

на 33% повысилась активность ГПО; на исходном уровне осталась активность GST. Предварительное введение животным флаволигнанов расторопши в составе самоэмульгирующейся композиции предотвратило изменение активности изучаемых ферментов, их уровень статистически не отличался от контрольных значений. Действие флаволигнанов расторопши пятнистой в виде крахмальной суспензии характеризовалось меньшей эффективностью: из изучаемых показателей лишь активность GST соответствовала таковой в контрольной группе. Мы полагаем, что нормализующее действие флаволигнанов расторопши в определенной степени может быть опосредовано действием силимарина на активность ферментов, генерирующих НАДФН, необходимого для функционирования ГР/ГП системы. Так, в случае введения экспериментальным животным флаволигнанов расторопши в составе самоэмульгирующейся композиции активность Г6ФДГ была на уровне контроля и на 49% превышала ее значения в группе, получавшей только CCl<sub>4</sub>. Более выраженный эффект флаволигнанов расторопши в составе самоэмульгирующейся композиции по сравнению с их применением в виде крахмальной суспензии, вероятно, связан с их большей биодоступностью.

#### Литература

1. Оковитый С.В., Безбородкина Н.Н., Улейчик С.Г., Шуленин С.Н. Гепатопротекторы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 112 с.
2. Basaga H. Poll G., Tekkaya C., Aras I. Free radical scavenging and antioxidative properties of «silibin» complexes on microsomal lipid peroxidation // Cell. Biochem. Funct. – 1997. – Vol. 15. – P. 27-33.

### ЭКСПРЕССИЯ ШАПЕРОНОВ GRP 78 И GRP94 В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ *IN VITRO* И ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В СРЕДЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Сухан Т. О., Костюк В. А., Потапович А. И., Сандаков Д. Б.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*tanyasuhan@mail.ru*

Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) является местом синтеза и модификации белков. Процессы фолдинга белков находятся под контролем шаперонов (Ni and Lee, 2007). Изменения конформации белков – это основная причина нарушения клеточного гомеостаза (Schroder and Kaufman, 2005). Если ЭПР подвергается воздействию стрессовых факторов (гипоксии, изменению уровня глюкозы, кальция и другие), срабатывает адаптивный механизм, получивший название – реакция несвернутых белков (РНБ), работа которого направлена на поддержание клеточного гомеостаза. Основными регуляторами РНБ являются шапероны. Наиболее изучены в настоящее время белки

grp (glucose regulated proteins), которые регулируют фолдинг и деградацию белков. Последние исследования показали, что эти белки могут перемещаться на поверхность клетки, где принимают участие в трансдукции сигнала, регуляции пролиферации, апоптоза и иммунного ответа клетки.

**Цель** исследования – изучить *in vitro* уровень экспрессии белков теплового шока grp78 и grp94 в эндотелиальных клетках микроциркуляторного русла плаценты человека в условиях гипоксии и повышенного уровня глюкозы в среде культивирования.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на эндотелиальных клетках плаценты человека. Культивирование проводили в среде, приготовленной на основе базовой среды для эндотелиальных клеток (Promo Cell, Германия) с добавлением 15 % телячьей сыворотки, 100 МЕ/мл пенициллина 100 мкг/мл стрептомицина, 3нг/мл bFGF, 0.02 % Na-Нер. Клетки контроля растили в 6-луночных планшетах в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в стандартных условиях (37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% воздух). В условиях гипоксии клетки растили в условиях пониженного содержания кислорода (37°C, 5% CO<sub>2</sub>, ≤1% O<sub>2</sub>), для моделирования гипергликемии в среду культивирования добавляли глюкозу до конечной концентрации 15 ммоль/л.

Лизис клеток выполняли с использованием RIPA-буфера с добавлением ингибиторов протеаз. Концентрацию белков определяли с помощью коммерческого набора Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific) согласно инструкции.

Белки разделяли при помощи электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия по Лэмбли. Перенос белков с геля на мембрану, изготовленную из нитроцеллюлозы, осуществляли с помощью электроблоттинга. Неспецифические связывания блокировали добавлением раствора бычьего сывороточного альбумина. В работе использовали первичные поликлональные кроличьи антитела к белкам grp78, grp94, ERK1/2 и вторичные анти-кроличьи антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (Santa Cruize, Германия).

Результаты иммуноблоттинга обрабатывали с использованием программы «ImageJ». Экспрессию изучаемого белка (целевого) нормировали по экспрессии контрольных белков (ERK1/2).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного комплекса Microsoft XP. Результаты представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего. Чтобы выявить достоверность различий между экспериментальной и контрольной группами, использовали Т-тест Стюдента. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Через 24 ч культивирования показано снижение уровня экспрессии grp78 (по сравнению с контролем) как в клетках, которые росли в условиях гипоксии, так и в клетках, которые культивировали в среде с повышенным содержанием глюкозы. В условиях гипоксии наблюдали увеличение экспрессии grp78 через 48 ч в 3 раза ( $p \leq 0,05$ ), а через 72 ч в 5 раз ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с соответствующим контролем (48 ч и 72 ч).

В условиях повышенного содержания глюкозы в среде культивирования повышение экспрессии шаперона grp78 обнаружили через 72 ч ( $p \leq 0,05$ ).

Снижение экспрессии шаперона grp94 в 1,7 раз ( $p \leq 0,05$ ) выявлено через 24 ч культивирования клеток в условиях повышенного содержания глюкозы, а в условиях гипоксии через 48 ч культивирования наблюдали увеличение экспрессии в 9 раз ( $p \leq 0,05$ ).

Все больше появляется данных о том, что плацента участвует в фетальном программировании (Myatt L, 2006). Адекватное развитие плаценты и ее адаптивные возможности определяют нормальное развитие плода. Известно, что белки семейства Hsp70, к которому принадлежат шапероны grp78 и grp94, являются высоко консервативными, их основная функция у разных организмов – адаптация клетки к условиям стресса за счет восстановления нарушенной структуры белков. Накопление белков с нарушенной структурой запускает реакцию несвернутых белков, основными сенсорами которого являются IRE1 (inositol requiring protein-1), PERK (protein kinase RNA-like ER kinase) и ATF6 (activating transcription factor-6). В результате запускаются несколько механизмов, способствующих снижению стрессовой нагрузки на клетку: 1) ингибирование трансляции, что снижает уровень белков в эндоплазматическом ретикулуме, 2) активация белков-шаперонов, которые способствуют восстановлению белковой структуры.

**Выводы.** В условиях гипоксии эндотелиальные клетки плаценты реагируют увеличением экспрессии шаперонов grp78 (через 48 ч и 72 ч) и grp94 (через 48 ч) по сравнению с клетками контроля. В условиях повышенного содержания глюкозы в среде культивирования (15 ммоль/л) уровень экспрессии grp78 по сравнению с контролем (через 24 ч) снизился, а через 72 ч вырос. Экспрессия grp94 была ниже контроля через 24 часа.

## КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ СПОНТАННОГО ПНЕВМОТОРАКСА

Сушко А. А., Иоскевич Н. Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь  
*alexsushko@tut.by*

Значимая проблема в торакальной хирургии – совершенствование методов лечения спонтанного пневмоторакса [2]. В последнее время возможности диагностики и лечения пневмоторакса существенно улучшились благодаря использованию видеоторакокопии [2]. Однако при выборе варианта операции при спонтанном пневмотораксе необходимо учитывать закономерности течения дистрофических и адаптационно-восстановительных процессов в коллабированном и расправленном лёгком.