

УДК 577.152.34 : 616.003.725 + 57.085.23 : 612.822

©Коллектив авторов

ДЕЙСТВИЕ ПЛАЗМИНОГЕНА И СТРЕПТОКИНАЗЫ НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК НЕРВНОЙ ТКАНИ В КУЛЬТУРЕ

В.Н. Никандров, О.Н. Жук, Р.И. Гронская, Е.Ф. Полукошко, А.А. Романовская*

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь 220072,
ул. Академическая, 28; тел.: 375+172-84-17-59; факс: 375+172-84-16-30;
эл. почта: nikandrov@fizio.bas-net.by

На дефицитных по белкам сыворотки крови средах плазминоген стимулировал жизнедеятельность клеток и в концентрации 10^{-10} - 10^{-7} М защищал клетки симпатических ганглиев, неокортекса, перевиваемых линий при действии H_2O_2 (0,0001 М), NH_4Cl (0,01 М), охлаждения. Стрептокиназа существенно влияла на характер повреждающего действия АТР (0,001 М). Даже кратковременная экспозиция (20 мин) клеток РС12 с обоими белками в концентрации порядка 10^{-9} М вела к резким изменениям в них АТР- или Ca^{2+} -активируемого протеолиза.

Исследуемые белки в ряде случаев обеспечивали ускорение созревания культур ткани, улучшение адгезии, высокую выживаемость, увеличение количества и длины отростков, их арборизации. Методом электронной микроскопии установлен характер перестроек структуры клеток нервной ткани (нейронов, астроцитов, олигодендроцитов), отражающих протекторное действие плазминогена и стрептокиназы. В присутствии плазминогена и особенно стрептокиназы общее число клеток культур глиомы С6 и нейробластомы IMR-32, содержание в них белка, РНК и ДНК возрастало в несколько раз. Добавка плазминогена способствовала образованию отростков клетками нейробластомы, что позволяет предположить инициацию процесса дифференцировки клеточных элементов. В культурах чувствительных и симпатических ганглиев стрептокиназа усиливала пролиферации шванновских клеток.

Исзуемые белки не вызвали трансформацию энтерохромаффинных клеток линии РС12 по нейрональному пути, хотя плазминоген и облегчал ее. После добавок плазминогена в культуры клеток в культуральной жидкости не обнаружен рост ее фибринолитической активности, а находящаяся в этой жидкости стрептокиназа не утрачивала плазминоген-активаторной способности.

Ключевые слова: плазминоген, стрептокиназа, нервная ткань, пролиферация, структура, метаболические перестройки.

ВВЕДЕНИЕ. Среди биохимических механизмов регуляции ряда важных для жизнедеятельности нервной ткани процессов значимую роль играют реакции протеолиза, которые также занимают одно из ключевых мест практически во всех патологических процессах.

В нервной ткани без протеолиза немыслимы гистогенез, онкогенез, метастазирование опухолей, миграция клеток, прорастание нервных окончаний, демиелинизация, “созревание” функционально значимых белков, процессинг

* - адресат для переписки

нейропептидов и, по-видимому, появление прионов [1-5]. Учитывая колоссальный функциональный и структурный полиморфизм клеток нервной ткани, роль протеолитических процессов остается освещенной в литературе фрагментарно. Важную роль в жизнедеятельности нервной ткани играет так называемый перичеселлюлярный протеолиз, в том числе звено “плазминоген-плазмин”. Это сложная иерархическая система, включающая не менее десяти различных белков [3]. Роль этой системы в жизнедеятельности клеток нервной ткани показана в ряде примеров; она связана с другими звеньями метаболической регуляции функций, в т.ч. с отдельными белками регуляторного типа [3]. Однако из-за чрезвычайной гетерогенности клеток нервной ткани в морфологическом и, что еще важнее – в функциональном и метаболическом плане, включая биосинтез нейромедиаторов, значение компонентов этой системы в нервной ткани изучена крайне недостаточно.

В 1999-2006 г. в лаборатории регуляторных белков и пептидов Института физиологии НАН Беларуси, исходя из изложенных в 1984-2004 представлений о механизмах регуляции протеолиза (в частности, концепции кислородзависимого пути активации плазминогена [6-8]), на органотипических, первично диссоциированных культурах коры головного мозга, симпатических (краниальных шейных) и чувствительных (спинальных) ганглиев крыс, перевиваемых линиях глиомы С6, феохромоцитомы РС12 и нейробластомы IMR-32 изучено действие очищенных образцов плазминогена (Pg) человека и стрептокиназы (SK) на выживаемость, пролиферацию, дифференциацию клеточных элементов, содержание в клетках белка, РНК, ДНК, уровень АТР-(или Ca^{2+} -)активируемого протеолиза в них, а также плазминоген-активаторную и фибринолитическую активность клеток. В настоящей статье изложено обобщение части результатов этих исследований.

1. Плазминоген.

Pg синтезируется микроглией, отдельными группами нейронов, например, гиппокампа [9]. Однако значение его для нервной системы далеко от полной ясности.

Введение в питательную среду Pg в концентрации 10^{-8} - 10^{-7} М, по данным инверсионной и электронной микроскопии, не отражалось негативно на органотипических культурах симпатических ганглиев и неокортекса крыс. Культивирование симпатических ганглиев взрослых крыс в обогащенной белками сыворотки крови питательной среде в присутствии 10^{-4} М H_2O_2 вело к обширной дегенерации по некротическому типу: вакуолизации нервных и глиальных клеток, их набуханию и лизису. При одновременном введении в питательную среду 10^{-7} М Pg и H_2O_2 в течение 24 ч структура нервных и глиальных клеток сохранялась, разрывов мембран не наблюдалось, лишь имелось некоторое их напряжение – расширение крист эндоплазматического ретикула в вплоть до образования вакуолей [10, 11]. В цитоплазме отмечено наличие электронноплотных включений – возможных мест хранения катехоламинов. Следовательно, Pg в среде существенно снижает деструктивное действие H_2O_2 .

Не менее демонстративным явилось защитное действие зимогена при деструкции клеток краниального шейного ганглия, вызванной 10^{-4} М глутамата [12].

Предварительная обработка Pg в концентрации 10^{-8} - 10^{-7} М симпатобластов диссоциированных культур краниального шейного ганглия новорожденных крыс снижала гибель клеток, вызванную 0,01 М NH_4Cl , через 24 ч с 70% до 20-30% [13].

На клетках глиомы С6 показано, что через 24 ч культивирования в бессывороточной среде жизнеспособность их составляла 95–98%, через 3 сут – $13 \pm 1,5\%$. Pg в концентрации 10^{-7} - 10^{-11} М способствовал сохранению исходного уровня жизнеспособных клеток [14]. Сходная тенденция наблюдалась и на нейробластоме IMR-32: через 3 сут на питательной среде, содержащей лишь 0,5% эмбриональной телячьей сыворотки (ТС), число мертвых клеток составило $65 \pm 0,9\%$, а при добавке Pg жизнеспособность клеток IMR-32 не уменьшалась [15]. Итак, через 3 суток, когда в контроле деление клеток глиомы и нейробластомы прекращается, Pg способствовал поддержанию жизнедеятельности клеток

в бессывороточной среде. Действие зимогена на клетки С6 и IMR-32 вело к увеличению индекса пролиферации (ИП) на 116-184% и 48-51% соответственно [16, 17]. Под действием Pg через 24 ч рос уровень РНК и белка в клетках глиомы С6 и нейробластомы IMR-32, а через 72 ч – и ДНК по отношению к контролю (рис. 1). Стимулирующий эффект Pg на клетки глиомы С6 и нейробластомы IMR-32 подтвержден также при прижизненном микроскопическом исследовании [15-17], добавка Pg в бессывороточную среду культивирования вела к формированию более плотного монослоя клеток по сравнению с контролем и препятствовала развитию дегенеративных изменений.

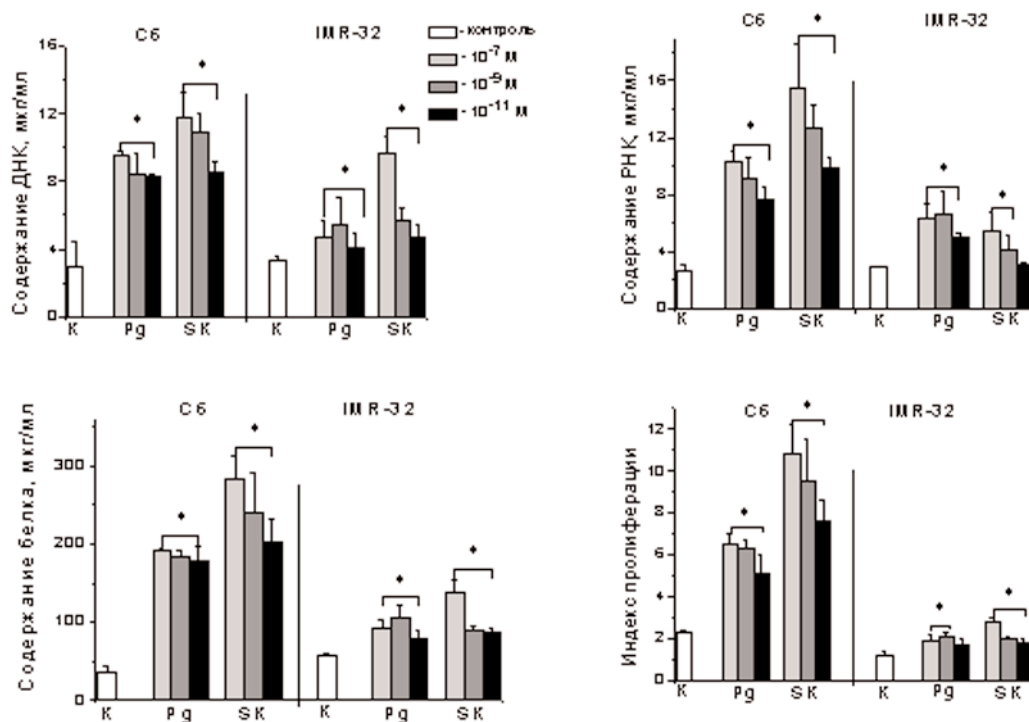


Рисунок 1.

Содержание нуклеиновых кислот, белка в клетках глиомы С6 и нейробластомы IMR-32 и индекс пролиферации культур через 3 суток инкубации в бессывороточной среде в присутствии плазминогена (Pg) и стрептокиназы (SK). Данные представлены в виде средней \pm S.D.

* – достоверное различие в сравнении с контролем ($p < 0,05$) [16].

Кратковременная экспозиция клеток феохромоцитомы PC12 с Pg вела к снижению интенсивности АТР-активируемого протеолиза на 27-50% в зависимости от концентрации зимогена (рис. 2). Концентрационная зависимость эффекта имеет сложный характер. Наибольшее подавление АТР-зависимого протеолиза отмечено при концентрации зимогена 10^{-8} М. Добавка в питательную среду одного фактора роста нервов (NGF) угнетала на 35% АТР-зависимую активность лишь при максимальной концентрации нейротрофина. Однако при смешивании NGF даже при концентрации 10 нг/мл с Pg зимоген уже не оказывал эффекта.

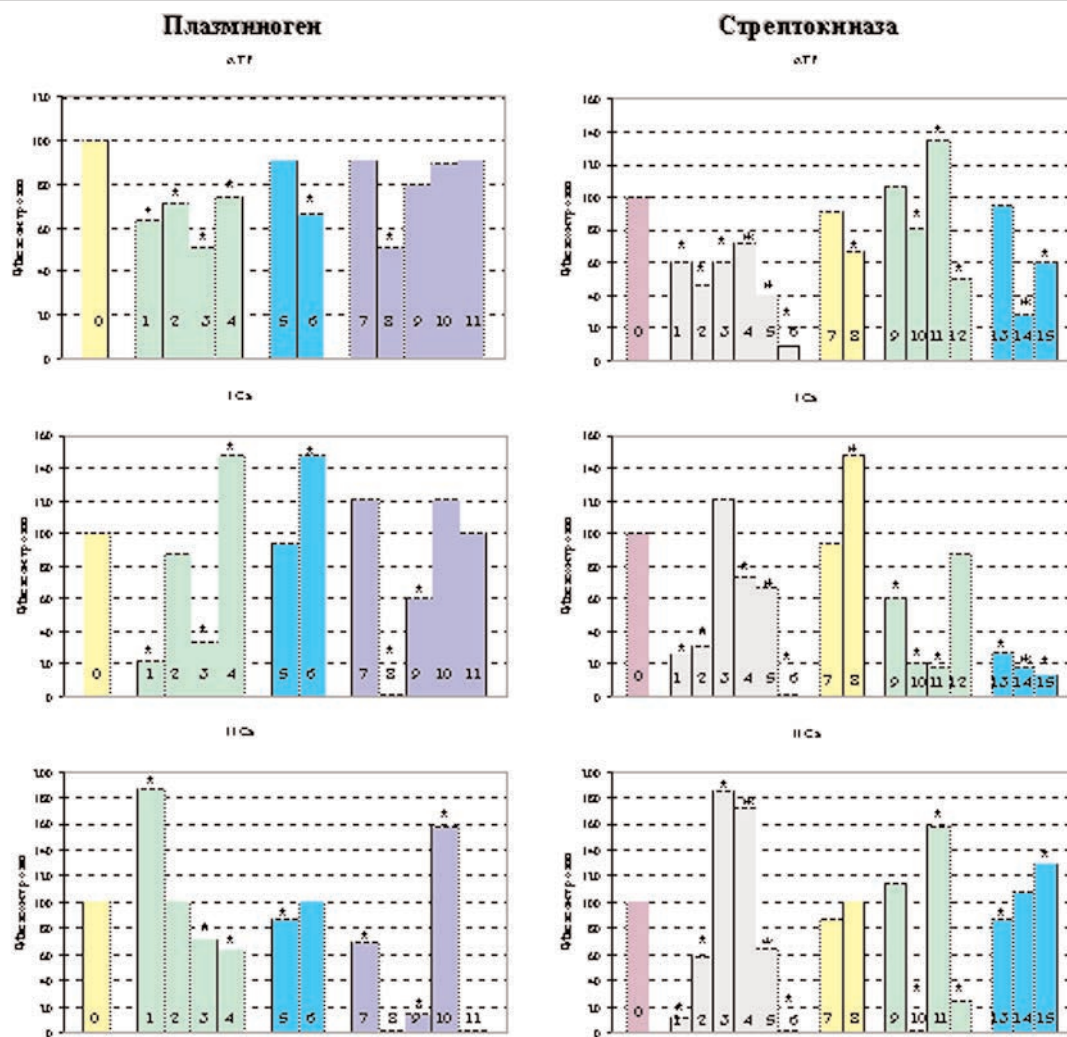


Рисунок 2.

Активность АТФ-, I Ca^{2+} - и II Ca^{2+} -зависимых протеиназ в клетках PC12 при раздельном и совместном внесении в среду инкубации плазминогена или стрептокиназы с фактором роста нервов (NGF); время инкубации 20 мин [18, 19].

Плазминоген: контроль – 0, без добавок; 1 - 10^{-10} М; 2 - 10^{-9} М; 3 - 10^{-8} М; 4 - 10^{-7} М; 5 - 10 нг/мл NGF; 6 - 100 нг/мл NGF; 7 - 10^{-9} М Pg + 10 нг/мл NGF; 8 - 10^{-8} М Pg + 10 нг/мл NGF; 9 - 10^{-7} М Pg + 100 нг/мл NGF; 10 - 10^{-7} М Pg + 10 нг/мл NGF; 11 - 10^{-7} М Pg + 100 нг/мл NGF.

Стрептокиназа: контроль – 0, без добавок; 1 - 5×10^{-10} М; 2 - 5×10^{-9} М; 3 - 5×10^{-8} М; 4 - 5×10^{-7} М; 5 - 5×10^{-6} М; 6 - 10^{-5} М; 7 - 10 нг/мл NGF; 8 - 100 нг/мл NGF; 9 - 5×10^{-10} М SK + 10 нг/мл NGF; 10 - 5×10^{-9} М SK + 10 нг/мл NGF; 11 - 5×10^{-8} М SK + 10 нг/мл NGF; 12 - 5×10^{-7} М SK + 10 нг/мл NGF; 13 - 5×10^{-7} М SK + 10 нг/мл NGF; 14 - 5×10^{-8} М SK + 100 нг/мл NGF; 15 - 5×10^{-7} М SK + 100 нг/мл NGF; 16 - 5×10^{-6} М SK + 100 нг/мл NGF.

На активируемые 50 мкМ Ca^{2+} (кальпаин I) реакции протеолиза Pg оказал разноплановое действие (рис. 2). При добавке зимогена в концентрации 10^{-10} - 10^{-7} М I-кальпаиновая активность снижалась на 70-80%, а при концентрации 10^{-6} М наблюдался рост этой активности на 40%. При смешивании Pg + NGF (даже 10 нг/мл) эти изменения активности не проявлялись. Вместе с тем, при варианте 10^{-7} М Pg + NGF зафиксировано полное подавление I-кальпаиновой активности [18].

На активируемые 5 мМ Ca^{2+} (кальпаин II) реакции протеолиза кратковременная экспозиция клеток феохромоцитомы с Pg оказала иное действие (рис. 2). При концентрации зимогена 10^{-10} М наблюдался рост II-кальпаиновой активности на 80%, а при концентрации 10^{-10} - 10^{-7} М – угнетение на 30-40%. Добавки одного NGF мало влияли на эту активность. Смешивание Pg + NGF вело к проявлению несколько

иной картины, чем при АТР-зависимом протеолизе и I-кальпаиновой активности. В варианте с 10^{-6} М Pg + 10 нг/мл NGF повышался уровень протеолитической активности на 55%. При максимальной концентрации NGF отмечено ее полное подавление. Аналогичная картина отмечена в вариантах эксперимента с 10^{-7} М Pg.

2. Стрептокиназа.

Перевод диссоциированных культур неокортекса новорожденных крыс на 14 сут на дефицитную по белкам сыворотки (0,5% телячья сыворотка вместо 15%) питательную среду через 48 ч вызвал статистически значимое снижение доли жизнеспособных клеток [20]. Внесение же SK сохраняло этот показатель на уровне обогащенной сывороткой питательной среды. При переводе на дефицитную среду 7-суточных культур, количество жизнеспособных клеток также снижалось, а их обработка SK вела к дальнейшему уменьшению жизнеспособности.

Как показали результаты электронной микроскопии, при переводе культуры на среду с дефицитом по белкам сыворотки уже через 24 ч в астроцитах отмечены конденсация хроматина, множественные глыбки гиперхромного материала с предпочтительной локализацией у внутренней мембраны ядра. Сама мембрана расслаивалась, образуя выпячивания в сторону цитоплазмы. Цитоплазматические органеллы теряли характерную морфологию и вакуолизировались. Реактивные изменения отмечены в ядрах нейронов. В нейропиле отростки теряли правильную форму, их мембрана расслаивалась, исчезали органеллы [20]. Если культивирование на дефицитной по белкам среде сочетали с добавкой SK (10^{-5} М) эти деструктивные изменения не проявлялись (рис. 3). Организация эксплантата сохранена, клетки нервной ткани не несли признаков деструкции. Интересной особенностью является обилие в нейронах митохондрий с умеренно плотным веществом и выраженными кристами. Через 48 ч экспозиции в такой среде астроциты в поле зрения редки. По-видимому, именно они поражаются в первую очередь. Появляются клетки, содержащие многочисленные миелиновые тельца, лизосомы и вакуоли. Возможно, это результат поглощения обломков разрушившихся клеток. В то же время, нейроны к такому воздействию более устойчивы.

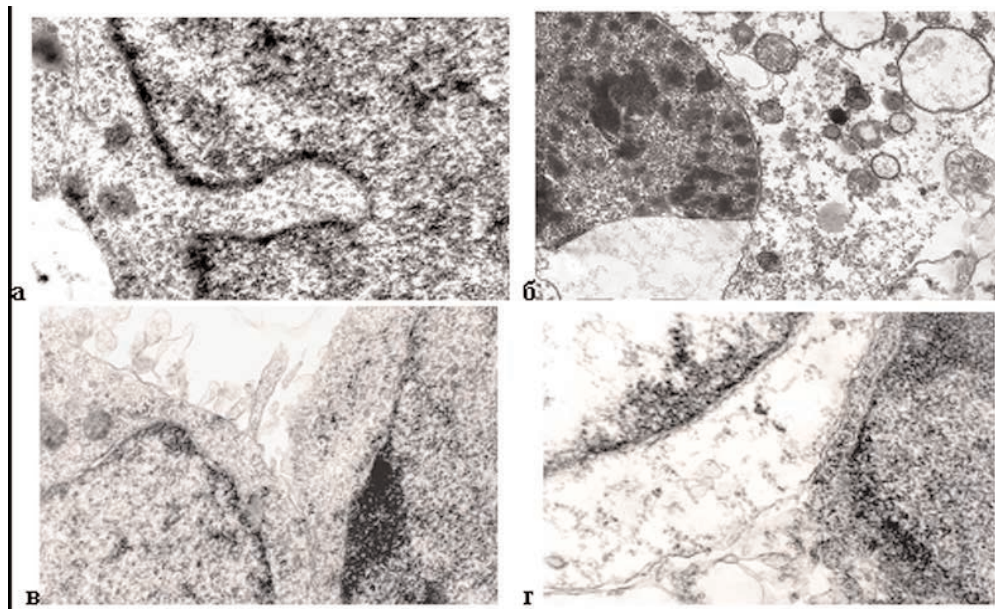


Рисунок 3.

Влияние стрептокиназы на ультраструктуру клеток коры головного мозга (КГМ) новорожденных крыс в органной культуре, 5 сут *in vitro* [20]. а – изменения ядра нейрона при переводе культуры на среду с 0,5% ТС, 24 ч экспозиции, ув.19000; б – изменения астроцита при культивировании

КГМ на этой же среде, 24 ч экспозиции, ув.10000; в – тесное прилегание нейрон-нейрон в эксплантате, 24 ч экспозиции в этой же питательной среде с добавкой стрептокиназы (10^{-5} М), ув. 29000; г – нейрон и прилегающий к нему астроцит, 24 ч экспозиции в этой же среде с добавкой стрептокиназы (10^{-5} М), ув. 29000.

АТР (10^{-3} М) в такой же среде способствовал дальнейшему уменьшению доли жизнеспособных клеток (с $80,20 \pm 1,4\%$ до $77,23 \pm 0,64\%$ против $88,13 \pm 0,14\%$ в контроле) и дезорганизации ультраструктуры нервных и глиальных клеток органотипической культуры неокортекса новорожденных крыс. Внесение АТР совместно с СК вело к увеличению доли жизнеспособных клеток до $86,53 \pm 0,97\%$ и позволило сохранить организацию клеток эксплантата, что сопоставимо с действием только одной СК и с контролем (обогащенная белками среда) [21]. Следовательно, СК способна полностью нивелировать деструкцию АТР клеток нервной ткани. Более продолжительное влияние СК провоцировало развитие деструктивных изменений.

Все это подтверждает наши прежние наблюдения: СК способна воздействовать на клетки и ткани непосредственно, минуя кровоток [22], и ставит на принципиально иную платформу изучение её биологического действия, ибо с таких позиций эффекты СК являются чрезвычайно слабо изученными.

Изложенные материалы показывают, что воздействие СК во многом зависит от типа клеточных элементов и их состояния. Более того, есть основания думать, что действие СК имеет триггерный характер и может быть направлено на стабилизацию структуры и функции клетки, что выражалось в увеличении жизнеспособности клеток в неблагоприятных условиях. Вместе с тем, более продолжительное действие данного активатора Pg вело к явным деструктивным изменениям клеток. Складывается впечатление, что в коре головного мозга наиболее чувствительны астроциты, тогда как нейрональные клетки более устойчивы. Это, разумеется, не означает их полной резистентности. Как показали электрофизиологические исследования [23], суперфузия понтобульбоспинального препарата мозга крысы раствором СК вела к обратимому возрастанию частоты генерации респираторных залпов на 50–55% со снижением на 15–20% амплитуды низко- и среднечастотных пиков разрядов. Следовательно, изменения со стороны нейронов также могут иметь место. Важный вопрос – пути воздействия СК на клетки. Стрептокиназа – ксеногенный белок, о наличии к ней рецепторов на клеточных мембранах нет данных, хотя исключить такую возможность нельзя. С другой стороны, действие ее по Pg-активаторному пути (рецепторы Pg найдены на многих клетках) представляется маловероятным. В наших экспериментах СК взята и в достаточно высокой концентрации – 5×10^{-6} М, а при избытке СК активный плазмин не образуется. Надо сказать, что в опытах со СК на культурах симпатобластов и спинальных ганглиев мы не фиксировали появления фибринолитической (плазминовой) активности [13], однако данные ферментативного анализа свидетельствовали о практически нерасщепленной СК в таких культурах. Возможно, действие СК осуществлялось по супероксидконвергирующему пути [6-8]. Вместе с тем, молекулярно-клеточные аспекты действия этого белка пока далеки от исчерпывающей ясности.

СК, подобно Pg, способствовала увеличению жизнеспособности клеток глиомы С6 и нейробластомы IMR-32 и стимулировала их пролиферацию на протяжении всего времени наблюдения [16]. В концентрации 10^{-7} – 10^{-11} М она оказывала явный митогенный эффект, что выражалось в увеличении ИП уже через 24 ч культивирования (рис. 1). Так, ИП клеток глиомы С6 в этот период возрос на 125–147%, а на третьи сутки – на 230–365% в сравнении с контролем. Увеличение ИП для нейробластомы при концентрации СК 10^{-7} – 10^{-9} М ИП составило 26–42% и 45–130% соответственно. СК вызвала рост уровня ДНК, РНК и белка в клетках, начиная уже с первых суток культивирования (рис. 1) [16]. Стимулирующее влияние СК было сильнее, чем Pg и более выражено для клеток глиомы в сравнении с клетками нейробластомы. Судя по результатам фазово-контрастной микроскопии, СК стимулировала развитие клеток этих линий [16].

Защитное действие СК проявлялось и при холодовом стрессе, вызвавшем полную гибель органотипических культур спинального ганглия в среде, содержащей 0,5% ТС (ганглии отклеивались от подложки, клетки зоны роста округлялись и

всплывали) и частичную гибель культур в среде, содержащей 10% ТС [24]. Добавка SK в значительной степени защищала эти ганглии от холодового стресса, внешний вид культуры сохранялся (рис. 4), за исключением незначительных повреждений отдельных клеток зоны роста ганглиев.

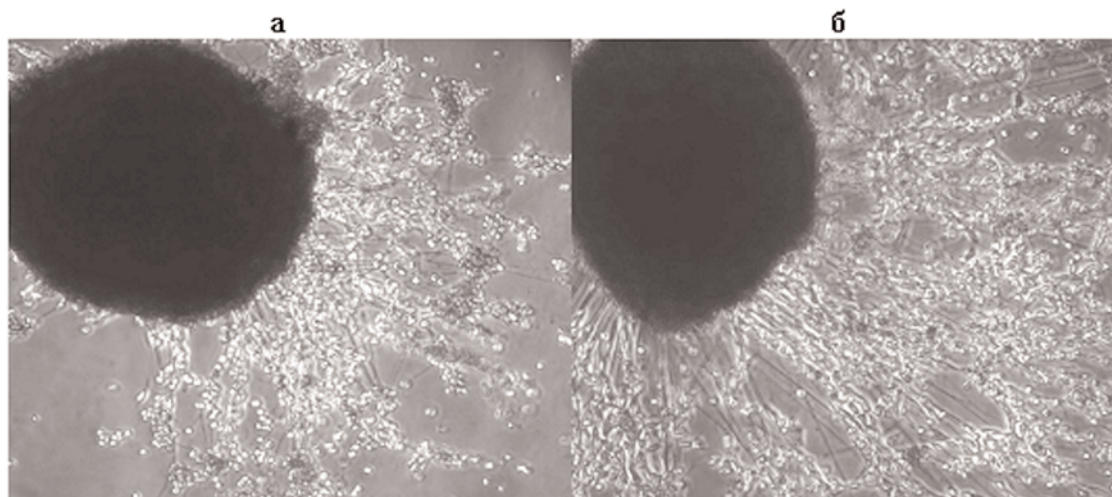


Рисунок 4.

Органотипическая культура спинального ганглия новорожденной крысы, 5 сут *in vitro*, после выдерживания 24 ч при 8°C; а - контроль, б – при культивировании в присутствии 10^{-5} М SK. Проходящий свет, увеличение 7Ч10 [24].

SK существенно влияла на скорость формирования зоны роста у культивируемых чувствительных спинального и симпатического краниального шейного ганглиев [25]. На питательной среде, содержащей 10% ТС, влияние SK было более выражено. Зона роста культур в присутствии SK имела повышенную плотность за счет интенсивной пролиферации и миграции из эксплантата клеток различной природы. Особо выделялись многочисленные шванновские клетки вдоль радиально направленных отростков нервных клеток [25]. Наблюдение за культурами свыше 14 сут. *in vitro* показало способность SK в питательной среде, содержащей 10% ТС, значительно улучшать рост и развитие этих ганглиев новорожденной крысы.

Как и при действии Pg, добавка SK к культуре феохромоцитомы PC12 вела к угнетению АТР-активируемого протеолиза (рис. 2). Оно было более сильным, а сочетание SK с нейротрофином (даже при концентрации 100 нг/мл) не всегда сопровождалось “снятием” эффекта SK, хотя в ряде вариантов степень подавления АТР-активируемого протеолиза при действии SK с NGF была меньшей, чем в случае с одной SK [19].

Добавка SK сама по себе вызвала сильное подавление I-кальпаиновой активности вплоть до полного ее отсутствия. Практически мы не наблюдали повышения уровня этого типа протеолиза, а в сочетании SK с нейротрофином подавление даже усиливалось.

В отличие от Pg, экспозиция клеток PC12 с SK вызвала более сложный характер зависимости “эффект-концентрация” в случае II-кальпаиновой активности. Вместе с тем, сочетание SK с NGF чаще сопровождалось уменьшением эффекта SK, хотя в отдельных вариантах наблюдалось резкое изменение направленности сдвигов этого типа протеиназной активности.

ДЕЙСТВИЕ ПЛАЗМИНОГЕНА И СТРЕПТОКИНАЗЫ НА КЛЕТКИ

Следует отметить, что при добавках Pg к культуре клеток PC12 не обнаруживали фибринолитической активности. Сходные результаты получены и на культуре спинальных ганглиев [13]. Pg или SK, в отличие от NGF, не вызывали трансформацию клеток феохромоцитомы по нейрональному пути, хотя зимоген и облегчал таковую [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. На культурах клеток нервной ткани продемонстрировано прямое (не опосредованное через кровоток) воздействие на их жизнедеятельность Pg и SK. Изложенные материалы свидетельствуют о сложном неоднозначном влиянии этих белков на клеточные элементы нервной ткани, по-видимому, зависящем от типа клеток и их состояния. Действие Pg и его активатора – SK - на клетки нервной ткани затрагивает целый ряд сторон их жизнеобеспечения, включая уровень нуклеиновых кислот и белков, реакции внутриклеточного протеолиза. Можно наблюдать весьма сложную картину перестройки внутриклеточных процессов метаболизма, позволяющую пока лишь в общих чертах констатировать отражение многоплановости действия исследуемых белков. Детальная расшифровка механизмов этих перестроек требует проведения дальнейших исследований.

Полученные данные вносят вклад в представления о молекулярных механизмах регуляции процессов жизнедеятельности клеток нервной ткани. Более того, они могут быть использованы для расшифровки механизмов патогенеза пораженной нервной ткани, а в перспективе – для обоснования подходов к их коррекции, проработки вопросов нейрофармакологии и нейротрансплантации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kristensen P., Larsson L.J., Nielsen L.S., Grøndahl-Hansen J., Andersen P.A. (1984) FEBS Lett., **168**(1), 33-37.
2. Никандров В.Н., Пыжова Н.С. (2001) В кн.: “Современные проблемы инфекционной патологии человека (вирусология, микробиология, иммунология, эпидемиология, клиника)” (ред. Л.П. Титов и др.), Минск, сс. 318-338.
3. Laiho M., Keski-Oja J. (1989) Cancer Res., **49**, 2533-2553.
4. Rosenblatt D.E., Cotman C., Nieto-Sampedro M., Rowe J.W., Knauer D.J. (1987) Brain. Res., **415**, 40-48.
5. Hall S.W., Van den Berg., Gonias S.R. (1989) Brain Res., **445**, 373-376.
6. Nikandrov V.N., Pyzhova, N.S. (1987) In: 18th FEBS Meeting. Abstracts. Ljubljana, p. 84.
7. Nikandrov V.N. (1992) Int. J. Biochem., **24**(1), 47-53.
8. Никандров В.Н., Пыжова Н.С. (2001) Известия НАН Беларуси, сер. мед.-биол. наук, № 1, 54-60.
9. Kohsaka Sh., Hamanoue M., Nakajima K. (1996) Keio J. Med., **45**(3), 263-269.
10. Жук О.Н., Никандров В.Н. (2001) В кн.: “Механизмы функционирования висцеральных систем. междунар. конфер., посвящ. 75-летию со дня рожд. А.М. Уголева. Тез. докл.”. СПб., с. 129-130.
11. Жук О.Н., Никандров В.Н. (2001) В кн. “Функциональная нейроморфология. Фундаментальные и прикладные аспекты. К 100-летию академика Д.М. Голуба.”. Минск, с. 100-102.
12. Жук О.Н., Калюнов В.Н., Никандров В.Н. (2002) В кн.: “Колосовские чтения-2002. IV Международная конференция по функциональной нейроморфологии. Тезисы докл.”. СПб, с. 110.
13. Никандров В.Н., Володкович О.И., Гронская Р.И., Жук О.Н., Шпак Г.А., Лукашевич И.Б., Полукошко Е.Ф., Петрусенко Г.П., Тумилович М.К. (2002) “Достижения медицинской науки Беларуси”, вып. VII. Рецензир. научно-практ. ежегодник, Минск, с. 49-50.
14. Романовская А.А. (2006) Известия НАН Беларуси, сер. биол. наук, № 5, 158-160.

15. Романовская А.А., Жук О.Н., Никандров В.Н. (2007) Наука и инновации, № 3(49), с. 24-27.
16. Романовская А.А., Никандров В.Н. (2007) Доклады НАН Беларуси, **51**(2), с. 57-60.
17. Романовская А.А., Никандров В.Н. (2007) Известия НАН Беларуси, сер. мед. наук, № 1, 69-74.
18. Никандров В.Н., Петрусенко Г.П., Гронская Р.И., Тумилович М.К. (2003) Известия НАН Беларуси, сер. мед.-биол. наук, № 2, 54-57.
19. Никандров В.Н., Петрусенко Г.П., Гронская Р.И. (2003) Известия НАН Беларуси, сер. мед.-биол. наук, № 4, 84-87.
20. Никандров В.Н., Жук О.Н. (2005) Морфология. 2005, **128**(5), 33-36.
21. Жук О.Н., Никандров В.Н. (2006) В кн.: "XI съезд Белорусского общества физиологов. Тезисы докл.", Минск, с. 102-103.
22. Никандров В.Н., Пыжова Н.С. (2003) Известия НАН Беларуси, сер. мед.-биол. наук, № 3, 75-89.
23. Никандров В.Н., Пятин В.Ф., Алексеева А.С., Мирошниченко И.В., Якунина О.В., Новоселова А.М., Гаркун Ю.С., Мурашко О.Н., Кульчицкий В.А. (2003) Известия НАН Беларуси, сер. мед.-биол. наук, № 2, 40-43.
24. Полукошко Е.Ф., Никандров В.Н. (2005) В кн.: "Сахаровские чтения 2005 года: экологические проблемы XXI века. Ч. I" (ред. С.П.Кундас и др.). Гомель, с. 86-87.
25. Никандров В.Н., Жук О.Н., Полукошко Е.Ф., Пыжова Н.С. (2007) В кн.: "Нейрогуморальные механизмы регуляции функций в норме и патологии" (ред. В.Н.Гурин и др.) Минск, с. 150-155.

Поступила: 02. 07. 2007.

EFFECTS OF PLASMINOGEN AND STREPTOKINASE ON THE VITAL FUNCTIONS OF NERVOUS TISSUE CELLS IN CULTURE

V.N. Nikandrov, O.N. Zhuk, R.I. Gronskaia, E.F. Polukoshko, A.A. Romanovskaya

Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Akademicheskaya ul., 28, Minsk, 220072 Belarus; tel.: +375-172-84-17-59; fax: +375-172-84-16-30; e-mail: nikandrov@fizio.bas-net.by

In the protein-deficient media plasminogen stimulated the vital functions of cells and in concentrations 10^{-7} - 10^{-10} M it protected cells of sympathetic ganglia, neocortex and continues cell lines under damaging actions of H_2O_2 (0.0001 M), NH_4Cl (0.01 M) and cooling. Streptokinase essentially influenced the mode of damaging effect of ATP (0.001 M). Even a short-term exposition (20 min) of PC12 cells with both proteins (each in the concentration 10^{-9} M) led to sharp alterations in intracellular ATP- or Ca^{2+} -activated proteolysis.

In some cases plasminogen and streptokinase provided acceleration of cultured tissue maturation, improvement of cell adhesion, high survival rate, the increase in quantity and length of processes and their arborisation. Electronic microscopy established the character of structural rearrangements of nervous tissue cells (neurons, astrocytes, oligodendrocytes), reflecting the protective action of plasminogen and streptokinase. In the presence of plasminogen and especially streptokinase, the total number of cultured glioma C6 and neuroblastoma IMR-32 cells, the intracellular contents of protein, RNA and DNA increased several-fold. Addition of plasminogen promoted formation of processes by neuroblastoma cells, this suggests initiation of differentiation of cellular elements. In cultures of sensitive and sympathetic ganglia streptokinase increased proliferation of Schwann cells.

These proteins did not cause transformation of PC12 enterochromaffine cells to neurons, though plasminogen facilitated it. Plasminogen addition to cell cultures did not increase fibrinolytic activity of the culture medium in the culture medium, and streptokinase did not lose its plasminogen-activating capacity.

Key words: plasminogen, streptokinase, nervous tissue, proliferation, structure, metabolic changes.