

Глинская Н.Д., Сидоров А.В.

Устойчивость ядерной ДНК в клетках центральных нервных ганглиев моллюска *Lymnaea stagnalis* в условиях пролонгированного действия пероксида водорода

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Пероксид водорода рассматривается как возможный участник внутри- и межклеточной коммуникации. С другой стороны, данная молекула может служить источником для генерации гораздо более реакционно-способных активных форм кислорода (АФК), таких как гидроксильный радикал (OH^\cdot), при наличии металлов с переменной валентностью (такие микроэлементы как Fe, Cu) в среде инкубации. Возрастание уровня АФК сопровождается свободно-радикальным повреждением разнообразных внутриклеточных мишеней, в том числе и нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), приводя к гибели клеток. Существенная продукция АФК отмечена в отношении клеток с высоким уровнем метаболизма, в том числе и нервных. Нервная система беспозвоночных функционирует в достаточно широком диапазоне ряда физико-химических условий, таких как температура и pH (Сидоров, 2011), что

предполагает относительную стабильность её активности и при окислительном стрессе.

Целью данной работы было изучить устойчивость ядерной ДНК клеток нервной ткани моллюска *Lymnaea stagnalis* в условиях пролонгированного (часы) действия пероксида водорода.

Материалы и методы. В работе использовали препараты ДНК, выделенной из центральных нервных ганглиев *Lymnaea stagnalis*. Изолированные нервные системы (по 4 на пробу) предварительно инкубировали в течение 2 часов, в темноте, в нормальном растворе Рингера (контроль) содержащем (конечная концентрация): пероксид водорода, 1 мМ; пероксид водорода (1 мМ) и ОН⁻-генерирующую смесь (0,5 мМ CuCl₂ + 0,5 мМ аскорбата); ОН⁻-генерирующую смесь. По окончании инкубации и последующего выделения ДНК (экстракция смесью хлороформ : изоамиловый спирт, добавление РНК-азы А в течение последнего часа инкубации препарата ЦНС в смеси для лизиса клеток), проводили гель-электрофорез (агароза, 1%), анализируя полученную картину посредством приложения Image Lab (Bio-Rad Laboratories Inc., 2017).

Результаты. Установлено, что действие одного пероксида водорода ассоциируется с появлением следовых продуктов деградации ДНК, без выраженных полос, в диапазоне от 100 до 200 п.н. с более высокой интенсивностью по сравнению с контрольными условиями. Других низкомолекулярных фрагментов ДНК обнаружено не было. Добавление к пероксиду водорода ОН⁻-генерирующей смеси выражалось в появлении отчётливых полос продуктов деградации ДНК размером ~180 п.н. или кратным ему, т.е. ~360, 540, 720 и 900 п.н. (заметны не менее 5-ти полос), что позволяет говорить об апоптотической деградации молекулы ДНК клеток нервной ткани в этих условиях. Интересно, что даже в отсутствие в среде инкубации пероксида водорода, добавление ОН⁻-генерирующей смеси, так же, приводило к появлению полос низкомолекулярных фрагментов ДНК размером ~180, 360 и 540 п.н. (хорошо заметны 3 последовательные полосы) интенсивность которых была несколько ниже с таковыми для препаратов, содержащих и пероксид водорода в инкубационной среде.

Вывод. Наличие металлов с переменной валентностью (в частности, меди), способных провоцировать образование высоко реакционноспособных АФК, в том числе используя в качестве субстрата для их наработки относительно устойчивые сигнальные молекулы (пероксид водорода), может существенно модифицировать редокс равновесие в нервной ткани *Lymnaea stagnalis*, тем самым определив устойчивость

организма беспозвоночных к действию провоцирующих развитие стресса факторов внешней и внутренней среды.

Литература

Сидоров А.В. Функциональная активность нервных центров беспозвоночных. Минск: БГУ, 2011. –247 с.