

2. Гончарик, И.И. Анемия хронических заболеваний / И.И. Гончарик, Т.В. Малая // Военная медицина – 2013. – № 3. – С. 152–154.
3. Enhanced programmed cell death of iron-deficient erythrocytes / D.S. Kempe [et al.] // FASEB J. – 2006. – Vol. 20, № 2. – P. 368–370.
4. Белевич, Е.И. Эриптоз – запрограммированная гибель эритроцитов / Е.И. Белевич, Д.Г. Костин, Е.И. Слобожанина // Успехи современ. биол. – 2014. – Т. 134, № 2. – С. 149–157.
5. Белевич, Е.И. Окислительный стресс в эритроцитах человека и активация каспазы-3 / Е.И. Белевич, Д.Г. Костин, Е.И. Слобожанина // Сборник тезисов докладов междунар. науч. конференции “Свободные радикалы в химии и жизни” Минск, 25-26 июня 2015 г. – 2015. – С. 51-53.
6. Uremic toxicity-induced eryptosis and monocyte modulation: the erythrophagocytosis as a novel pathway to renal anemia / N.B. Bonan [et al.] // Blood Purif. – 2016. – Vol. 41, № 4. – P. 317–323.

ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДНЫХ ФИБРИЛЛ ИЗ ЛИЗОЦИМА НА ГЕНЕРАЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

Венская Е.И., Скоробогатова А.С., Лукьяненко Л.М.

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь*

Амилоиды – это нерастворимые белковые фибриллы, которые образуются при нарушении процесса фолдинга и накапливаются в органах человека при различных патологиях [1].

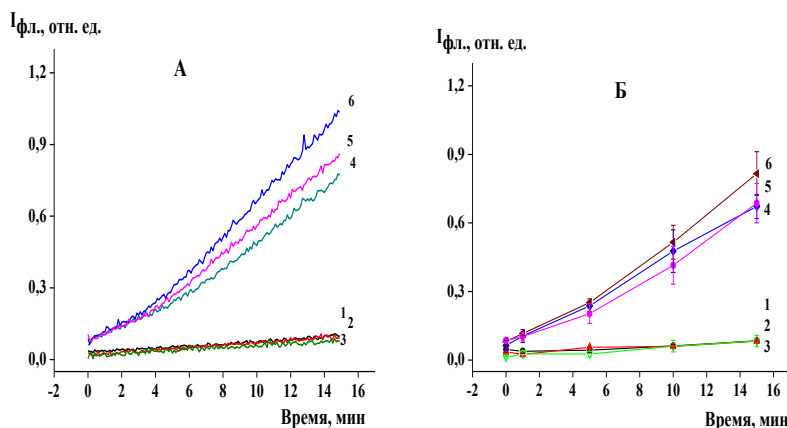
Цель данной работы – изучить влияние амилоидных фибрилл из лизоцима на процесс генерации активных форм кислорода (АФК) в лимфоцитах человека.

Материалы и методы. Амилоидные фибриллы получали из лизоцима куриного яйца (Fluka) [2]. Контроль за образованием фибрилл осуществляли спектрофлуориметрическим методом с использованием зонда тиофлавина Т (Sigma). Донорскую кровь получали в РНПЦ «Трансфузиологии и медицинских биотехнологий» МЗРБ. Лимфоциты выделяли из периферической крови практически здоровых доноров в градиенте плотности гистобака (Sigma). Уровень АФК регистрировали флуоресцентным методом с помощью зонда 5-(6)-хлорметил-2',7'-

дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (CM-H₂DCFDA) [3] и методом люминолзависимой хемилюминесценции [4].

Результаты. Известно, что зонд CM-H₂DCFDA свободно проникает через клеточные мембраны и гидролизуется в клетке эстеразами до неактивной формы DCFH, которая, в свою очередь, окисляется в присутствии внутриклеточных АФК и флуоресцирует. Измеряя кинетику флуоресценции данного зонда, можно изучать общий уровень окислительного статуса живой клетки [3].

В нашей работе для стимуляции окислительных процессов в клетке использовали трет-бутил гидроперекись (tBHP) в конечной концентрации 1мМ. Было показано, что амилоидные фибриллы и лизоцим при кратковременном воздействии не оказывают влияния на генерацию АФК в лимфоцитах человека, но при этом могут усиливать окислительный стресс клеток в присутствии tBHP (рисунок 1).



1 – контроль; 2 – лимфоциты + 20 мкг/мл лизоцима; 3 – лимфоциты + 20 мкг/мл амилоидов; 4 – лимфоциты + 1 мМ tBHP; 5 – лимфоциты + 20 мкг/мл амилоидов + 1 мМ tBHP; 6 – лимфоциты + 20 мкг/мл лизоцима + 1 мМ tBHP.

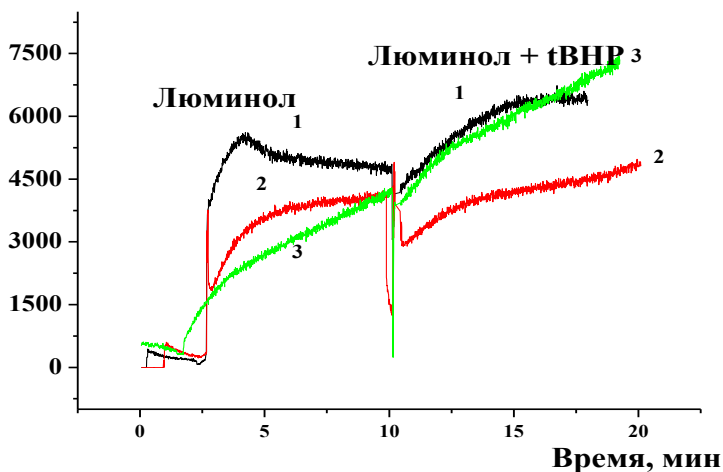
Рисунок 1 – А – Типичная кинетика флуоресценции DCF в лимфоцитах человека, обработанных лизоцимом куриного яйца; амилоидными фибриллами, полученными из лизоцима; и tBHP; Б – Кинетика флуоресценции DCF в лимфоцитах человека, обработанных лизоцимом куриного яйца; амилоидными фибриллами, полученными из лизоцима; и tBHP

Показано, что амилоидные фибриллы, полученные из лизоцима, также как и лизоцим, при краткосрочном воздействии не оказывают влияния на уровень образования свободных радикалов в лимфоцитах, по сравнению с контролем (рисунок 2). Это согласуется с данными, полученными ранее в нашей лаборатории на эритроцитах человека [5].

Таким образом, можно предположить, что механизм краткосрочного токсического воздействия амилоидных фибрилл на клетки не включает в себя изменение уровня АФК в клетках, однако амилоидные фибриллы способны усиливать окислительный стресс, вызванный другими окислителями (tBHP).

Из литературных данных известно, что при развитии амилоидозов *in vivo* наблюдается усиление окислительного стресса. В ряде случаев это связывают с присутствием и накоплением в очагах отложения амилоидов ионов металлов [6]. Можно предположить, что ионы металлов вызывают окислительный стресс, а амилоидные фибриллы усиливают его.

Интенсивность люминесценции, отн. ед.



1 – контроль; 2 – лимфоциты + 20 мкг/мл лизоцима; 3 – лимфоциты + 20 мкг/мл амилоидов.

Рисунок 2 – Изменение люминолзависимой хемилюминесценции в лимфоцитах человека при воздействии на клетки амилоидных структур из лизоцима

Литература

1. Chiti, F. Protein missfolding, functional amyloid, and human disease / F. Chiti, C. Dobson // *Annu Rev Biochem.* – 2006. – Vol. 75. – P. 333-366.
2. Chaudhary, N. Hen lysozyme amyloid fibrils induce aggregation of erythrocytes and lipid vesicles / N. Chaudhary, R. Nagaraj // *Mol Cell Biochem.* – 2009. – Vol. 328. – P. 209-215.
3. Methods to Monitor ROS Production by Fluorescence Microscopy and Fluorometry / A.Wojtala [et al.] // *Methods in enzymology.* – 2014. – P. 243-245.
4. Коваленко, Е.И. Влияние пероксида водорода на способность нейтрофилов генерировать активные формы кислорода и хлора и секретировать миелопероксидазу *in vitro* / Е.И. Коваленко, Г.Н. Семенкова, С.Н. Черенкевич // *Цитология.* – 2009. – Т. 49, № 10. – С. 839-847.
5. Влияние амилоидов на физико-химическое состояние липидного бислоя мембран эритроцитов / Л.М. Лукьяненко [и др.] // *Новости медико-биологических наук.* – 2013. – Т. 7, № 1. – С. 9-13.
6. Amyloidosis, Inflammation, and Oxidative Stress in the Heart of an Alkaptonuric Patient / L. Millucci [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2014. – P. 258471.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ И ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АРТРИТЕ

Войченко Н.В.¹, Улащик В.С.², Волотовская А.В.¹

¹*Белорусская медицинская академия последипломного образования,
Минск, Беларусь*

²*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Перспективным направлением физиотерапии, в том числе и в лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата, является применение сочетанных физиотерапевтических методов, в частности, фотоманнитотерапии [1]. Для разработки дифференцированных методик применения фотоманнитотерапии в ревматологии актуальны экспериментальные и клинические исследования, направленные на сравнительное изучение влияния магнитного поля, света и их сочетания [2].