипоксии. Основанием для такого предположения является то обстоятельство, что повышение содержания кислых фосфолипидов в мембране улучшает ее проницаемость для респираторных газов, а нарастание концентрации холестерина ведет к увеличению суммарной площади поверхности Эр, что в итоге повышает эффективность их газо-транспортной функции [5,9]. Также важным элементом ответной реакции системы крови на кровопотерю является увеличение содержания гемоглобина в эритроцитах, о чем свидетельствует повышение удельной оптической плотности эритроцитов [7].

Выводы. Острая массивная кровопотеря приводит к существенным изменениям морфологических и физико-химических характеристик эритроцитов как у исходно интактных, так и у ваготомированных крыс. Полученные результаты углубляют представление о механизмах повреждения эритроцитов при различных экстремальных ситуациях, в частности, при кровопотере.

Литература

1. Агаджанян В.В., Пронских А.А., Устьянцева И.М. Политравма. - Новосибирск: Наука. - 2003. - 492 с.
2. Елисеева И.И., Васильева Э.К., Клупт М.А. и др. Демография и статистика населения. М, Финансы и статистика, 2006. 688 с.
3. Каплан О.В. Липиды эритроцитов и газотранспортная функция крови при острой кровопотере // Вопр. мед. химии, 1995, №2, С.23-25.
4. Лазарева Г.А., Паскова И.П. Изменения химического состава и физико-химических свойств эритроцитов после кровопотери // в кн.: Человек и его здоровье. Курск.- 1999.- Т.2.- С.67-69.
5. Марьинских В.В. Исследование вязкоэластических свойств мембран эритроцитов беспородных белых крыс с различным уровнем двигательной активности в ответ на стрессы различной этиологии и оценка деформируемости эритроцитов людей с гипертензией. Дис. канд. мед. наук, Тюмень, 2007.

6. Матвеев С.Б., Пахомова Г.В., Кифус Ф.В., Голиков П.П. Окислительный стресс при открытой абдоминальной травме с массивной кровопотерей // Клинич. лаб. диагностика, 2005, №1, С.14-16.
7. Цибулевский А.Ю., Дубовая Т.К., Соколинский Б.З., Медовый В.С., Пятницкий А.М. Состояние эритроцитов интактных и ваготомированных крыс различного возраста после массивной кровопотери // Российский физиологический журнал.- 2009.- №2.- С.129-136.
8. Цибулевский А.Ю., Древаль А.А., Князева Л.А., Чжан Юань. Особенности ответной реакции эритроцитов крыс различного возраста на острую кровопотерю // Морфология.- 2010. - №4. – С.208.
9. Revin VV, Gromova NV, Revina ES. et al. Role of Membrane Lipids in the Regulation of Erythrocytic Oxygen-Transport Function in Cardiovascular Diseases // Biomed Res Int. 2016;2016:3429604. Epub 2016 Oct 30.
10. Ribon A, Pialoux V, Saugy J. et al. Exposure to hypobaric hypoxia results in higher oxidative stress compared to normobaric hypoxia // Respir Physiol Neurobiol. 2016 Mar;223:23-7. doi: 10.1016/j.resp.2015.12.008.

ЭКСПРЕССИЯ КАЛЬБИНДИНА ВО ФРОНТАЛЬНОЙ И ТЕМЕННОЙ КОРЕ МОЗГА КРЫС ПРИ ХОЛЕСТАЗЕ

Емельянчик С.В.,¹ Зиматкин С.М.²

¹ - Гродненский государственный университет имени Янки Купалы

² - Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

Введение. Застой желчи в желчевыводящих путях, нарушение её отток из печени в 12-перстную кишку (холестаз) в результате различной патологии гепатобилиарной системы распространён в современном обществе. Такое состояние приводит к значительным нарушениям структуры и функций головного мозга [1].

Изучение систем обмена кальция в клетке является актуальным и перспективным направлением, поскольку установление процессов регуляции жизнедеятельности позволяет вносить коррекции посредством фармакологических средств. Для исследования системы внутриклеточного гомеостаза кальция выявляют белок с кальциевым буфером – кальбиндин-, и кальций-АТФазу плазматической мембраны (PMCA1) [5].

Экспрессия белка кальбиндина в нейронах коры головного мозга у крыс при холестазе не изучена.

Цель исследования – иммуногистохимическими методами установить содержание белка кальбиндина в нейронах фронтальной и