

ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

**ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. И.П. ПАВЛОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

**ИНСТИТУТ ОПТИКИ АТМОСФЕРЫ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

**ООО "ИНСТИТУТ ПРИКЛАДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И
ТЕХНОЛОГИЙ"**

**ФИЗИОЛОГИЯ, МЕДИЦИНА, ФАРМАКОЛОГИЯ.
ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ, ТЕОРИЯ, ПРАКТИКА**



Том 1

**СБОРНИК СТАТЕЙ
ЧЕТВЕРТОЙ МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
"ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ, ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ В ФИЗИОЛОГИИ, МЕДИЦИНЕ, ФАРМАКОЛОГИИ"**

15–16 ноября 2012 г., Санкт-Петербург, Россия

Под редакцией А.П. Кудинова, Б.В. Крылова

**Санкт-Петербург
Издательство Политехнического университета
2012**

что находит отражение в пролонгации второй фазы интегрального тока, его слабой чувствительности к блокаторам калиевых и хлорных каналов.

Литература

1. Кубасов И. В., Добрецов М. Г. Характеристика распространяющихся потенциалов действия, регистрируемых в различных участках скелетных мышечных волокон лягушки R. TEMPORARIA // Ж. эвол. биохим. и физиол. — 2011. — Т.47, №5. — С. 414–416.
2. Кубасов И.В., Добрецов М.Г. Влияние бария и оубаина на электрогенез в различных участках интактных и детубулированных скелетных мышечных волокон лягушки R. TEMPORARIA // Ж. эвол. биохим. и физиол. — 2012. Т.48, №4. — С. 360–366
3. Кубасов И. В., Арутюнян Р. С. Исследование и анализ распределения хлорных каналов на поверхностной мембране и на мембране т-трубочек скелетных мышечных волокон лягушки // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. — 2012. Т.98, №9. — С. 1149–1158.
4. Brigant J.L., Mallart A. Presynaptic currents in mouse motor ending // J. Physiol. — 1982. — Vol.333. — P.619–636.
5. Kano M. Development of excitability in embryonic chick skeletal muscle cells // J. Cell Physiol. Cell Physiol. — 1975. — Vol.86. — P. 503–510.
6. Kubasov I.V., Dobretsov, M.. Two types of extracellular action potentials recorded with narrow-tipped pipettes in skeletal muscle of frog, Rana temporaria. // J. Physiol. — 2012. — Vol. 590. — P.937-2944
7. McKenna M.J., Bangsbo J., Renaud J.M. Muscle K^+ , Na^+ , and Cl^- disturbances and Na^+ - K^+ pump inactivation: implications for fatigue // J. Appl Physiol. — 2008. — V.104.—P. 288–295,
- 8/ Mallart A. Calcium-activated potassium current in motor nerve terminals of the mouse // J. Physiol. — 1985. — Vol.368. — P. 577–591.
9. Wolters H., Wallinga W., Ypey D.L., Boom H.B.K. Ionic current during action potential in mammalian skeletal muscle fibers analyzed with loose patch clamp // Am. J. Physiol. Cell Physiol. — 1994. — Vol.267. — P. 1699–1706.

**Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Наумова А.А., Антонов В.Г.
УЧАСТИЕ ПРОЦЕССОВ ВЕЗИКУЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА В
ДЕЙСТВИИ ГЛУТОКСИМА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ
КОНЦЕНТРАЦИЮ Ca^{2+} В МАКРОФАГАХ**

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

**Kurilova L.S., Krutetskaya Z.I., Naumova A.A., Antonov V.G.
THE INVOLVEMENT OF VESICULAR TRANSPORT IN THE EFFECT OF
GLUTOXIM ON INTRACELLULAR Ca^{2+} -CONCENTRATION IN
MACROPHAGES**

Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

Реферат

С использованием флуоресцентного Ca^{2+} -зонда Fura-2AM и брефельдина А, инактивирующего малые G-белки семейства Arf, показано участие везикулярного транспорта в действии глутоксима на процессы Ca^{2+} -сигнализации в макрофагах. Полученные результаты позволяют предположить, что глутоксим может индуцировать Ca^{2+} -зависимый экзоцитоз секреторных везикул в макрофагах.

Ключевые слова: макрофаги, глутоксим, везикулярный транспорт.

Abstract

Using FURA-2AM microfluorimetry and small GTPase of Arf family inhibitor brefeldin A the involvement of vesicular transport in the effect of glutoxim on Ca^{2+} -signalization processes in macrophages was shown. The results suggest that glutoxim may induce Ca^{2+} -dependent exocytosis of secretory vesicles in macrophages.

Key words: macrophages, glutoxim, vesicular transport.

Ранее нами было показано, что глутоксим вызывает двухфазное увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , $[Ca^{2+}]_i$, связанное с мобилизацией Ca^{2+} из внутриклеточных Ca^{2+} -депо и последующим депо-зависимым входом Ca^{2+} в макрофаги [1]. Кроме того, обнаружено, что глутоксим вызывает трансактивацию рецепторов с собственной тирозинкиназной активностью в мембране макрофагов [1] и запускает комплексный сигнальный каскад, включающий участие фосфатидилинозитол 3- и 4-киназ, фосфолипазы С и протеинкиназы С, малых G-белков семейства Ras, а также актиновых филаментов [2] и микротрубочек [3], приводящий к увеличению $[Ca^{2+}]_i$. Участие микротрубочек в действии глутоксима на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах, позволяет предположить участие везикулярного транспорта в процессе активации макрофагов, запускаемом глутоксимом. Кроме того, существуют данные о том, что глутоксим может вызывать экзоцитоз везикул, содержащих микобактерии туберкулеза в макрофагах [4], включающий участие процессов везикулярного транспорта. В связи с этим, представлялось целесообразным исследовать возможное участие везикулярного транспорта в действии глутоксима на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах.

Объектом исследования служили культивируемые резидентные перитонеальные макрофаги крысы. Для измерения $[Ca^{2+}]_i$ использовали флуоресцентный Ca^{2+} -зонд Fura-2AM. Для выявления возможного участия везикулярного транспорта в действии глутоксима на $[Ca^{2+}]_i$ был использован ингибитор везикулярного транспорта брефельдин А. Брефельдин А инактивирует G-белки малой молекулярной массы семейства Arf, играющие ключевую роль в регуляции везикулярного транспорта в клетках.

В контрольных экспериментах показано, что добавление 100 мкг/мл глутоксима к макрофагам, находящимся в бескальциевой среде, вызывает увеличение $[Ca^{2+}]_i$, отражающее мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных депо, последующее добавление в наружную среду 2 мМ Ca^{2+} индуцирует вход Ca^{2+} в клетку, связанный с опустошением Ca^{2+} -депо. Препринкубация макрофагов со 100 мкМ брефельдина А в течение 1 ч до введения глутоксима, вызывает полное подавление обеих фаз Ca^{2+} -ответа, индуцированного глутоксимом. Результаты

свидетельствуют об участии Arg белков и везикулярного транспорта, опосредующего эндо- и экзоцитоз, в действии глутоксима на $[Ca^{2+}]_i$ в макрофагах, а также о том, что глутоксим может активировать Ca^{2+} -зависимый экзоцитоз секреторных везикул в макрофагах.

Литература

1. Kurilova L.S., Krutetskaya Z.I., Lebedev O.E., Antonov V.G. The effect of oxidized glutathione and its pharmacological analogue glutoxim on intracellular Ca^{2+} concentration in macrophages // Cell and Tissue Biology. -2008. -V. 2, N 3. - P. 322-332.
2. Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Курилова Л.С., Антонов В.Г., Ноздрачев А.Д. Участие актиновых филаментов в действии окисленного глутатиона и препарата глутоксим на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах // Докл. РАН. - 2011. - Т. 346, N 5. - С. 705-708.
3. Курилова Л.С., Крутецкая З.И., Антонов В.Г., Войцехович К.О., Наумова А.А. Микротрубочки модулируют эффект глутоксима и моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} в макрофагах // Третья научно-практическая конференция «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». СПб. - 2012. - Т.1. - С. 279-280.
4. Антушевич А.Е., Антонов В.Г., Василенко К.П., Бутова Е.Б. Возможный механизм устранения антибиотикорезистентности микобактерий туберкулеза препаратом Глутоксим // Первый Всероссийский научный форум «Инновационные технологии медицины XXI века». - 2005. - С. 405-407.

Майоров Е.Е.* , Прокопенко В.Т.** , Тихомирова А.А.* ,
Тюшев В.Е.* , Ушверидзе Л.А.*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ГОЛОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ

*Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, ** Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

Mayorov E.E.* , Prokopenko V.T.** , Tihomirova A.A.* ,
Tushev V.E.* , Ushveridze L.A.*

STUDY THE POSSIBILITY OF USING HOLOGRAPHY TO DETERMINE THE GEOMETRICAL PARAMETERS OF ERYTHROCYTES

*Northwest state medical university named after I. I. Mechnikov
**Saint Petersburg National Research University of Information Technologies,
Mechanics and Optics

Реферат

Показана возможность исследования формы клеток крови в норме и патологии с использованием голографического метода.

Ключевые слова: микроскопия, интерференция, голография, эритроциты.

Abstract

The possibility of using a holographic method for investigation of the shape of blood cells in health and disease is shown.

Keywords: microscopy, interference, holography, erythrocytes.

По данным Всемирной организации здравоохранения в экономически развитых странах смертность от сердечно-сосудистых заболеваний составляет 46% всех случаев летального исхода. Причем среди сердечно-сосудистых заболеваний ведущее место занимает атеросклероз.

Как показали исследования последних лет, одним из симптомов атеросклероза является изменение элементов крови – эритроцитов [1]. В норме эритроциты имеют вид двояковогнутых дисков диаметром около 6-7 мкм. При атеросклерозе в результате встраивания холестерина в мембрану эритроцитов форма эритроцитов изменяется. На рис.1 представлен внешний вид эритроцитов: в норме и при атеросклерозе. Таким образом, анализ формы эритроцитов является важным объективным показателем поражения кровеносных сосудов атеросклерозом.

Для исследования формы эритроцитов в настоящее время используются следующие методы [1-3]:

- оптическая микроскопия;
- электронная микроскопия;
- методы, основанные на контроле изменения индикатрисы рассеяния и электрической проницаемости.

Оптическая микроскопия не позволяет контролировать профиль сечения эритроцитов. Для электронной микроскопии эритроциты являются оптически прозрачными [2]. Поэтому для наблюдения используют покрытие пленкой золота. Относительно измерения индикатрисы рассеяния и электрической проницаемости эти методы дают лишь усредненные статистические характеристики концентрации и размеров эритроцитов.

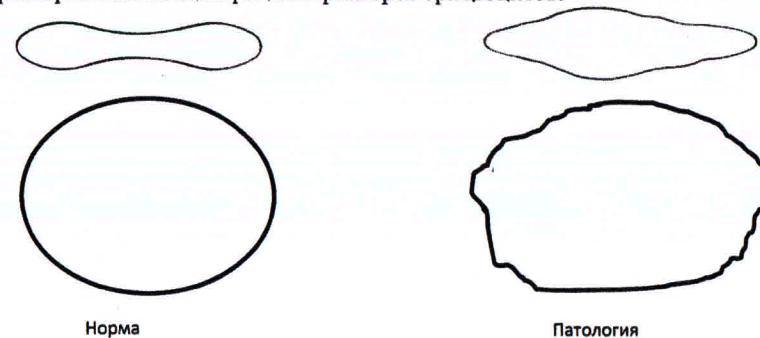


Рис. 1 Формы эритроцитов