

**Матеріали VI конгресу
патофізіологів України,
*3-5 жовтня, Місхор, Крим***

СИСТЕМА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ АПОПТОЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРОЭНТЕРОКОЛИТЕ

Ткаченко А.С.

Харьковский национальный медицинский университет.

Актуальность. В наших работах установлено, что употребление в пищу крысами каррагинина (пищевой добавки Е 407, которая экстрагируется из красных морских водорослей и используется пищевой промышленностью в качестве загустителя) приводит к хроническому гастроэнтероколиту, механизмы развития которого изучены недостаточно. Цель работы - изучение уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ), активности апоптотических процессов и показателей функции эндотелия кишечника крыс с экспериментальным хроническим гастроэнтероколитом

Материалы и методы. Экспериментальный гастроэнтероколит у 3-месячных крыс линии Вистар вызывали добавлением в пищу каррагинина. Активность NO-синтазы, протеинкиназы-1, регулирующей апоптогенный сигнал и фрагментацию ДНК определяли спектрофотометрически, поли-(АДФ-рибозы)-полимеразы (ПАРП) электрофоретическим методом.

Результаты. Установлено, что при введении в рацион каррагинина в кишечнике активизируется перекисное окисление липидов (концентрация ТБК-активных продуктов возрастает в 3,5 раза), что связано с увеличением образования активных форм кислорода (АФК). Выявлено, что в гомогенатах ткани при экспериментальном гастроэнтероколите снижается активность эндотелиальной NO-синтазы и индуцибельной NO-синтазы, увеличивается уровень эндотелина-1, что можно расценивать как проявления эндотелиальной дисфункции. Активность протеинкиназы, регулирующей апоптотический сигнал, повышается в 2,5 раза. Активность же ПАРП снижается в 3 раза. Возрастает концентрация фрагментированной ДНК.

Выводы. Полученные нами экспериментальные данные позволяют предложить следующие механизмы развития гастроэнтероколита: развитие эндотелиальной дисфункции, тканевой гипоксии и активации продукции АФК, что, в свою очередь, через протеинкиназу-1 активирует протеинкиназы-2, 3, 6, способствуя разрушению ПАРП, необходимой для репарации ДНК.

ИСКУССТВЕННАЯ АТМОСФЕРА: ВЛИЯНИЕ НА РАЗВИТИЕ, СТАРЕНИЕ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПРИ СТРЕССАХ

Толстун Д.А., Безруков В.В., Тимченко А.Н., Мурадян Х.К.

ГУ «Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева» НАМН Украины, г. Киев.

Актуальность. В ходе эволюционного развития газовый состав атмосферы подвергался существенным качественным и количественным изменениям, среди которых наиболее важными представляются резкие и нередко разнонаправленные изменения содержания наиболее важных для жизнедеятельности газов - O_2 и CO_2 . Так, согласно существующим оценкам, в еще недавнем по эволюционным меркам прошлом CO_2 в сотни раз превосходил по содержанию O_2 , тогда как в современной атмосфере эта величина, в целом, сохранилась, но уже в противоположном соотношении – содержание O_2 в сотни раз превосходит CO_2 . Сумели ли виды, выжившие в, так называемых, кислородных катастрофах и дошедшие до наших дней, полностью адаптироваться к новым условиям, и, если нет, каковой должна быть оптимальная искусственная атмосфера (ИА). Нет необходимости также убеждать в том, сколь велика важность ИА для дальнейшего прогресса целого ряда медико-биологических и прикладных дисциплин, в том числе для освоения одинаково притягательных и многообещающих глубин океана и космоса. Цель работы – изучить влияние ИА на особенности старения и выживаемость в стрессовых ситуациях.

Материал и методы. Учитывая скрининговый характер поиска и необходимость большого объема работ, исследования были проведены на избранном объекте генетики и геронтологии – дрозофилах. В работе использованы несколько сот тысяч имago и личинок *D. melanogaster* линии Орегон. ИА моделировали добавлением к воздуху различных концентраций O_2 , CO_2 , N_2 , H_2 , He, Ar, NH_3 и др. Была разработана батарея из 10 тестов для оценки жизнеспособности в сублетальных стрессовых ситуациях (тепловом шоке, окислительном стрессе, экстремальной гипероксии, гипоксии и гиперкапнии, ультрафиолетовом облучении, кислотном и щелочном нагрузках, голодании и др.). Некоторые варианты опытов проведены на молодых и старых мышах и хомячках разных видов.

Результаты. Показано, что оптимальные варианты ИА способны обеспечивать существенное повышение выживаемости на различных этапах развития и старения. Такие сдвиги, как правило, сопровождаются ростом жизнеспособности в стрессорных условиях и адекватными изменениями основных детерминантов долголетия.

ВПЛИВ СОЦІАЛЬНОГО СТРЕСУ НА ОСОБЛИВОСТІ ДИФЕРЕНЦІОВАННЯ $CD25^+FOXP3^+$ T- РЕГУЛЯТОРНИХ КЛІТИН ЗГРУПОВАНИХ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ КЛУБОВОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЛІНІЇ ВІСТАР

Топол І.О., Камишний О.М.

Запорізький державний медичний університет.

Ситуація в українському суспільстві характеризується високим рівнем напруги, нестабільністю навколишнього оточення, при яких соціально-стресові умови набувають затяжного характеру, що не може не позначатися на стані імунної системи. Хронічний соціальний стрес здатен викликати значні порушення у функціонуванні вродженого та адаптивного імунітету, які проявляються дисбалансом прозапальних та регуляторних субпопуляцій Т-хелперів та є одними з факторів ризику розвитку в подальшому аутоімунних захворювань (АІЗ). Разом з тим, численні дослідження

свідчать, що важливу роль у забезпеченні імунологічної ауто толерантності відіграє популяція натуральних CD25⁺Foxp3⁺ регуляторних Т-клітин (pTreg), елімінація або інактивація яких викликає розвиток важких АІЗ.

Дослідження проведені на 48 самках щурів лінії Wistar, у яких моделювали хронічний соціальний стрес (перенаселення та соціальна ізоляція). CD25⁺Foxp3⁺ Т-регуляторні клітини виявляли у серійних гістологічних зрізах клубової кишки методом подвійної імуофлюоресцентної реакції (ПІР) з МКАТ до CD25 та транскрипційного фактору Foxp3 і наступним аналізом з допомогою комп'ютерної програми ImageJ (NIH, США).

Встановлено, що внаслідок соціального стресу змінюється щільність популяції pTreg-клітин різних класів у 3 досліджуваних морфологічних зонах згрупованих лімфоїдних вузликів клубової кишки щурів: лімфоїдних вузликів, міжвузликів і субепітеліальній, а також у власній пластинці слизової оболонки кишкових ворсинок. При цьому використання методу ПІР дозволило більш ефективно ідентифікувати pTreg і відрізнити їх від індукційних клітин (iTreg), які характеризуються низьким рівнем або повною відсутністю експресії транскрипційного фактора Foxp3 і високим рівнем експресії CD25 (CD25^{high}). Тому, використовуючи лише поверхневий маркер CD25 неможливо встановити походження цих клітин.

Таким чином, виявлені нами дані щодо змін кількості pTreg-клітин у кишково-асоційованій лімфоїдній тканині щурів, які піддавалися дії хронічного стресу, можуть бути одними з факторів, що зміщують баланс Т-хелперів в бік прозапальних субпопуляцій Th1 і Th17-лімфоцитів, здатних викликати розвиток АІЗ.

ГОРМОНАЛЬНИЙ ФОН ГЕНЕТИЧНО ДЕТЕРМІНОВАНИХ SHR САМИЦЬ ЩУРІВ НА ТЛІ ВАГІТНОСТІ

Торянік Е.Л.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Актуальність. Гормонодіагностика – один із важливіших методів обстеження при фактично любых захворюваннях нейроендокринної системи. Однак, відомостей про вміст гормонів та їх динаміку у генетично детермінованих щурів (лінія SHR) в період вагітності в доступній нам літературі ми не зустрічали.

Мета роботи – визначення в плазмі крові SHR самиць щурів гормонів, які впливають на перебіг та результат вагітності.

Матеріали і методи. В експерименті використовували 4 групи щурів: SHR самиці щурів (гіпертензивний контроль), вагітні SHR самиці щурів, самиці щурів лінії Вістар (інтактний контроль) і вагітні самиці щурів лінії Вістар. Маса тварин 200,0–220,0 г. Гормони (естрадіол, тестостерон, лютеїнізуючий і фолікулоstimулюючий) досліджували імуноферментним методом за допомогою стандартних комерційних імуноферментних наборів для щурів фірми «Алкор БІО» (Росія). Вимірювання проводили за допомогою імуноферментного аналізатора Stat Fax. У вагітних SHR самиць щурів гормони визначали на 19–20 день гестації.

Результати та їх обговорення. При аналізі даних, які ми отримали, визначено, що на тлі вагітності у самиць щурів лінії Вістар відбувається зниження ЛГ і ФСГ, рівень естрадіолу в плазмі крові на 19–20 день гестації підвищується. У тварин гіпертензивного контролю (невагітні самиці щурів) кількість естрадіолу збільшилася на 40 %, концентрація тестостерону перевищувала інтактний контроль в 2,5 рази, також відбувалося зниження ЛГ і ФСГ. У вагітних SHR самиць щурів концентрація ФСГ знижувалася до рівня, що не визначався, а концентрація ЛГ знизилася на 20 % в порівнянні з гіпертензивним контролем. Кількість естрадіолу збільшилася на 70 % в порівнянні з інтактним контролем і на 58 % в порівнянні з гіпертензивним контролем. Концентрація тестостерону збільшилася майже в 3,8 рази в порівнянні з групою інтактного контролю і в 4,2 рази в порівнянні з групою гіпертензивного контролю.

Висновки. Вагітність у самиць щурів з артеріальною гіпертензією змінює гормональний фон, у зв'язку з чим уповільнюються процеси забезпечення циклічних змін в організмі (разом з ФСГ і ЛГ).

ЕКСПРЕСІЯ МІКРО-РНК ПРИ СИСТЕМНОМУ ЧЕРВОНОМУ ВОВЧАКУ

Трубінова Н.М., Гнилорібов А.М., Полулях О.Є., Бондарєва О.О., Ріджок В.В., Петренко І.А.

ДУ «Інститут невідкладної та відновної хірургії ім. В.К.Гусака НАМНУ», м. Донецьк.

Актуальність. При системному червоному вовчаку (СЧВ) спостерігається виражена імунна відповідь, спрямована проти власних антигенів сполучної тканини. Вона регулюється генною експресією на багатьох рівнях, включаючи мікро-РНК та інші механізми регуляції. Мікро-РНК (мкРНК) – група коротких РНК, що не кодують первинну структуру білка і здатні регулювати експресію генів. Дисрегуляція експресії цих молекул може бути маркером багатьох патологічних процесів, зокрема аутоімунних та онкологічних. Метою дослідження було проаналізувати особливості експресії мкРНК у хворих на СЧВ.

Матеріал та методи. Було обстежено 16 пацієнтів з СЧВ і 10 відносно здорових осіб. Експресію 10 форм мкРНК визначали в мононуклеарах, які виділяли на фікол-градієнті з 5 мл венозної крові. Для екстракції мкРНК використовували набори NucleoSpin® miRNA (MACHEREY-NAGEL, Німеччина), для проведення зворотньої транскрипції – TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, США). Ампліфікацію здійснювали з використанням праймерів TaqMan® MicroRNA Assays і буфера TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, США) у приладі Real-time PCR ROTOR GENE 6000. Рівень відносної експресії мкРНК оцінювали щодо рівня експресії малих ядерних РНК (мяРНК) у зразку за стандартною формулою: $RE = 2^{-\Delta\Delta Ct}$. Результати обробляли з використанням програми Statistica 6.0.

Результати. Було встановлено, що існують відмінності в рівнях експресії різних мкРНК в нормі та при СЧВ. Так при СЧВ був підвищений рівень експресії наступних мкРНК: miR-155 ($p < 0.01$), miR-16 ($p < 0.01$), miR-203 ($p < 0.05$),