

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра генетики

ХАРИТОНОВА

Валентина Ренальдовна

**ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В
ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ НЕРВНЫХ КЛЕТОК *LUMNAEA STAGNALIS***

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор А.В. Сидоров

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Объем дипломной работы 45 страниц, 18 рисунков, 41 источник.

Ключевые слова: первичная культура, нейрон, активные формы кислорода, флуоресценция, беспозвоночные

Объект исследования: первичная культура нейронов моллюска *Lymnaea stagnalis*

Цель работы: выяснение особенностей накопления активных форм кислорода в первичной культуре клеток центральных нервных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis* в условиях острого окислительного стресса.

Методы исследования: культивирование клеток, флуоресцентная микроскопия, статистический анализ.

Полученные результаты:

Для первичной культуры клеток центральных нервных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis* найдена положительная взаимосвязь между размерами клеток и степенью накопления в их цитоплазме активных форм кислорода (АФК), оцениваемой при помощи флуоресцентного зонда 2',7'-дихлородигидроксифлуоресцеин диацетата (DCFDA). Статистически значимых отличий между культурами разных возрастов (72 и 144 ч) отмечено не было. Установлено, что интенсивность относительной (на единицу площади клетки) флуоресценции была выше в клетках более молодой культуры (72 ч), что свидетельствует о большем накоплении АФК в их цитоплазме по сравнению с клетками более возрастной культуры. Для отдельных клеток первичной культуры *Lymnaea stagnalis* отмечена быстрая динамика возрастания (максимум на 1 мин) и спада (к 10-15 мин) интенсивности флуоресценции в ответ на добавление в среду инкубации пероксида водорода, сопровождающееся генерацией АФК.

Результаты работы свидетельствуют о сигнальной роли АФК по ходу дифференцировки нейронов, преимущественно в относительно небольших по размерам клетках. В то же время развитая система антиокислительной защиты более крупных, возрастных, нейронов обеспечивает нормальное функционирование нервных центров мозга взрослых особей в условиях окислительного стресса разного генеза.

РЭФЕРАТ

Колькасць старонак - 45, малюнкаў - 18, выкарыстаных крыніц - 41.

Ключавыя словы: першасная культура, нейрон, актыўныя формы кіслароду, флуарэсцэнцыя, бесхрыбетныя

Аб'ект даследавання: першасная культура нейронаў малюска *Lymnaea stagnalis*

Мэта працы: высвятленне асаблівасцяў назапашвання актыўных формаў кіслароду ў першаснай культуры клетак цэнтральных нервовых гангліяў малюска *Lymnaea stagnalis* ва ўмовах вострага акісляльнага стрэсу.

Метады даследавання: культываванне клетак, флуарэсцэнтная мікраскапія, статыстычны аналіз.

Атрыманыя вынікі:

Для першаснай культуры клетак цэнтральных нервовых гангліяў малюска *Lymnaea stagnalis* знойдзена станоўчая ўзаемасувязь паміж памерамі клетак і ступенню назапашвання ў іх цытаплазме актыўных формаў кіслароду (АФК), якую ацэньвалі пры дапамозе флуарэсцэнтнага зонда 2',7'-дихлородигідроксифлуорэсцеин дیاцэтата (DCFDA). Статыстычна значных адрозненняў паміж культурамі розных узростаў (72 і 144 ч) адзначана не было. Устаноўлена, што інтэнсіўнасць адноснай (на адзінку плошчы клеткі) флуарэсцэнцыі была вышэй у клетках больш маладой культуры (72 гадзіны), што сведчыць аб большам назапашванні АФК ў іх цытаплазме у параўнанні з клеткамі больш узроставай культуры. Для асобных клетак першаснай культуры *Lymnaea stagnalis* адзначана хуткая дынаміка ўзрастання (максімум на 1 мін) і спаду (да 10-15 мін) інтэнсіўнасці флуарэсцэнцыі ў адказ на даданне ў сераду інкубацыі пераксіду вадароду, якое суправаджаецца генерацыяй АФК.

Вынікі працы сьведчаць пра сігнальнай ролі АФК па ходзе дыферэнцыявання нейронаў, пераважна ў адносна невялікіх па памерах клетках. У той жа час развітая сістэма антіаксідантнай абароны большых, узроставых, нейронаў забяспечвае нармальнае функцыянаванне нервовых цэнтраў мозгу дарослых асобін ва ўмовах акісляльнага стрэсу рознага генезу.

ABSTRACT

Number of pages – 45, figures – 18, sources used – 41 .

Key words: primary culture, neuron, reactive oxygen species, fluorescence, invertebrates

Object of research: the primary culture of neurons of the mollusk *Lymnaea stagnalis*

Objective: to elucidate the accumulation features of reactive oxygen species in the primary culture of cells of the central nerve ganglia of the mollusk *Lymnaea stagnalis* under conditions of acute oxidative stress.

Research methods: cell cultivation, fluorescence microscopy, statistical analysis.

Results:

For the primary culture of the cells of the central nerve ganglia of the mollusk *Lymnaea stagnalis*, a positive relationship was found between the size of the cells and the degree of active oxygen species (ROS) accumulation in their cytoplasm. It was estimated using a 2',7'-dichlorodihydroxyfluorescein diacetate (DCFDA) fluorescence probe. There were no statistically significant differences between cultures of different ages (72 and 144 hours). It was established that the relative fluorescence intensity (per unit cell area) was higher in the cells of a younger culture (72 h), which indicates a greater accumulation of ROS in their cytoplasm compared with cells of a more advanced culture. For the separate cells of primary culture of *Lymnaea stagnalis*, rapid dynamics of increase (maximum at 1 min) and decrease (by 10-15 min) of fluorescence intensity generation was observed in response to the addition of hydrogen peroxide to the incubation medium accompanied by ROS.

The results of the work indicate the ROS signaling role in the course of neuronal differentiation, mainly in relatively small cells. At the same time, a developed system of antioxidant protection of larger, older, neurons ensures the normal functioning of the nerve centers of the brain of adults under conditions of oxidative stress of various origins.