



BY0200176

5. Gompel C., Silverberg S.G. Pathology in gynecology and obstetrics. -Philadelphia: J.B.Lippincott Company, 1994.-700 pp.  
6. Kurman R. Blaustein's pathology of the female genital tract. -New York: Springer-Verlag, 1987.-959 pp.

## ВЛИЯНИЕ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА УРОВЕНЬ цАМФ В ТИМОЦИТАХ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО -ОБЛУЧЕНИЯ

Пухтеева И.В., Герасимович Н.В., Милютин А.А., Шуляковская С.М.

*Международный экологический университет им. А.Д. Сахарова,  
Институт биоорганической химии НАН РБ, Минск, Республика Беларусь*

THE INFLUENCE OF DEXAMETHASONE ON THE LEVEL OF THE cAMP IN THYMOCYTES OF RATS AFTER AN ACUTE AND CHRONIC  $\gamma$ -EXPOSURE. The radio-immune method was used for investigating the level of the cAMP in the thymocytes of rats on the 30<sup>th</sup> day after an acute and chronic  $\gamma$ -exposure to dose of 1,0 Gy. It was discovered that chronic  $\gamma$ -exposure to dose 1,0 Gy caused the change in the level of the intracellular cAMP. We can propose that the influence of  $\gamma$ -irradiation probably may initiate the modification of the system of the cyclic nucleotides.

Согласно современным представлениям, молекулярные механизмы воздействия глюкокортикоидных гормонов на клетки-мишени основаны на их взаимодействии с плазматическими мембранами данных клеток с последующей активацией экспрессии отдельных генов [1]. К настоящему времени установлено, что некоторые стероидные гормоны (андрогены, эстрогены, минералкортикоиды) способны регулировать активность мембранных рецепторов (серотониновых, ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов), а также модулировать ферментативную активность тирозинкиназы, аденилатциклазы, фосфолипазы С и сопряженных с ними систем вторичных мессенджеров [2]. Кроме того, получены сведения об участии мембранных рецепторов эстрогенов и прогестина в регуляции активности мембраносвязанных ферментов аденилатциклазы, протеинкиназы С в норме и при опухолевом росте [3]. Исследования ряда ученых показали влияние глюкокортикоидов на изменение аденилатциклазной активности как интактных клеток отдельных органов и тканей, так и в бесклеточной системе, содержащей плазматические мембраны [4]. Кроме того, на отдельных клетках установлено, что состояние системы циклических нуклеотидов может подвергаться значительной модификации при действии высоких доз ионизирующего излучения [5].

Биохимические реакции, развивающиеся в клетках иммунной системы после воздействия облучения, могут приводить либо к их гибели, либо к формированию ответной функциональной реакции. Однако механизмы радиационно-индуцированных нарушений процессов метаболизма в вышеуказанных клетках изучены недостаточно. Один из возможных подходов к выяснению цепи биохимических событий, развивающихся на начальных этапах действия малых доз ионизирующего излучения, - определение динамики изменения содержания метаболитов, способных участвовать в формировании сигнала в клетках иммунной системы [6].

В связи с вышеуказанным, целью данной работы явилось изучение влияния дексаметазона на уровень одного из основных вторичных посредников внутриклеточного цАМФ в тимоцитах контрольных и облученных животных в отдаленные сроки после острого и хронического  $\gamma$ -облучения.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводились на тимоцитах контрольных и облученных крыс. Облученные животные брались в опыт на 30-е сутки после острого и хронического  $\gamma$ -облучения в дозе 1 Гр. Облучение проводилось от цезиевого источника при мощности дозы  $2 \cdot 10^{-4}$  Гр/с и  $5,8 \cdot 10^{-7}$  Гр/с, соответственно. Клетки тимуса выделяли по методу, описанному ранее [7]. Для изучения влияния дексаметазона препарат (1 мкмоль/л) добавляли к суспензии клеток, находящихся в фосфатном буфере (рН 7,4) ( $10^6$  клеток/мл) и инкубировали 120 минут (37°C). Содержание цАМФ в тимоцитах крыс определяли радиосиммунным методом с использованием стандартных наборов (ИБОХ АН РБ), как описано в работе [4].

**Результаты и обсуждение.** Базальный уровень цАМФ в тимоцитах контрольных животных составлял  $0,76 \pm 0,03$  пмоль/ $10^6$  клеток. На 30-е сутки после острого облучения в дозе 1 Гр этот показатель не отличался от контроля. При исследовании содержания цАМФ в тимоцитах после хронического облучения было обнаружено увеличение данного показателя в 2 раза по сравнению с контролем.

Полученные данные подтверждают уже имеющиеся результаты экспериментов [8], в которых отмечается, что изменение ферментативной активности аденилатциклазной системы наблюдается при облучении организмов в очень малых дозах (1,0 сГр) только при хроническом облучении на 14-е и 28-е сутки.

Можно предположить, что этот эффект, возможно, связан с различием в действии адапционных систем организма на состояние клеток иммунной системы в отдаленные сроки после воздействия ионизирующего излучения разной интенсивности.

В последующих сериях наших экспериментов прединкубация суспензии тимоцитов контрольных животных в течение 2 часов в присутствии дексаметазона (1 мкмоль/л) приводила к снижению концентрации цАМФ до  $0,27 \pm 0,04$  пмоль/ $10^6$  клеток.

При анализе результатов исследования содержания цАМФ в присутствии дексаметазона в тимоцитах облученных крыс оказалось, что хроническое облучение вызывает увеличение этого показателя, в то время как при остром облучении не было обнаружено эффектов данного препарата.

Причиной этому, вероятно, является показанное нами ранее различное влияние малых доз острого и хронического  $\gamma$ -облучения на физико-химическое состояние плазматических мембран тимоцитов крыс [9], приводящее, по-видимому, к изменению конформации основных мембраносвязанных компонентов аденилатциклазной системы [8].

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что изменение уровня цАМФ под влиянием дексаметазона в тимоицитах контрольных и облученных животных имеет разнонаправленный характер в зависимости от интенсивности радиационного воздействия.

### Литература

1. Сергеев П.В., Духанин А.С. и др. // Бюл. exper. биол. и мед.-1991- №1, с. 44-46.
2. Духанин А.С. Мембранные механизмы фармакологических эффектов глюкокортикоидов. Автореферат диссерт. ... д.м.н. М. 2001. 52С.
3. Калинин Г.В., Духанин А.С. // Фармакол. и токсикол. -- 1987 - №3, с. 64-66.
4. Сергеев П.В., Духанин А.С., Патрашев Д.В., Никитин В.Б. // Иммунология – 1998 - №1, с. 18-21.
5. Соболев А.С. Радиационная биохимия циклических нуклеотидов. М., Энергоатомиздат. 1987. 100С.
6. Кучеренко Н.Е., Матышевская О.П., Остапенко Л.И. и др. // Радиобиология – 1991 - №5, с. 739-742.
7. Хант С., Мейсон Д. Лимфоциты. Методы. М., Мир. 1990. 283С.
8. Руда В.П., Кузин А.М. // Радиобиология – 1991 - № 5, с. 743-746.
9. Прищеп С.Г. Влияние малых доз ионизирующего излучения на механизмы регуляции внутриклеточного кальция в радиочувствительных клетках организма. Автореферат диссерт. ...к.б.н. Мн. 2001. 24С.

## ВЛИЯНИЕ ПРИСУТСТВИЯ ЛЕКТИНА КОНКАНАВАЛИНА А НА ОТДЕЛЬНЫЕ ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ

Радилович О.Р.

*Международный экологический университет им. А.Д. Сахарова, Минск, Республика Беларусь*

EFFECTS OF CONCAVALIN A ON THE INDIVIDUAL PHYSICAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES. The aim of the present work was to appreciate morphological features of erythrocytes membranes by the influencing of the concanavalin A in different concentrations. In the results of experiments was determined that increase of concanavalin A concentration results in to rising of deformation index values. In work was produced that concentration of cells decrease after their filtration and demonstrated that the concanavalin A molecules are capable to cause the increase of cells membranes osmotic resistens.

Изучение различных механизмов осуществления процессов регуляции в клетке является одной из основных проблем современной биологии. Процессы регуляции физиологической активности внешними по отношению к клетке факторами происходят при непосредственном и активном участии белковых макромолекул и тесно связаны с их структурной организацией. Эти белковые молекулы, как правило, входят в состав отдельных клеточных структур, таких, как мембраны и цитоскелет, взаимодействие которых обеспечивает согласованность многообразных процессов, происходящих в клетке. Наибольший интерес из всех периферических белков плазматической мембраны представляет белок субмембранного цитоскелета - спектрин. Он составляет 30% от всех белков мембраны эритроцита. Спектрин, взаимодействуя с группой белков, образует на внутренней поверхности клеточной мембраны сеть, которая определяет форму клетки, ограничивает подвижность связанных с ней рецепторных групп и отвечает за ряд физиологических свойств клетки, в том числе и за события генерализации трансмембранной передачи сигнала. Уже хорошо изучена и предоставлена роль цитоскелета не только в структурной организации клетки, но и в регуляции ряда ее физиологических процессов, таких, например, как трансмембранная передача сигнала.

Большое количество работ посвящено выяснению структурно-мембранных аспектов действия универсального поликлонального митогена конканавалина А (Кон А). Каждая из субъединиц этого белка имеет специфический участок для связывания с гликопротеидным рецептором на поверхности плазматической мембраны клеток различного гистологического происхождения. Следовательно, Кон А может рассматриваться как биологически активное соединение рецепторного типа действия.

В настоящей работе сделана попытка показать существование связи между присутствием митогенно активирующей концентрации Кон А и изменениями в цитоскелете эритроцитов, детектирующимся по показателям деформируемости и осмотической устойчивости клеток.

Установлено, что Кон А, комплексирующийся с наружными рецепторами, вызывает агрегацию каркасного белка спектрина, расположенного на противоположной, цитоплазматической, стороне мембраны эритроцита. Более того, сигнал дальнего действия передается и в противоположном направлении. Перестройка в мембране приводит к изменению осмотической устойчивости целых эритроцитов.

**Методы.** Объектом исследования были эритроциты венозной крови здоровых доноров. В качестве действующего агента был использован Кон А. Было исследовано действие следующих концентраций Кон А: 2,5 мкг/л, 5 мкг/л, 10 мкг/л, 20 мкг/л, 30 мкг/л, 40 мкг/л (всего 6 концентраций). Время инкубации клеток с Кон А во всех случаях составляло 15 мин. Деформируемость оценивали с помощью фильтрационного метода, а подсчет эритроцитов производили под микроскопом с использованием камеры Горяева в расчете на 1 л. Индекс деформируемости рассчитывался как кратное количества клеток, не прошедших сквозь фильтр и общего количества клеток в пробе, умноженное на 100%.

**Результаты.** Данные, полученные в ходе исследования способности эритроцитов к прохождению через фильтры, после воздействия на них Кон А, показали, что этот препарат оказывает модулирующее действие на цитоскелет: наблюдается заметное снижение количества клеток, пропускаемых фильтром, после воздействия на них Кон А. Кроме того, при увеличении концентрации действующего митогена число клеток, пропускаемых фильтрами, постепенно уменьшалось.