Земченкова О.В.**Влияние аутологичной плазмы крови на интенсивность пероксидного окисления липидов в нативных и фотомодифицированных лимфоцитах***Воронежский государственный университет им. Н.Н. Бурденко
(Россия, Воронеж)*

doi: 10.18411/sr-10-12-2017-69

idsp: 000001:sr-10-12-2017-69

Аннотация

Исследовано влияние УФ-света (240-390 нм) в дозах 151 и 755 Дж/м² на интенсивность процессов пероксидного окисления липидов лимфоцитов крови доноров в отсутствие и в присутствии аутологичной плазмы крови. Показано, что при инкубации УФ-облученных лимфоцитов в присутствии аутологичной плазмы происходит снижение интенсивности и светосуммы спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции. В результате это приводит к защите клеток от развития окислительного стресса и к регулированию концентраций АФК, необходимых для поддержания функционального состояния лимфоцитов при УФ-облучении.

Ключевые слова: лимфоциты, УФ-облучение, пероксидное фотоокисление липидов, аутологичная плазма.

Для стимуляции в организме пролиферативных процессов (репаративной регенерации тканей, гемопоэза, иммуногенеза) современная медицина широко использует различные методы светолечения [1]. При лечении ряда заболеваний воспалительного генеза хорошо зарекомендовал себя метод аутоотрансфузии УФ-облученной крови (АУФОК), объектами непосредственного воздействия которого являются все компоненты крови, в том числе иммуннокомпетентные клетки. Однако до настоящего времени остаются малоизученными многие аспекты физико-химических механизмов лечебного эффекта фотомодифицированной крови. Предполагается, что передача вызванных светом изменений от фотомодифицированных клеток к интактным является следствием образования облученными лейкоцитами активных форм кислорода (АФК) и немедленной инициации каскада АФК-образующих реакций в объеме всей циркулирующей крови [1, 2].

Установлено, что УФ-облучение изолированной крови индуцирует многообразные структурно-функциональные изменения как клеток, так и плазмы [1]. Известно, что непосредственно после УФ-облучения суспензии лимфоцитов происходит дозозависимое увеличение уровня пероксидного фотоокисления липидов [3] за счет фотоиндуцированного образования активных форм кислорода (АФК). Последние принимают участие во внутриклеточной и межклеточной передачах активационного сигнала [4]. Кроме того, важную роль в межклеточной сигнализации играют полипептидные ростовые факторы, которые могут инициировать множественные эффекты: от процессов регуляции роста, дифференцировки и экспрессии генов до инициирования апоптоза. Выявлено, что дефицит факторов роста воспринимается клеткой как сигнал к апоптозу. Так, культивирование лимфоцитов в бессывороточной питательной среде, лишенной ростовых факторов, индуцировало гибель половины количества клеток здоровых доноров путем апоптоза [5]. В работе [6] показано, что при культивировании УФ-облученных лимфоцитов с аутологичной облученной плазмой крови клетки не обнаруживают такого увеличения числа хромосомных нарушений и такого подавления пролиферативного ответа на митоген, какие регистрируются при культивировании с необлученной плазмой.

Материалы и методы

Выделение лимфоцитов из периферической крови доноров осуществляли путем ее центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho=1,077$ г/см³). УФ-

облучение лимфоцитов ($2 \cdot 10^6$ клеток/мл) проводили при их непрерывном перемешивании магнитной мешалкой в термостатируемой кювете (20 ± 1 °C) с помощью ртутно-кварцевой лампы типа ДРТ-400 через светофильтр УФС-1 с полосой пропускания 240–390 нм в течение 5 минут. Интенсивность облучения – $151 \text{ Дж}/(\text{м}^2 \cdot \text{мин})$. Объем вносимого в кювету образца составил 2 мл. Нативные и облученные лимфоциты инкубировали в питательной среде RPMI-1640 без добавления и с добавлением 18 % аутологичной необлученной плазмы при температуре 37 °C в атмосфере с $[\text{CO}_2] = 5\%$. Об интенсивности процессов пероксидного окисления липидов (ПФОЛ) судили по уровню спонтанной (нестимулированной) люминолзависимой хемилюминесценции. Регистрацию проводили в течение 500 с на биохемилюминометре БХЛ-06М, оценивали максимальную интенсивность и светосумму хемилюминесценции.

Результаты исследований

Непосредственно после УФ-облучения суспензии лимфоцитов в дозах 151 и 755 Дж/м² происходит дозозависимое увеличение уровня спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции за счет фотоиндуцированного образования АФК: максимальная интенсивность хемилюминесценции повышается на 15 и 45 % (рис. 1 А), светосумма хемилюминесценции – на 28 и 67 % (рис. 1 Б) соответственно дозам облучения относительно нативных клеток.

Повышение интенсивности ПОЛ в УФ-облученных клетках связывают, главным образом, с фотоиндуцированным образованием АФК [7]. Последние генерируются в клетках как побочные продукты целого ряда метаболических путей, но существует специальный механизм их образования, связанный с функционированием в плазматической мембране ферментативного NADPH-оксидазного комплекса. В настоящее время NADPH-комплекс обнаружен в лимфоцитах (помимо моноцитов, макрофагов, нейтрофилов) [8]. По-видимому, УФ-излучение может прямо активировать НАДФН-оксидазу, так как, будучи флавоцитохромом, этот нуклеотид содержащий гетерополимер имеет характеристическое поглощение в видимой и УФ-области спектра. Возможно также ускорение сборки НАДФН-оксидазного комплекса в результате УФ-модификации субклеточных структур.

Рис. 1. Влияние УФ-облучения на интенсивность (А) и светосумму (Б) хемилюминесценции лимфоцитов

В результате фотоактивации мембранного NADPH-оксидазного комплекса образуются АФК, которые инициируют каскад АФК-образующих реакций в объеме всей циркулирующей крови и принимают участие во внутриклеточной и межклеточной передачах активационного сигнала [4]. Способность АФК к диффузии позволяет им

осуществлять межклеточные взаимодействия, изменять микроокружение и таким образом вовлекать в реакцию на световой стимул целые сообщества клеток и биомолекул [9].

В ходе суточной инкубации в отсутствие аутологичной плазмы крови наблюдается повышение светосуммы хемилюминесценции как у нативных, так и у фотомодифицированных в дозах 151 и 755 Дж/м² лимфоцитов (рис. 2 Б).

Рис. 2. Изменение интенсивности (А) и светосуммы (Б) хемилюминесценции лимфоцитов при различных условиях инкубации (1 – лимфоциты непосредственно после выделения; 2, 3 – лимфоциты после 24-часовой инкубации в отсутствие и в присутствии плазмы соответственно)

При 24-часовой инкубации как нативных, так и фотомодифицированных лимфоцитов в присутствии аутологичной плазмы происходит снижение интенсивности (на 22 и 28 %) и светосуммы (на 30 и 35 %) хемилюминесценции соответственно используемым дозам облучения (рис. 2 А, Б).

Кроме того, при добавлении плазмы к УФ-облученным в дозе 151 Дж/м² клеткам уровень ПОЛ не отличается от значений, характерных для лимфоцитов непосредственно после их выделения из крови, а в случае с фотомодифицированными в дозе 755 Дж/м² лимфоцитами уровень ПОЛ значительно ниже, чем при инкубации клеток в отсутствие плазмы.

Таким образом, поскольку интенсивность и светосумма хемилюминесценции характеризуют уровень ПОЛ в суспензии клеток (клеточных мембран), можно говорить о том, что при инкубации клеток в присутствии плазмы крови (а, следовательно, ростовых факторов и антиоксидантов) интенсивность протекания процессов окисления компонентов мембран клеток крови не изменяется в сравнении с условиями *in vivo*. По-видимому, происходит перехват антиоксидантами плазмы образующихся при УФ-облучении свободных радикалов. Присутствие ростовых факторов в плазме крови запускает процессы синтеза белка и обновления липидного бислоя, что также может поддерживать интенсивность процессов ПОЛ на исходном уровне.

1. Карандашов В.И. Фототерапия / В.И. Карандашов, Е.Б. Петухов, В.С. Зродников – М.: Медицина, 2001. – 392 с.
2. Дубинина Е. Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса / Е. Е. Дубинина // *Вопр. мед. химии.* – 2001. – Т. 47. № 6. – С. 561-581.
3. Особенности метаболизма УФ-облученных лимфоцитов / В.Г. Артюхов, О.В. Земченкова, О.В. Башарина, Я.В. Ким // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2011. – Т. 51, № 2. – С. 252-257.

4. Reth M. / Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation / M. Reth // Nature Immunol. – 2002. – Vol. 3. – P. 1129-1134.
5. Модуляция программируемой гибели лимфоцитов периферической крови при хронической вирусной инфекции / О.Б. Жукова, Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий, Т. Т. Радзивил, Л. С. Литвинова, Н. Ю. Часовских // Цитология. – 2007. – Т. 49, № 1. – С. 26-31.
6. Стимуляция репарации ДНК растворимыми факторами фотомодифицированной крови в клетках человека, поврежденных УФ- и ионизирующей радиацией / О.И. Зубанова, С.А. Снопов, В.М. Михельсон, К.А. Самойлова // Цитология. – 2002. – Т. 44, № 5. – С. 463-469.
7. Клеточные механизмы прайминга и активации фагоцитов // Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. // Успехи совр. биол. – 1999. – Т. 119, № 5. – С. 462-475.
8. Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology / N. Griendling [et al.] Griendling K.K., Sorescu D., Lassegue B., Ushio-Fukai M. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2000. – Vol. 20. – P. 2175-2185.
9. Повышение ростостимулирующей активности крови человека после облучения / Богачева О.Н., Самойлова К.А., Жеваго Н.А., Оболенская К.Д., Блинова М.И., Калмыкова Н.В., Кузьминых Е.В. // Цитология. – 2004. – Т. 46, № 2. – С. 159-171.

Козлов В.А.¹, Плещечник М.А.²

Разрушение ископаемой древесины в анаэробных условиях

¹*Институт леса Карельского научного центра РАН
(Россия, Петрозаводск)*

²*Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения РАН
(Россия, Красноярск)*

doi: 10.18411/sr-10-12-2017-70

idsp: 000001:sr-10-12-2017-70

Аннотация

Исследованы изменения в структуре ископаемой (археологической) древесины (XIV-XIX вв.) после длительной экспозиции в анаэробных условиях. Показано, что разрушение вторичных оболочек клеточных стенок трахеид наблюдается в заболонной древесине после 100-летней, а в ядровой - после 600-летней экспозиции. Отмечается, что в образцах присутствуют повреждения, вызываемые дереворазрушающими грибами.

Ключевые слова: археологическая древесина, сосна обыкновенная, бактерии, дереворазрушающие грибы, анаэробные условия

Abstract

Changes in the structure of fossil (archaeological) wood (XIV-XIX cc.) after a long exposure in anaerobic conditions are investigated. It is shown that the destruction of the secondary cell walls is observed in sapwood after 100 years and in heartwood after 600 years of exposure. It is noted that in the samples the damages caused by wood-destroying fungi were observed.

Keywords: Scots pine, bacteria, wood-destroying fungi, anaerobic service conditions.

Древесина – традиционный строительный материал, из которого возводились дома, храмы, плотины и причалы. Большое количество исторических домов в Венеции (Италия), Архангельске и Санкт-Петербурге (Россия), Амстердаме и Роттердаме (Нидерланды), Берлине, Гамбурге, Бремене и Лейпциге (Германия), а также в Лондоне (Великобритания) стоят на свайных фундаментах, долговечность которых доказана временем. Однако в последнее время вследствие изменения уровня грунтовых вод количество разрушений таких фундаментов в Европе выросло [1].

Исследования показали, что при длительной экспозиции в анаэробных условиях происходят изменения в структуре древесины, связанные с разрушением вторичных оболочек клеточных стенок [2, 3], что, как следствие, приводит к утрате прочностных свойств [4, 5]. В конце 1990-х гг. было доказано, что гидролиз гемицеллюлоз, а на более