

Влияние антиоксидантов на клетки культуры LSM.

Брянцева София Алексеевна

студент

Московский Государственный Университет им М.В.Ломоносова, Биологический

факультет, Москва, Россия.

funky-grunge@yandex.ru

Для нормальной жизнедеятельности клетке необходимо поддерживать энергетический баланс. В процессе синтеза АТФ важнейшую роль играет цепь переноса электронов на внутренней мембране митохондрий. При этом образуются активные формы кислорода, в норме нейтрализуемые внутриклеточными антиоксидантами. Избыточное количество активных форм кислорода в клетке приводит к нарушению организации макромолекул, в том числе и ДНК. Нарушение баланса между про- и антиоксидантами может привести ко многим заболеваниям. Многочисленные исследования показали эффективность лечения таких болезней препаратами, содержащими антиоксиданты, в том числе липоевую и аскорбиновую кислоты. Влияние антиоксидантов на пролиферацию и морфологию клеток эпителиального происхождения изучено лучше, чем на фибробласты.

В данном исследовании изучалось влияние аскорбиновой и липоевой кислот на пролиферацию и выживаемость клеток культуры мышечных фибробластов LSM. Антиоксиданты использовались в следующих концентрациях: аскорбиновая кислота - 50, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3250, 3500, 4000 и 4500 мкМ при разной продолжительности воздействия (24, 48 и 72 часа); липоевая кислота - 5, 100, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 4000 и 5000 мкМ (в течение 72 часов). Выживаемость клеток оценивалась методом МТТ, основанным на метаболизме голубого МТТ сукцинатдегидрогеназой до нерастворимого формазана. Далее кристаллы формазана растворяли в DMSO и измеряли оптическую плотность получившихся растворов на спектрофотометре при длине волны 530 нм.

В результате экспериментов с аскорбиновой кислотой показано, что кривые выживаемости сходны при разной продолжительности воздействия (24, 48 и 72 часа). Гибель клеток происходит в интервале от 700 до 1000 мкМ. Начиная с концентрации 500 мкМ наблюдается ошаривание клеток и потеря ими фибробластоподобной формы, при концентрации 750 мкМ количество таких клеток увеличивается, начиная с концентрации 1000 мкМ все клетки приобретают данную морфологию. Однако и при концентрации 4000 мкМ встречаются одиночные выжившие клетки. Интересно отметить, что при низких концентрациях аскорбиновой кислоты (50 мкМ) наблюдалось достоверное увеличение оптической плотности по сравнению с контролем (128%, 126% и 110% через 24, 48 и 72 часа соответственно). Данное увеличение оптической плотности может иметь двоякое объяснение. Во-первых, возможно, низкие концентрации аскорбиновой кислоты действительно стимулируют увеличение числа клеток за счет их пролиферации. Во-вторых, аскорбиновая кислота активирует энергетический обмен и повышает активность сукцинатдегидрогеназы. При этом не происходит реального увеличения числа клеток. При воздействии липоевой кислотой гибель клеток наблюдается в интервале от 250 до 1000 мкМ. Гибель 50% клеток происходит примерно при 500 мкМ. Достоверного увеличения оптической плотности при малых концентрациях данного антиоксиданта не наблюдалось.

Таким образом, аскорбиновая кислота, так же как и липоевая, сходно действуют в одном и том же диапазоне концентраций, вызывая гибель клеток при высоких концентрациях воздействия. Но при малых концентрациях их действие различно: увеличения оптической плотности по отношению к контролю при воздействии липоевой кислоты не происходит.

Работа поддержана грантами РФФИ №05-04-49248, РНП 2.1.1.7842, НШ 1861.2003.4.