



Национальная академия наук Беларуси
Институт биофизики и клеточной инженерии
Министерство образования Республики Беларусь
Белорусский государственный университет
Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований

85-ЛЕТИЮ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ
ПОСВЯЩАЕТСЯ

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, МЕМБРАННЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БИОСИСТЕМ

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

ОДИННАДЦАТЫЙ СЪЕЗД БЕЛОРУССКОГО ОБЩЕСТВЕННОГО
ОБЪЕДИНЕНИЯ ФОТОБИОЛОГОВ И БИОФИЗИКОВ

17–20 июня 2014 г., Минск, Беларусь

СБОРНИК СТАТЕЙ
В двух частях

Часть 2

Минск
Издательский центр БГУ
2014

ФАКТОР РОСТА НЕРВОВ, СТРЕПТОКИНАЗА И ПЛАЗМИНОГЕН КАК РЕГУЛЯТОРЫ ВОДНОГО БАЛАНСА КЛЕТОК НЕРВНОЙ ТКАНИ

В.Н. Никандров, О.Н. Жук, Р.И. Гронская, Е.Ф. Полукошко

*Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь
Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Жизнедеятельность клеток осуществляется благодаря поддержанию водно-солевого баланса, обеспечивающего ход метаболических и цитофизиологических процессов. Этот баланс обеспечивается при участии диффузии, энергозависимого каналового транспорта, включая системы ион-зависимых АТФ-аз и аквапоринов. Однако механизмы его регуляции на молекулярно-клеточном уровне остаются изученными крайне недостаточно. Особенно это касается роли компонентов системы протеолиза.

Ранее описаны принципиально новые свойства субъединиц фактора роста нервов (NGF): плазминоген-активаторная и прямая протеолитическая активности [1,2], а также получены доказательства нейротрофической активности стрептокиназы (SK) и плазминогена (Pg) [например, 3].

Цель настоящей работы – раскрыть влияния упомянутых белков на особенности состояния клеток нервной ткани в условиях дегидратации и гипергидратации.

Исследования проведены на монослойных культурах глиомы С6 и неокортекса новорожденной крысы, выращенных на синтетической питательной среде. Для создания условий дегидратации в питательную среду монослойных культур вносили дополнительно NaCl в конечной концентрации 20 г/л. Состояние гипергидратации вызывали двумя путями: питательную среду для последующего роста монослойных культур разводили дистиллированной водой 1:1 (при этом содержание NaCl в среде уменьшалось вдвое – до 4,5 г/л) или переводили монослойные культуры на среду следующего состава: НЕРЕС – 5 мМ, KCl – 5,4 мМ, MgSO₄ – 1,2 мМ, NaH₂PO₄ – 1,2 мМ, CaCl₂ – 2 мМ, глюкоза – 10 мМ, NaCl – 4,5 г/л (в обоих вариантах были получены одинаковые результаты).

С помощью светового микроскопа, как подробно описано ранее, оценивали морфологические характеристики культур клеток и учитывали количество клеток [4].

Белки вносили с питательную среду одновременно с NaCl или переводом монослойных культур клеток на гипотоническую среду.

Дегидратация. Внесение в синтетическую питательную среду NaCl в конечной концентрации 20 г/л в хорошо развитые монослойные культуры глиомы С6 или неокортекса крысы вызвало перестройку их организации: в первые же часы часть клеток (18% или 23% соответственно) гибла, сохранившиеся сжимались, теряли округлость формы и становились вытянутыми, отростки истончались. Клеточная культура меняла архитектонику – клетки постепенно перестраивались пространственно и собирались в связанные между собою кластеры, отделенные друг от друга свободными зонами. К исходу четвертых суток на месте равномерного монослоя наблюдались «кружева».

Одновременное внесение с NaCl NGF в конечной концентрации 50 нг/мл сохраняло первоначальную архитектонику монослойных культур глиомы С6: клетки имели типичную морфологию тел и отростков. Такое же воздействие оказал нейротрофин в конечной концентрации 100 нг/мл на монослойные культуры клеток неокортекса.

Принципиально аналогичный эффект на культуры глиомы С6 или неокортекса оказало внесение SK в конечной концентрации 1000 МЕ/мл.

При внесении в питательную среду одновременно с хлористым натрием P_g в конечной концентрации 10^{-7} М и экспозиции в течение 48 ч монослой культуры сохранял архитектонику нативных культур и морфологию клеток глиомы С6, площадь клеток уменьшалась на 18%. В случае культур клеток неокортекса внесение в питательную среду одновременно с хлористым натрием P_g в конечной концентрации 10^{-5} М способствовало сохранению архитектуры нативных культур и типичной морфологии клеток и их отростков, площадь клеток практически не изменялась.

Гипергидратация. Инкубирование монослойных культур клеток глиомы С6 в гипотонической питательной среде вызвало гибель 50% клеток, в выживших развивалась гидратация (отек). Эти клетки набухали – их объем увеличивался на 33%.

В случае культур клеток неокортекса в подобных условиях гибель клеток достигала 47%, а увеличение объема выживших – 23%.

При дополнительном внесении NGF в конечной концентрации 50 нг/мл в культурах клеток глиомы С6 гибель клеток составила 17%, объем сохранившихся клеток был увеличен только на 10%. В культурах же неокортекса гибель клеток не превышала 13%, объем сохранившихся клеток возрос только на 11%.

Внесение в питательную среду SK в конечной концентрации 200 МЕ/мл обеспечивало сохранение 93% клеток культуры глиомы С6 при увеличении их объема лишь на 12%, тогда как при концентрации SK 20

МЕ/мл выживал 81% этих клеток при изменениях объема на 19%. Что касается культур клеток неокортекса, то в гипотонической среде добавление SK в конечной концентрации 2000 МЕ/мл сохраняло 89% клеток при возрастании объема на 12%.

Добавление P_g до концентрации 10^{-6} М позволило сохранить более 80% клеток в культурах глиомы С6 при увеличении их объема в пределах 14%. Уменьшение концентрации зимогена на порядок влекло снижение количества жизнеспособных клеток глиомы до 66% при увеличении их объема на 19%. Внесении в питательную среду зимогена в конечной концентрации 10^{-5} М сопровождалось сохранением жизнеспособными 89% клеток культуры клеток неокортекса, их объем был увеличен на 9%. При уменьшении концентрации P_g в питательной среде на порядок в культуре неокортекса погибало 14%, их объем возрастал на 12%.

Следовательно, исследованные белки способны оказывать влияние на водный баланс клеток нервной ткани. Складывается впечатление, что более эффективно они регулировали его в условиях гипертонической среды, хотя в этом плане требуются более глубокие и разноплановые исследования. Более того, полученные результаты дают основания считать, что в регуляции водного баланса клеток существенное значение могут играть компоненты системы протеолиза, однако для раскрытия механизма подобной регуляции необходимы дальнейшие специальные исследования. Вместе с тем, на основе изложенных результатов нами был предложен ряд способов сохранения клеток нервной ткани в условиях дегидратации и гипергидратации [например, 5,6].

Литература

1. Nikandrov V.N.[et al.] // In: «18 Intern. Congress of Biochem. Mol. Biol. Abstract Book», Birmingham, 2000.—№ 1152— P. 317.
2. Никандров В.Н., Пыжова Н.С. // Вкн.: «Труды Всероссийской конфер. «Проблемы медицинск. энзимологии»». М., 2002. С. 163–164.
3. Никандров В.Н., Жук О.Н. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. —2011. — Т. 6, № 1. — С. 36–48.
4. Жук О.Н., Калюнов В.Н., Гулецкая Е.Н. // Весці АН БССР. Сер.біял. навук. — 1986. — №1.— С. 56–60.
5. Жук О.Н., Никандров В.Н., Гронская Р.И., Полукошко Е.Ф. // Патент ВУ № 15379 от 07.10.2011.
6. Жук О.Н., Никандров В.Н., Гронская Р.И., Полукошко Е.Ф. // Патент ВУ № 15815 от 26.01.2012.