ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ НЕРВНЫХ КЛЕТОК *Lymnaea stagnalis*

Харитонов В.Р., Сидоров А.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Нервные клетки беспозвоночных характеризуются высокой степенью устойчивости к действию различных химических и физико-химических факторов [1]. Вместе с тем, по своим функциональным, связанным со способностью к генерации, проведению и интеграции электрических сигналов, характеристикам, они демонстрируют поразительное сходство с нейронами высших позвоночных. Очевидно, что понимание клеточных механизмов, определяющих такую резистентность, может быть использовано при разработке различных нейропротекторных средств, существенно повышающих вероятность нормального функционирования мозга в условиях стресса различного происхождения. Колебания редокс равновесия, в том числе и в нервной ткани, рассматривается в качестве основного фактора провоцирующего развитие разнообразных нарушений мозговых функций [2]. Целью данной работы было оценить взаимосвязь между морфологическими характеристиками культивируемых нейронов моллюска *Lymnaea stagnalis* и их способностью противостоять накоплению активных форм кислорода (АФК) в условиях кратковременного окислительного стресса.

В работе использовали клеточный материал из состава центральных нервных ганглиев *Lymnaea*. Его выделение проводили путём разрыва соединительно-тканной оболочки нервного узла и последующего вымывания из него клеток, сопровождающегося механическим разделением последних. Дальнейшее культивирование проводили по модифицированной методике [3]. Для оценки внутриклеточного накопления АФК использовали флуоресцентный зонд 2',7'-дихлородигидрокси-флуоресцеин диацетат (DCFDA), в концентрации 10 мкМ (время инкубации с клетками 30 мин). Окислительный стресс инициировали добавлением 1 мМ перекиси водорода (конечная концентрация) в культуральную среду, содержащую FeSO₄ и ЭДТА (20 мкМ). Изображения получали на флуоресцентном микроскопе (Nikon, $\lambda_{ex/em}$ 505/525 нм), а их последующий анализ проводили посредством программы ImageJ. Статистическая обработка выполнена с использованием программы Statistica 6.0.

Добавление пероксида водорода приводит к быстрому, в течение 5 мин, возрастанию флуоресценции, однако уже по прошествии 15–20 мин её интенсивность снижается в 1,5–2 раза, сохраняясь на таком уровне в течение длительного (часы) промежутка времени. Установлено, что существует небольшая, статистически достоверная прямая зависимость интенсивности флуоресценции от размера нейронов, свидетельствующая о более интенсивном накоплении АФК в клетках большего объёма – значения коэффициента корреляции варьировались от 0,2 до 0,4 в зависимости от возраста культуры. В то же время, для клеток более «молодой» культуры (72 ч) была характерна меньшая, в 1,5 раза (достоверно, $z = 3,80$, $P = 0.0001$) интенсивность относительной (на ед. площади клетки) флуоресценции, по сравнению с нейронами «старой» культуры (144 ч). Предполагается, что степень антиокислительной защиты клеток нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis* зависит от их морфо-функциональных характеристик.

Библиографические ссылки

1. Сидоров А.В. Функциональная активность нервных центров беспозвоночных. Минск: БГУ, 2011. 247 с.
2. Beal M.F. Aging, Energy, and Oxidative Stress // Ann. Neurol. 1995. Vol. 38. P. 357–366.
3. Fathi-Moghadam H., Winlow W. Comparative Effects of Halothane and Isoflurane on K⁺ and Ca²⁺ Currents // EC Neurology. 2019. Vol. 11.9. P. 741–749.