

10мМ, рН 7,4. Концентрациялар: Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 20 мкМ, аскорбат - 400 мкМ; митохондрияда оксил миқдори 0,5-1 мг/мл ни ташкил этади [Виноградов., 1977]

**Олинган натижалар ва уларнинг муҳокамаси.** ЛПО жараёни хужайра ҳаёт фаолиятининг нормал бошқарилишида муҳим ҳисобланади. Бу борада эспериментал тажрибаларда мембраналарда ЛПО жараёнини чақириш мақсадида Fe<sup>2+</sup>/аскорбат (ноферментатив) тизимдан кенг маънода фойдаланилади [Foyer., 2011]. Каламуш жигари митохондрияларида ЛПО жараёнини индуцирлаш мақсадида Fe<sup>2+</sup>/аскорбат (10 мкМ Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ва 600 мкМ аскорбат) индукторидан фойдаланилди. Тажрибаларида инкубация муҳитига Fe<sup>2+</sup>/аскорбатни қўшиш мембранага индуцирловчи таъсир қилди ва мембрана ўтказувчанлиги оширди. Бу Fe<sup>2+</sup>/аскорбат таъсирида митохондрияларда ЛПО жараёни шаклланганлигидан далолат беради.

*Cydonia oblonga* (беҳи) дан ажратиб олинган экстрактнинг қуйи (1 мкг/мл дан 10 мкг/мл гача) бўлган концентрацияси Fe<sup>2+</sup>+аскорбатнинг мембранага индуцирловчи таъсирига сезиларли таъсир қилмади. Бирок, тажрибаларда инкубация муҳитида экстракт миқдорини ошириб бориш митохондриялардаги ЛПО жараёнига яққол таъсир қилганлигини кўрсатди. Экстрактлар (10 мкг/мл дан 90 мкг/мл гача ) миқдорда митохондриялар бўқишини 92±3,4% гача ингибирлади.

Хулоса ўрнида айтиш мумкинки, *Cydonia oblonga* (беҳи) дан ажратиб олинган полифенол таркибли экстрактнинг антиоксидантлик таъсири юқори фаолликга эга эканлиги билдиради.

## **РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО КАЛЬЦИЯ И СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В МЕХАНИЗМАХ ЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА В УСЛОВИЯХ АМИЛОИДНОЙ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ EX VIVO**

**Степьмащук О.А.<sup>1</sup>, Абрамов А.Ю.<sup>1</sup>, Шевцова Е.Ф.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орел, Россия

<sup>2</sup>Институт физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии РАН, Черноголовка, Россия

**Актуальность.** Патогенез большинства нейродегенеративных заболеваний (НЗ) тесно связан с нарушениями кальций-зависимых процессов в клетках мозга. Одна из гипотез механизмов старения мозга предполагает, что триггер старения – нарушение клеточного кальциевого гомеостаза. В связи с этим, исследована связь нейропротекторного эффекта с влиянием на митохондриальный кальций в амилоидной модели болезни Альцгеймера *in vitro* у разрабатываемых препаратов для лечения возраст-зависимых НЗ (Tg-2113x и Tg-2112x).

**Материалы и методы.** Исследования проводились с помощью конфокальной микроскопии лазерным сканирующим микроскопом LSM 900 с системой Airyscan 2 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) и флуоресцентной

микроскопии станцией Cell Observer на базе инвертированного микроскопа Axiovert 200M Carl Zeiss, Германия). Флуоресцентная установка базировалась на инвертированном микроскопе IX73P1F (Olympus Corporation, Япония). Объектом исследования служила первичная смешанная нейроглиальная культура мозга крыс. Для создания нейротоксичной амилоидной модели болезни Альцгеймера применяли короткий фрагмент  $\beta$ -амилоидного пептида 25-35 (10 мкМ) (Bachem, Switzerland). Измерение цитозольного и митохондриального  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_c$  и  $[\text{Ca}^{2+}]_m$ ) осуществляли с помощью Fluo-4 AM (5 мкМ), x-rhod-1 AM (5 мкМ), в присутствии 0,005 % плуроника. Для одновременного измерения  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  и мембранного потенциала митохондрий ( $\Delta\Psi_m$ ) применяли флуоресцентные зонды Fura-2 AM (5 мкМ) и Rh123 (1 мкМ). Для оценки жизнеспособности клеток использовали метод двойного окрашивания красителями Hoechst 33342 и пропидий йодидом.

**Результаты и их обсуждение.** Соединения Tg-2112x и Tg-2113x ингибируют захват кальция митохондриями, как было показано ранее. Важно отметить, что соединение Tg-2112x ограничивает, но не блокирует поглощение кальция митохондриями и в то же время практически полностью защищает нейроны от глутаматной токсичности. Важным отличием соединения Tg-2113x от Tg-2112x является его способность связываться с NMDA-глутаматными рецепторами. Таким образом, использование этих соединений может быть полезным инструментом для изучения механизмов амилоид-индуцированной нейротоксичности. Была поставлена задача изучить, как фармакологическое секвестрация  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях защищает нейроны против  $\beta$ -амилоидной гибели в первичных нейроглиальных культурах.

Также было изучены защитные свойства лазерного излучения с длиной волны 1267 нм, индуцирующего выработку синглетного кислорода. Наряду с индукцией окислительного стресса, активные формы кислорода (АФК) играют важную роль в окислительно-восстановительной (редокс) сигнализации и могут выполнять и защитную функцию. В связи с этим, генерация синглетного кислорода лазером с длиной волны 1267 нм, потенциально может иметь нейропротекторное значение.

Как соединения Tg-2112x и Tg-2113x, так и облучение лазером с длиной волны 1267 нм вызывали защитное и восстанавливающее действие на изменения  $[\text{Ca}^{2+}]_m$  в клеточной культуре нейронов и астроцитов с амилоидной моделью болезнью Альцгеймера и повышало выживаемость клеток в два раза. Данные соединения и облучение могут быть использованы для коррекции кальций-зависимых патологических состояний.

Таким образом, мы показали, что подавление не только захвата кальция нейронами, но и захвата кальция митохондриями выполняет нейропротекторное действие в условиях амилоидной токсичности. Также выявлено, что и редокс сигнализация, а именно – продукция АФК, может защищать от амилоидной нейротоксичности. Оба этих механизма представляют интерес как мишени при разработке новых лекарственных препаратов и стратегий лечения НЗ.