

ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

Выходит шесть номеров в год

Журнал основан в июле 1957 года

МИНСК, БЕЛОРУССКАЯ НАУКА, 2010, ТОМ 54, № 5

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Редакционная коллегия:

М. В. Мясникович (главный редактор),
С. А. Чижик (заместитель главного редактора),
С. В. Абламейко, И. М. Богдевич, Н. А. Борисевич, Г. А. Василевич, П. А. Витязь,
И. Д. Волотовский, И. В. Гайшун, В. Г. Гусаков, С. А. Жданок, Н. А. Изобов,
А. Ф. Ильющенко, Н. С. Казак, А. А. Коваленя, Ф. Ф. Комаров,
И. В. Котляров, Н. П. Крутько, В. А. Лабунов, Ф. А. Лахвич, О. Н. Левко,
А. И. Лесникович, В. Ф. Логинов, А. А. Махнач, А. А. Михалевич, А. Г. Мрочек,
П. Г. Никитенко, Ю. М. Плескачевский, В. И. Семенов, А. Ф. Смянович,
Л. М. Томильчик, В. М. Федосюк, Л. В. Хотылева, И. П. Шейко

Адрес редакции:

220072, Минск, ул. Академическая, 1, к. 119,

тел. 284-19-19

<http://nasb.gov.by/rus/publications/dan/>

E-mail: belnauka@infonet.by

СОДЕРЖАНИЕ

МАТЕМАТИКА

Кондратюк А. П., Матус П. П. Глобальная устойчивость и разрушение разностных схем для параболических уравнений с нелинейным источником	5
Милованов М. В. О группах преобразований компактных солвмнообразий и проблеме Ауслендера	11
Костюкова О. И., Курдина М. А. Условия оптимальности для задач оптимального управления с кусочно-линейной разрывной правой частью	15
Бересневич В. В., Берник В. И., Гетце Ф. О распределении значений результатов целочисленных полиномов	21
Савчук В. Ф., Матыськ О. В. Итерационный метод явного типа решения операторных уравнений в гильбертовом пространстве	24
Ходос С. П., Ломовцев Ф. Е. О гладкости слабых решений гиперболического дифференциально-операторного уравнения типа Эйлера–Пуассона–Дарбу с переменными областями определения	30

ФИЗИКА

Карпенко В. А., Могилевич В. Н. О дифракции ТЕ-мод на открытом торце неоднородного планарного диэлектрического волновода	36
Толкачев Е. А. Бикватернионы, собственные векторы и группа стабильности матриц Джонса	40
Поздняков Д. В., Комаров А. Ф., Комаров Ф. Ф. Модель расчета энергетического спектра ИК фото-приемников на основе сверхрешеток GaAs/Al _x Ga _{1-x} As	46

ХИМИЯ

Торгашов В. И., Герт Е. В., Зубец О. В., Капуцкий Ф. Н. О механизме связывания радионуклидов растительной тканью однолетних культур	51
Василевская А. В., Сергеев Г. В., Гилеп А. А., Усанов С. А. Структурный анализ цитохромов P450 микобактерий комплекса <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	55
Ничик М. Н., Войтехович С. В., Лесникович А. И., Ивашкевич О. А. 5-Меркаптотетразолы в качестве стабилизаторов наночастиц серебра в двухфазном синтезе	60

БИОЛОГИЯ

Жавнерко Г. К., Осипович В. С., Агабеков В. Е., Яшин К. Д., Каратай Н. В., Матвеев В. Д. Влияние модифицированных CdSe/ZnS наночастиц на мезенхимальные стволовые клетки	65
Бажанов Д. П., Яцевич К. К. Филогенетическая идентификация флуоресцирующих псевдомонад из фонда Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов	70
Урбанович О. Ю., Козловская З. А., Картель Н. А. Технология молекулярных маркеров в селекции яблони на устойчивость к мучнистой росе, определяемую геном <i>P11</i>	75

МЕДИЦИНА

Мастыкин А. С., Евстигнеев В. В., Головкин В. А., Апанель Е. Н., Войцехович Г. Ю. Нейросетевой подход в решении проблемы диагностики и профилактики транзиторных ишемических атак	81
Балашевич Т. В., Никандров В. Н., Лукашевич В. С. Обнаружение глицин-связывающих сайтов на клеточных мембранах глиоцитов	91

НАУКИ О ЗЕМЛЕ

Гарецкий Р. Г., Каратаев Г. И. Тектоническое районирование фундамента северо-востока Беларуси	95
Астапенко В. Н. Зоны повышенной электропроводности верхней мантии Восточно-Европейской платформы	100

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

Абраменко Т. Н., Анисович А. Г. Тепловые процессы в ферромагнетиках при их намагничивании	105
Витязь П. А., Жорник В. И., Выблый Ю. П., Кукаречко В. А. Физические аспекты модифицирующего действия наноразмерной дисперсной фазы в электрохимическом осаждении хромалмазных покрытий	109
Астапчик С. А., Малютин В. Б., Устинович Д. Ф. Моделирование процесса формирования микрогеометрии поверхности при абразивной обработке дискретным эластичным инструментом	120

Редактор Т. П. Петрович
Компьютерная верстка Н. И. Кашуба

Сдано в набор 11.10.2010. Выпуск в свет 27.10.2010. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная. Усл. печ. л. 14,88.
Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 218 экз. Заказ 428.

Цена номера: индивидуальная подписка – 17780 руб.; ведомственная подписка – 44110 руб.

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука». ЛИ № 02330/0494405 от 27.03.2009.
Ул. Ф. Скорины, 40, Минск, 220141. Свидетельство о регистрации № 387 от 18.05.2009.

Отпечатано в РУП «Издательский дом «Беларуская навука».

© «Издательский дом «Беларуская навука»
Доклады НАН Беларуси, 2010

УДК 57.083.34:577.112.382.2:576.314.6:57.085.23:612.8

Т. В. БАЛАШЕВИЧ, В. Н. НИКАНДРОВ, В. С. ЛУКАШЕВИЧ

ОБНАРУЖЕНИЕ ГЛИЦИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ САЙТОВ НА КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАНАХ ГЛИОЦИТОВ

(Представлено академиком В. С. Улащиком)

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск

Поступило 13.09.2010

Введение. Простейшая аминокислота глицин является важным компонентом в биосинтезе белков и целого ряда соединений, крайне необходимых для нормального функционирования разнообразных клеток. В нервной ткани потребление глицина относительно велико, причем весьма значительная доля его синтезируется в клетках *de novo* [1]. Кроме чисто метаболической роли в нервной системе глицин является тормозным медиатором, наибольшая плотность сайтов связывания – рецепторов глицина обнаружена в ядрах продолговатого мозга, моста, среднего мозга, сером веществе спинного мозга. В спинном мозге представлены высокоаффинная ($K_m < 5 \cdot 10^{-5}$ М) и низкоаффинная ($K_m > 10^{-4}$ М) системы захвата глицина, в то время как в неокортексе – лишь низкоаффинная [1].

Из превалярования в мозге собственного синтеза глицина и его нейромедиаторной роли логично полагать, что глицин-специфические рецепторы сосредоточены именно на определенных типах нейронов.

Вместе с тем проведенные нами исследования на клетках глиомы С6 показали, что в концентрации 10^{-4} М глицин вызывал значительные изменения уровня внутриклеточного протеолиза, лактатдегидрогеназной активности, принципиально изменял характер эффекта плазминогена на клетки, также стимулировал их пролиферацию [2–4]. Эти моменты дали основание предположить, что клетки глиии могут иметь на клеточной мембране рецепторы глицина.

Цель работы – выявить методом иммуногистохимии наличие глицин-связывающих сайтов на клеточной мембране глиоцитов.

Материалы и методы исследования. Все эксперименты выполнены трехкратно. В работе использовали питательную среду DMEM (Sigma, США), бычий сывороточный альбумин (Sigma, США), Тритон X-100 (Sigma, США), эмбриональную телячью сыворотку крови (Sigma, США), фосфатный буфер (Sigma, США), первичные кроличьи моноклональные антитела к рецептору глицина (R и D systems, США), флуоресцирующие антитела осли (R и D systems, США), остальные реагенты были производства отечественного или стран СНГ.

Культура крысиной глиомы С6 получена из Российской коллекции клеточных культур позвоночных (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Культивировали клетки глиомы как подробно описано в предыдущей статье [2] в присутствии 10 %-ной сыворотки крови телят.

Органотипические культуры спинного мозга новорожденных крысят приготовлены по стандартной методике [5]. Диспергированные клетки высевали в чашки Петри (диаметр 35 мм) со специальным покрытием, культивировали в среде DMEM, содержащей 15 % эмбриональной телячьей сыворотки, в CO_2 -инкубаторе при 37 °С. Плотность посева 25 тыс. клеток/см² в 2 мл питательной среды. Каждые трое суток питательную среду заменяли свежей. К 14-м суткам количество клеток возрастало в 4–6 раз, большинство клеток дифференцировалось в астроциты, олигодендроциты и нейроны.

Клетки описанных культур отмывали от питательной среды, фиксировали 4 %-ным раствором формальдегида на 0,1 М фосфатном буфере pH 7,4 (не содержащем ионов Ca^{2+} и Mg^{2+}) 24–48 ч при комнатной температуре, промывали стерильным буферным раствором и обрабатывали фос-

фатным буфером, содержащим 0,5 % Тритона X-100 и 1 % бычьего сывороточного альбумина. Через 1 ч клетки отмывали фосфатным буфером и инкубировали при 4–9 °С с первичными моноклональными антителами кролика, специфичными для глицин-рецептора крысы (распознает $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -субъединицы рецептора), в разведении 1 : 1000 в течение ночи. Затем клетки промывали в течение 5 мин фосфатным буфером, добавляли вторичные антитела осла, конъюгированные с флуорохромом NL493, в разведении 1 : 100 и выдерживали при 4–9 °С в темноте на протяжении 1 ч. Затем образцы клеток шестикратно отмывали фосфатным буфером и оценивали интенсивность люминесценции при длине волны 514 нм на люминесцентном микроскопе MPV2 (Leitz, Германия) при увеличении объектива 16. Аналоговое изображение переводили в цифровое при помощи цифровой камеры DC 300 (Leica, Швейцария).

В качестве негативного контроля использовали соответствующие образцы клеток, подвергнутых аналогичной обработке без использования первичных антител. Это позволяло исключить неспецифическое связывание вторичных антител с присутствующими в культурах клеток неспецифическими иммуноглобулинами.

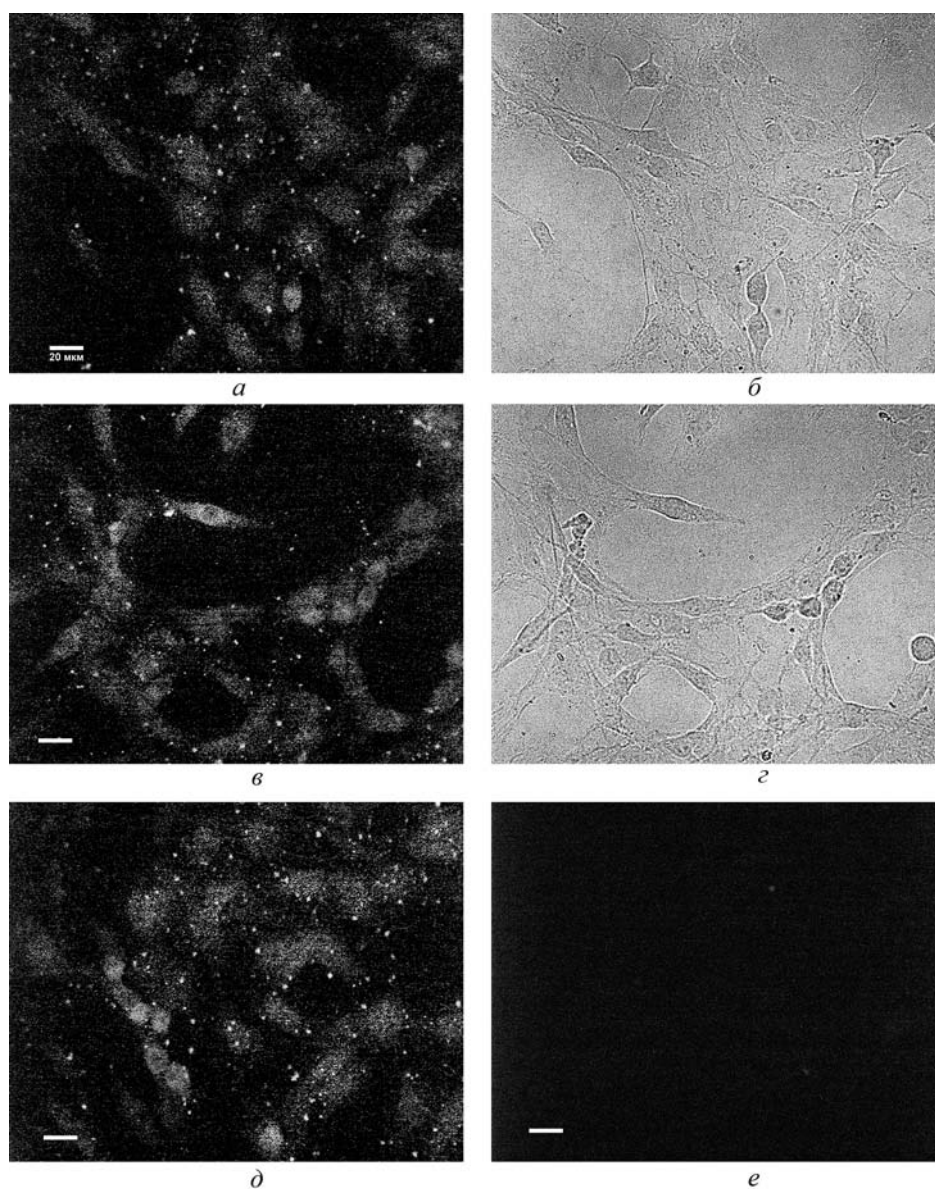


Рис. 1. Иммунореактивность глицин-специфических рецепторов в крысиной культуре глиомы С6: *a, в, д* – диффузная иммунофлуоресценция глицин-специфических рецепторов на мембранах клеток глиомы С6 в опытных образцах; *б, г* – опытные образцы монослойной культуры в проходящем свете; *е* – негативный контроль ($\times 16$). Длина линейки 20 мкм

Результаты и их обсуждение. Как показали иммуногистохимические исследования, в контроле (без обработки моноклональными специфическими для рецепторов глицина антителами) какая-либо люминесценция отсутствовала (рис. 1, 2).

Вместе с тем в опытных образцах клеток глиомы С6 наблюдали интенсивную люминесценцию (рис. 1), свидетельствующую об экспрессии на поверхности клеток рецепторов глицина. Следует отметить, что культура глиомы С6 способна к неограниченной пролиферации при сохранении ряда специфических признаков, свойственных клеткам нормальной нервной ткани [6]. Считают, что отдельные типы клеток такой культуры продуцируют GFAP (глиальный кислый фибриллярный белок) – главный маркер астроцитов [7]. Кроме того, в данной культуре имеется небольшая доля клеточных элементов иного характера, например, олигодендроцитов [7; 8]. Следовательно, использованная культура содержит преимущественно астроцитоподобные клетки. В результате проведенных нами исследований был выявлен диффузный характер распределения сайтов взаимодействия с глицином на поверхности глиальных клеток.

Тем не менее, клетки линии С6 являются трансформированными, в обычных условиях утратившими способность дифференцироваться, поэтому возник вопрос об экспрессии глицин-специфических рецепторов в клетках глиии нормальной нервной ткани, завершившей дифференцировку.

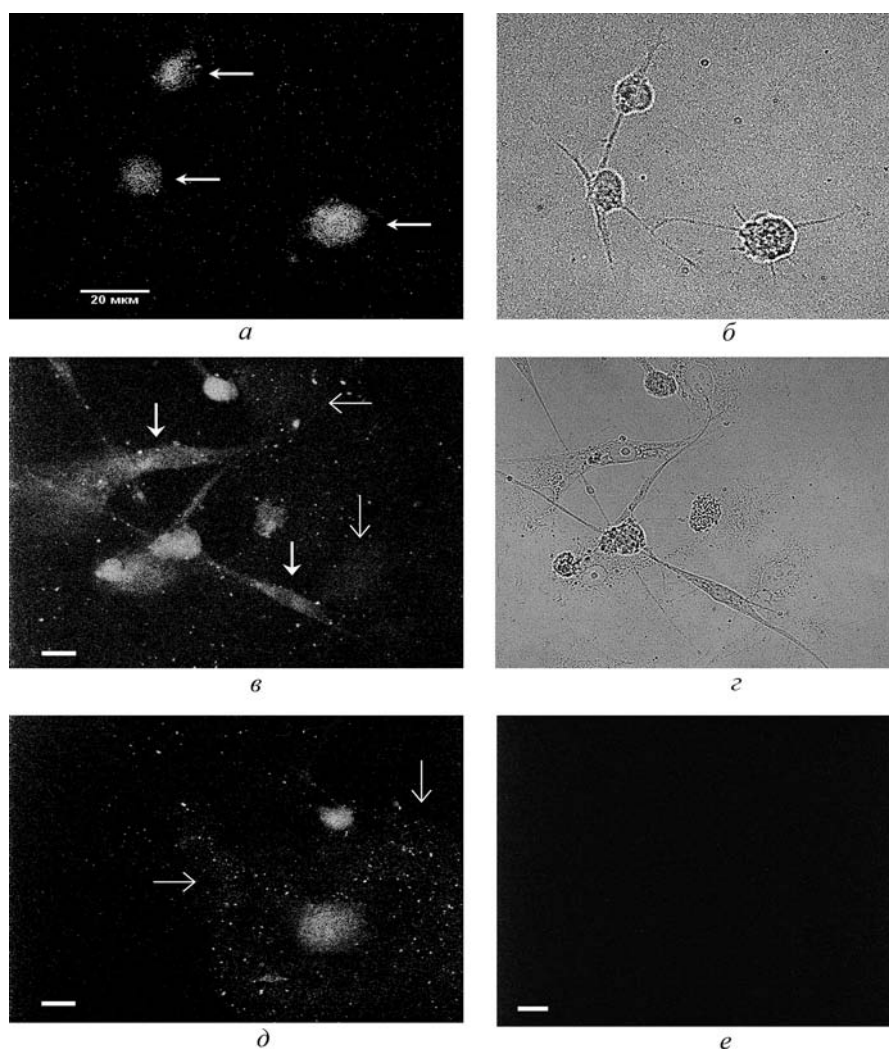


Рис. 2. Иммунореактивность глицин-специфических рецепторов в первичной культуре спинного мозга крыс (14 сут. *in vitro*): а, в, д – диффузная (тонкая стрелка) и сконцентрированная (толстая стрелка) иммунофлуоресценция глицин-специфических рецепторов на мембранах клеток спинного мозга крысы в опытных образцах; б, г – опытные образцы культуры в проходящем свете; е – негативный контроль (без добавления первичных моноклональных антител) (×16).
Длина линейки 20 мкм

В результате исследований, проведенных на 14-суточной органтипической культуре спинного мозга крысы, была обнаружена интенсивная люминесценция глициновых сайтов (рис. 2), сконцентрированных на поверхности ряда клеток. Прежде всего, она свойственна нейронам, имеющим глицинергические синапсы – вставочным нейронам, включая клетки Реншоу, мотонейронам. Однако люминесценция выявлена и в клетках, морфологически явно отличающихся от нейрональных. На таких клетках характер распределения специфических рецепторов был диффузный, как и в монослое культуры глиомы.

Необходимо подчеркнуть, что было установлено наличие эффективных систем специфического захвата глицина у астроцитов первичных культур головного мозга крыс и цыплят [9–11]. Такие системы, несомненно, присутствуют и в спинном мозге, главном регуляторном центре глицинергических потоков в ЦНС [1]. Однако наличие рецепторов глицина на клетках глии до настоящей работы показано не было.

Функциональное назначение глицин-специфических рецепторов на клетках глии, по всей видимости, отличается от такового на нейронах, что может объяснять менее выраженную иммунореактивность данных рецепторов на глиоцитах и диффузный характер их распределения по поверхности клетки.

Заключение. Экспрессия глицин-специфических рецепторов на клетках глии позволяет понять причины реализации упомянутых во введении эффектов глицина в концентрации на порядок ниже миллимолярной на культуру клеток глиомы С6. Вместе с тем наличие этих рецепторов и на глиоцитах и на нейронах дает основание полагать, что в определенном концентрационном диапазоне возможна избирательная стимуляция пролиферации нейронов при торможении таковой глиоцитов. Так, в специальных экспериментах нами был достигнут эффект увеличения в первичной культуре спинного мозга количества клеток, содержащих тигроидную субстанцию Ниссля [12].

Итак, обнаружение глицин-специфических рецепторов на мембранах глиоцитов нервной ткани свидетельствует о возможностях проявления этой аминокислотой регуляторных эффектов (в частности, принципиальном изменении характера воздействия на глиоциты белка с нейротрофическими свойствами – плазминогена), детальное уяснение характера которых открывает перспективы достаточно многоплановых исследований.

Авторы выражают благодарность научному сотруднику центра световой микроскопии Института физиологии НАН Беларуси Р. Г. Лемешу за консультативно-методическую помощь при работе на люминесцентном микроскопе.

Литература

1. Биохимия мозга / Под ред. И. П. Ашмарина, П. В. Стуканова, Н. Д. Ещенко. СПб., 1999. – 328 с.
2. Балашевич Т. В., Никандров В. Н., Гронская Р. И., Тумилович М. К. // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. 2009. № 2 (26). С. 61–63.
3. Балашевич Т. В., Никандров В. Н. // Новости мед.-биол. наук. 2010. Т. 1, № 2. С. 189–194.
4. Балашевич Т. В., Никандров В. Н. // Весні НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2010. № 3. С. 38–41.
5. Руководство по культивированию нервной ткани. Методы. Техника. Проблемы / Под ред. Б. Н. Вепринцева. М., 1976. С. 54–55.
6. Brismar T. // *Glia*. 1995. Vol. 15. P. 231–243.
7. Nagamatsu S., Nakamichi Y., Inoue N. et al. // *Biochem. J.* 1996. Vol. 319. P. 477–482.
8. Weis C., Wiesenhofer B., Hummel C. // *J. Neurooncol.* 2002. Vol. 56. P. 59–67.
9. Verleysdonk S., Martin H., Wilker W. et al. // *Glia*. 1999. Vol. 27. P. 239–248.
10. Bomkanti R. K., Beavan M., Ng K. et al. // *J. Neurochem.* 1996. Vol. 66 (Suppl. 2). P. S90A.
11. Sato K., Yoshida S., Fujiwara K. et al. // *Brain Res.* Vol. 567. P. 64–70.
12. Балашевич Т. В., Никандров В. Н. Заявка на изобретение № 20100851 от 31.05.2010.

BALASHEVICH T. V., NIKANDROV V. N., LUKASHEVICH V. S.

rabo4ij@tut.by

REVEALING THE GLYCINE-COUPPLING SITES ON GLIOCYTE CELL MEMBRANES

Summary

The cytoplasmic membranes of rat newborns spinal cord cells and rat C6 glioma cells on the glycine-specific receptor presence *in vitro* have been investigated. By the immunohistochemical method the presence of glycine-specific sites was shown on glial and neuronal cells. The immunoreactivity to glycine receptor $\alpha 1$ - and $\alpha 2$ - subunits has diffusive localization in gliocytes, and concentration localization – in neurons, which is probably determined by receptor functional differences of this-type cells.