

# АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

## ANALYSIS OF CALCIUM IONS IN THE CYTOPLASM OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES OF PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

**А. В. Каурова<sup>1</sup>, И. В. Пухтеева<sup>1</sup>, Л. А. Малькевич<sup>2</sup>, Н. В. Герасимович<sup>1</sup>**  
**A. Kaurova<sup>1</sup>, I. Puhteeva<sup>1</sup>, L. Malkevich<sup>2</sup>, N. Gerasimovich<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ,  
г. Минск, Республика Беларусь  
alesya\_kaurova@mail.ru

<sup>2</sup>Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь

<sup>1</sup>Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

В работе проведен анализ содержания ионов кальция в цитоплазме лимфоцитов периферической крови пациентов с ревматоидным артритом. Показано, что происходит увеличение концентрации внутриклеточного ионизированного кальция у пациентов с ревматоидным артритом относительно контрольной группы, в анамнезе которой не содержится сведений о данном заболевании.

The paper analyzes the content of calcium ions in the cytoplasm of peripheral blood lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis. It has been shown that there is an increase in the concentration of intracellular ionized calcium in patients with rheumatoid arthritis relative to the control group, which history does not contain information about this disease.

*Ключевые слова:* ионизированный кальций, биологические мембранны, ревматоидный артрит.

*Keywords:* ionized calcium, biological membranes, rheumatoid arthritis.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-1-262-265>

Ионизированный кальций участвует в жизненно важных биохимических и физиологических процессах организма – таких, как свертывание крови, построение скелета, регуляция реакций метаболизма, сокращение мышечных волокон, передача нервного импульса от одного нейрона к другому, выделение гормонов. Повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  внутри клетки оказывается своеобразным сигналом тревоги. Все транспортные системы мобилизуются на удаление  $\text{Ca}^{2+}$  из клетки. Клетка не может жить без  $\text{Ca}^{2+}$ , но продолжительное повышение (на десятки минут) уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме приводит к гибели клеток. В норме увеличение  $\text{Ca}^{2+}$  – кратковременный процесс.

Важнейший компонент клетки – биологические мембранны, являющиеся структурами ядра, митохондрий, хлоропластов, лизосом и других органелл. Мембранные структуры образуют в клетках хорошо организованную разветвленную сеть. В мембранах митохондрий существуют специфические механизмы захвата  $\text{Ca}^{2+}$  и его высвобождения, нарушение этих механизмов приводит к дисрегуляции гомеостаза клетки. Ключевыми клетками адаптивного иммунитета являются лимфоциты. Иммунореактивность лимфоцитов обеспечивается интеграцией митохондрий и механизмов кальциевой сигнализации. Кальциевые механизмы играют важную роль в реализации специфического ответа лимфоцитов. Митохондрии обеспечивают захват, аккумуляцию и высвобождение кальция в цитозоль, находясь в тесном взаимодействии с эндоплазматическим ретикулумом и кальциевыми каналами цитоплазматической мембранны. Таким образом, показана ключевая роль клеточных мембран в процессе биологической регуляции [3].

Ревматоидный артрит – аутоиммунное заболевание сложной этиологии, характеризующееся развитием симметричного эрозивного артрита и системным воспалительным поражением внутренних органов. Это – одно из самых распространенных заболеваний, диагностируемых у 1–1,5% населения. Женщины болеют в 3 раза чаще мужчин. Ревматоидный артрит уменьшает продолжительность жизни на срок от трех до семи лет. Одним из основных признаков заболевания является околосуставной остеопороз, достаточно актуален вопрос потребления кальция при этом заболевании [2].

В связи с вышесказанным, целью данной работы являлось проведение сравнительного анализа содержания ионов кальция в цитоплазме лимфоцитов периферической крови у пациентов с ревматоидным артритом.

Объектом исследования являлись лимфоциты периферической крови человека. Забор крови проводился как у здоровых доноров, так и у больных с ревматоидным артритом.

В исследование была включена группа лиц из 15 человек (12 мужчин и 3 женщины) с диагнозом ревматоидный артрит. Контрольная группа состояла из 20 человек, в анамнезе которых не было сведений о заболевании ревматоидным артритом, а биохимический и общий анализ крови находились в пределах физиологической

нормы. Забор крови для исследований производили натощак после 12-часового голодания в одно и то же время суток (утром) пункцией локтевой вены (самотеком).

Лимфоциты выделяли согласно стандартной методике [1].

Анализ содержания внутриклеточного цитоплазматического кальция в экспериментах проводился с помощью флуоресцентного зонда Fura-2/AM («Sigma»). Флуоресцентный зонд Fura-2/AM добавляли в суспензию клеток (конечная концентрация зонда в среде составляла  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л и инкубировали в течение 45 мин при 37°C с последующей отмыvkой в фосфатном буфере (pH 7,4).

В силу своей гидрофобности данный зонд проникает через плазматическую мембрану в цитоплазму, где, благодаря высокой активности неспецифических эстераз, быстро гидролизуется до тетракислоты, не успевая проникнуть в матрикс митохондрий или во внутривезикулярное пространство ретикулума. При взаимодействии с кальцием резко изменяется конформация данного соединения, что находит отражение в изменении параметров флуоресценции и позволяет судить о концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ .

Спектры флуоресценции записывали на флуориметре СМ-2203 СОЛАР (Беларусь). Измерение флуоресценции проводили при  $\lambda_{\text{возб.}} = 340$  и 380 нм, и регистрировали спектры испускания при длине волны 510 нм. Анализ спектров флуоресценции для определения концентрации  $[\text{Ca}^{2+}]$ , проводили как в работе [2].

Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета статистических программ Microsoft Excel 2016.

Известно, что непосредственной причиной развития симптомов ревматоидного артрита как заболевания является атака клетками иммунной системой синовиальных оболочек суставов. В результате развивается воспалительная реакция, в ходе которой суставная сумка расширяется, а формирующая сустав костная и хрящевая ткань деформируются и повреждаются. Сухожилия и связки, которыедерживают сустав вместе, ослабляются и растягиваются. Постепенно сустав теряет свою форму и меняет направление.

В настоящее время врачи не знают наверняка из-за чего начинается этот патологический процесс, однако рассматривают широкий спектр потенциальных причин. Одной из них является генетическая предрасположенность. Некоторые специалисты высказываются также в пользу наследственного характера причин данного заболевания. Однако часто ревматоидный артрит возникает на фоне перенесенных вирусных или бактериальных инфекций.

Вероятнее всего правильным будет мнение о смешанной природе заболевания, обусловленной особой восприимчивостью к развитию определенных осложнений после инфекционного заболевания у лиц с генетической предрасположенностью к ревматоидному артриту [2].

В современной медицине до сих пор не удается эффективно справляться с патологиями, этиология которых остается не выясненной, а характер течения системным. В этом случае исследователи часто делают акцент на проблеме дифференциальной диагностики, раннего обнаружения и стабилизации сложных системных заболеваний.

Не маловажную роль в решении этой проблемы отводят поиску новых и использованию уже известных молекулярно-генетических и биохимических маркеров, показателям нормального обмена веществ и другим физиологически-опосредованным динамическим факторам. Не меньшую ценность может приносить и изучение молекулярных изменений в отдельных органах, тканях, клетках и даже субклеточных структурах. Последнее особенно актуально в случаях явных метаболических нарушений в ходе развития симптомокомплекса заболеваний.

Одним из показателей функционального состояния клеток является уровень цитоплазматической концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Эти ионы выступают одним из активаторов функций клетки, играя роль вторичного посредника. В клетках существуют механизмы как для быстрого повышения содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме при воздействии стимула, так и для поддержания его концентрации на относительно низком уровне в условиях покоя.

Согласно современным представлениям одним из ранних проявлений воздействия на клетку различных факторов внешней и внутренней среды является изменение содержания внутриклеточного ионизированного кальция [3]. Данный процесс, как показано, инициирует развитие довольно сложных механизмов  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой регуляции внутриклеточного метаболизма. В настоящее время, хорошо известно, что поддержание оптимального уровня ионизированного кальция в клетке является определяющим моментом ее жизнедеятельности и достигается путем согласованного функционирования многочисленных  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующих мембраносвязанных систем. Данные отдельных авторов, полученные в последнее время, указывают, что при развитии ряда патологических процессов, а также стресс-реализованном поражении клеток отмечается увеличение содержания  $[\text{Ca}^{2+}]$  в цитоплазме клеток различных органов и тканей [4].

В связи с вышесказанным, а также принимая во внимание влияние на организм различных неблагоприятных экологических факторов, особую актуальность приобретают вопросы, связанные с выяснением механизмов изменения состояния гомеостаза свободного ионизированного кальция в клетках иммунной системы.

В ходе проведенного исследования было установлено, что величина свободного ионизированного кальция в цитоплазме лимфоцитов женщин в возрасте до 35 лет составляет около  $72,3 \pm 1,35$  нмоль/л. Аналогичные значения были получены и в работах других авторов [3,4].

В то же время аналогичный показатель в лимфоцитах периферической крови мужчин составлял  $79,69 \pm 2,15$  нмоль/л.

Таким образом, в работе установлены незначительные различия в содержании свободного ионизированного кальция в лимфоцитах периферической крови в зависимости от пола: у мужчин до 35 лет концентрация  $[\text{Ca}^{2+}]$  на 10% выше, чем у женщин этой же возрастной группы.

По полученным спектрам флуоресценции зонда fura-2 далее были рассчитаны концентрации ионов цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  в лимфоцитах периферической крови пациентов с ревматоидным артритом разного пола и возраста. Как видно из таблицы 1, при наличии метаболических изменений у мужчин (независимо от возраста) наблюдалось достоверное увеличение концентрации ионов кальция в цитоплазме лимфоцитов периферической крови приблизительно на 10–12%. В то же время у мужчин нами не было отмечено значимых возрастных различий исследуемого показателя.

*Таблица 1 – Концентрация свободного ионизированного кальция в цитоплазме лимфоцитов периферической крови мужчин (нмоль/л)*

Пациенты	Мужчины до 35 лет	Мужчины после 35 лет
Контроль	$79,65 \pm 0,38$	$74,67 \pm 0,30$
Пациенты с ревматоидным артритом	$89,71 \pm 0,39^*$	$90,07 \pm 0,40^*$

Примечание: \*- различия достоверны по сравнению с контролем при  $p < 0,05$ .

При определении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в лимфоцитах доноров-женщин после 35 лет было обнаружено увеличение данного показателя на 15%. Как видно из таблицы 2 в условиях наличия метаболических изменений в данной возрастной группе отмечался дополнительный рост содержания кальция в цитоплазме лимфоцитов на 13%.

*Таблица 2 – Концентрация свободного ионизированного кальция в цитоплазме лимфоцитов периферической крови женщин (в нмоль/л)*

Пациенты	Женщины до 35 лет	Женщины после 35 лет
Контроль	$72,30 \pm 0,31$	$105,66 \pm 0,41^*$
Пациенты с ревматоидным артритом	$77,86 \pm 0,34$	$136,24 \pm 0,46^*$

Примечание: \*- различия достоверны по сравнению с контролем при  $p < 0,05$ .

Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  являются одним из основных регуляторов клеточной жизнедеятельности: они контролируют метаболизм (модуляция ферментов), функциональную активность (высвобождение нейротрансмиттеров, сокращение миофибрилл, высвобождение антител), рост клеток, а также их деление и смерть.  $\text{Ca}^{2+}$  – компонент системы передачи сигнала в клетке, вторичный мессенджер, действие которого проявляется при достижении определенной внутриклеточной концентрации кальциевых ионов. В состоянии покоя цитозольная концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) находится в пределах  $10^{-8}$ – $10^{-7}$  моль/л и поддерживается на этом уровне благодаря различным факторам, таким как функционирование структур плазматической мембраны и кальциевых депо, наличие в цитоплазме большого количества  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих белков. Когда клетка получает внешний сигнал,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  повышается, запускается каскад реакций, и формируется клеточный ответ.

Можно предположить, что в условиях *in vivo* изменения проницаемости мембранных компонентов клетки и, в частности, митохондриальной мембраны могут принимать участие в быстром выходе излишка аккумулированного митохондриями кальция в цитозоль, а также участвовать в обмене низкомолекулярными протеинами между цитозолем и матриксом митохондрий.

Ревматоидный артрит является хроническим воспалительным заболеванием, которое затрагивает не только суставы, но также кровеносные сосуды, глаза, легкие, сердце и пр. Имеет аутоиммунную природу и развивается в результате аномальной атаки лимфоцитами собственного тела, организма. В отличие от остеоартирита, который повышает износ суставов в целом, ревматоидный артрит нарушает их структуру и может приводить к деформации, по причине которой развивается выраженный болевой синдром, а также хроническое воспаление. Хроническое воспаление является фактором риска развития иных ассоциированных с ревматоидным артритом заболеваний [3].

При ревматоидном артрите могут развиваться различные опосредованные им осложнения, например, остеопороз. Увы, на вероятность развития этого осложнения влияют не только компоненты ревматоидного артрита, но и последствия лечения заболевания. Установлено, что некоторые лекарства могут повышать вероятность развития остеопороза при длительном лечении ревматоидного артрита.

Организм как сложноорганизованная открытая система должен постоянно заботиться о поддержании гомеостаза. Многообразие метаболических процессов и путей их регуляции во многом облегчает эту задачу и позволяет компенсировать ослабевающие звенья за счет активации альтернативных. Именно эти механизмы компенсации позволяют клеткам организма человека преодолевать различные экзогенные патологические состояния, такие как вирусные и бактериальные инфекции, механические повреждения органов и тканей, последствия термических и солнечных ожогов и др. В некоторых случаях эти же механизмы могут вовлекаться в развитие тяжелых патологий, в том числе онкологических и аутоиммунных заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Клаус Дж. (ред.). Лимфоциты: Методы: Пер. с англ. Москва: Мир, 1990. 400 с.
2. Grynkiewicz G. A new generation of  $\text{Ca}^{2+}$  indicators with greatly improved fluorescence properties / G. Grynkiewicz, M. Poenie, P.Y. Tsien // Journal of Biological Chemistry. 1985;260:6: 3440–3450.

3. Лапотников В. А., Петров В. Н. Ревматоидный артрит / В.А. Лапотников, В.Н. Петров // Медицинская сестра. 2015;7:24–30.

4. Лычковская Е. В. Роль митохондрий в регуляции кальциевой сигнализации лимфоцитов / Е.В.Лычковская [и др.]. // Сибирское медицинское обозрение. 2016;5:5–14.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВИЗУАЛЬНОЙ СРЕДЫ ГОРОДА МИНСК И МИНСКОЙ ОБЛАСТИ ПОСРЕДСТВОМ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

### COMPARATIVE ANALYSIS OF THE VISUAL ENVIRONMENT OF THE CITY OF MINSK AND MINSK REGION THROUGH SPECIALIZED SOFTWARE

**Н. А. Козелько**

**N. Kozelko**

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ*

*г. Минск,, Республика Беларусь*

*ninakozelko@gmail.com*

*Belarusian State University, ISEI BSU,*

*Minsk, Republic of Belarus*

В настоящий момент более половины населения Земли проживает в городах. Урбанизация внесла значительные изменения в современную жизнь человека. Однако эти процессы не всегда являются положительными. Визуальная среда является важным экологическим фактором, которому не придают никакого значения многие из современных людей. Для анализа состояния визуальной среды Минской области и города Минска была разработана анкета, а также специализированное программное обеспечение «ЭкоВид-2020».

Currently, more than half of the world's population lives in cities. Urbanization has brought about significant changes in modern human life. However, these processes are not always positive. The visual environment is an important environmental factor that is overlooked by many modern people. To analyze the state of the visual environment of the Minsk region and the city of Minsk, a questionnaire was developed, as well as specialized software «ЭкоВид-2020».

*Ключевые слова:* визуальная среда, видеоэкология, гомогенное поле, агрессивное поле, визуальный шум.

*Keywords:* visual environmental, videoecology, homogeneous field, aggressive field, visual noise.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2021-1-265-268>

Городская среда значительно отличается от естественной и часто противоречит физиологии зрительного восприятия. Изобилие гомогенных и агрессивных полей, а также неестественное цветовое окружение, ведет не только к нарушению работы органа зрения, но и способствует развитию психической дезадаптации [1].

Окружающая среда насыщена разнообразными визуальными объектами, которые способны несколько смягчить влияние других отрицательных экологических факторов или напротив – усугубить экологическую ситуацию.

Видимый облик внешней среды, воспринимаемый органами зрения, которые являются основным сенсорным каналом, посредством которого человек получает около 80% информации об окружающей среде, стимулирует и регулирует работу головного мозга. Это оказывает влияние на физиологические и психологические процессы в организме человека. Поэтому, нормальная видимая среда – один из главных компонентов жизнеобеспечения человека. Сознательно и неосознанно воспринимаемый человеком видеоряд оказывает влияние на его здоровье и жизнедеятельность в такой же степени, как температура, свет, влажность и другие экологические факторы [1].

Экологическим фактором является любой элемент среды, способный оказать прямое воздействие на живой организм [2]. Следовательно, окружающая среда, воспринимаемая через органы зрения, является экологическим фактором.

Визуальная среда является важным экологическим фактором, которому не придают никакого значения многие из современных людей. Визуальная среда – это все то, что окружает человека в его повседневной жизни, или все то, на что он смотрит глазами [1].

Неблагоприятную визуальную среду разделяют на гомогенную и агрессивную. Под агрессивной средой понимают видимое поле, которое состоит из большого количества одинаково расположенных визуальных элементов. Гомогенной считается видимая среда, где зримые элементы либо отсутствуют совсем, либо их количество очень мало.

В настоящий момент существует несколько методов оценки визуальной среды. Среди них выделяют анализ «естественной» и искусственной видимой среды, которые включают в себя оценку природноландшафтного по-