

ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДОВ НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

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

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Ряд нейродегенеративных и других заболеваний сопровождаются накоплением амилоидов в различных органах и тканях. До сих пор не существует однозначного мнения о механизмах влияния амилоидов на различные клеточные системы организма человека и роли окислительного стресса в этих процессах. Некоторые авторы считают, что генерация активных форм кислорода (АФК) является одним из звеньев развития патологических процессов, протекающих при амилоидозах, другие полагают, что формирование амилоидов рассматривается как защитная компенсаторная реакция в ответ на развитие деменции в организме человека. Основываясь на литературных данных, мы предположили, что окислительный стресс, возникающий в организме по различным причинам (негативное влияние окружающей среды, воспалительные процессы, вирусные инфекции), может являться триггером развития патологического процесса, связанного с отложением амилоидов. Для проверки этой гипотезы изучено воздействие амилоидных фибрилл на лимфоциты человека в условиях окислительного стресса. В качестве индуктора окислительного стресса была использована трет-бутилгидроперекись (t-BHP). Цель данной работы – изучить влияние сочетанного действия амилоидных фибрилл, полученных из лизоцима, и t-BHP на процессы, характеризующие функциональное состояние лимфоцитов человека: уровень АФК, изменение липидного бислоя их мембран и степень повреждения ДНК. Лимфоциты выделяли из периферической крови человека в градиенте плотности гистобака. Амилоидные фибриллы получали из лизоцима куриного яйца. Контроль за процессом образования амилоидов из лизоцима осуществляли флуоресцентным методом с использованием тиофлавина Т. О физико-химическом состоянии липидного бислоя мембран клеток судили по изменениям параметров флуоресценции липофильных зондов: 2-диметиламино-6-лауроилнафталина (лаурдана), 1-(4-триметиламмоний)-6-фенил-1,3,5-гексатриена (ТМА-ДФГ) и пирена. Окислительный статус лимфоцитов человека определяли флуоресцентным методом с помощью зонда 2,7-дихлордигидрофлуоресцеин-диацетата (H₂DCF-DA), а также методом хемилюминесценции. Изучение генотоксического эффекта воздействия на лимфоциты амилоидных структур проведено методом определения повреждений ДНК в отдельной клетке – метод «ДНК-комет». Эксперименты были проведены на лимфоцитах, выдержанных в PBS-буфере, pH 7,4 (контроль); а также на лимфоцитах, проинкубированных в буфере, содержащем амилоидные фибриллы в концентрации 20 мкг/мл; 1 мМ t-BHP; амилоидные фибриллы в концентрации 20 мкг/мл и 1 мМ t-BHP. Обнаружено, что сами амилоидные фибриллы не оказывают влияния на процесс генерации АФК и повреждение ДНК в лимфоцитах человека. Однако, при сочетанном воздействии на лимфоциты амилоидных фибрилл и t-BHP мы наблюдали более выраженное изменение микровязкости липидного бислоя мембран лимфоцитов и увеличение генерации АФК в клетках по сравнению с контрольными клетками и клетками, подвергшимися воздействию отдельно амилоидов или t-BHP. Таким образом, амилоидные фибриллы при воздействии на лимфоциты человека *in vitro*, усиливают окислительный стресс, вызванный t-BHP, проявляющийся в интенсификации процессов генерации АФК, усилении повреждения ДНК, изменении структурно-функционального состояния липидного бислоя мембран лимфоцитов крови.