RESULTS OF MODERN SCIENTIFIC RESEARCH AND DEVELOPMENT

Proceedings of XI International Scientific and Practical Conference

Madrid, Spain

16-18 January 2022

Madrid, Spain

2022

UDC 001.1

The 11th International scientific and practical conference "Results of modern scientific research and development" (January 16-18, 2022) Barca Academy Publishing, Madrid, Spain. 2022. 506 p.

ISBN 978-84-15927-33-4

The recommended citation for this publication is:
Ivanov I. Analysis of the phaunistic composition of Ukraine // Results of modern scientific research and development. Proceedings of the 11th International scientific and practical conference. Barca Academy Publishing. Madrid, Spain. 2022. Pp. 21-27. URL: https://sci-conf.com.ua/xi-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferentsiya-results-of-modern-scientific-research-and-development-16-18-yanvarya-2022-goda-madrid-ispaniya-arhiv/.

Editor
Komarytskyy M.L.
Ph.D. in Economics, Associate Professor

Collection of scientific articles published is the scientific and practical publication, which contains scientific articles of students, graduate students, Candidates and Doctors of Sciences, research workers and practitioners from Europe, Ukraine, Russia and from neighbouring coutries and beyond. The articles contain the study, reflecting the processes and changes in the structure of modern science. The collection of scientific articles is for students, postgraduate students, doctoral candidates, teachers, researchers, practitioners and people interested in the trends of modern science development.

e-mail: madrid@sci-conf.com.ua

homepage: *https://sci-conf.com.ua*

©2022 Scientific Publishing Center "Sci-conf.com.ua" ®
©2022 Barca Academy Publishing ®
©2022 Authors of the articles

TABLE OF CONTENTS

AGRICULTURAL SCIENCES

1. ***Мельник В. В., Ліснік Н. С., Мізіна О. Ю.*** 12
ДИНАМІКА РОСТУ КАЧЕНЯТ КРОСІВ «SUPER M3» І «STAR 53».
2. ***Чугрій Г. А., Вінюков О. О., Бондарева О. Б.*** 16
ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ ПРИ ВИРОЩУВАННІ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО В ПРОМИСЛОВОМУ РЕГІОНІ.

VETERINARY SCIENCES

3. ***Miahka K., Bogatko N., Mazur T., Utechenko M., Bogatko L.*** 20
CONTROL OF SAFETY OF LIP HONEY USING THE IMPROVED IMMUNO-ENZYME METHOD FOR DETERMINATION OF FLORFENICOL.

BIOLOGICAL SCIENCES

4. ***Brechka N. M., Kozar V. V., Protsenko O. S., Chumak L. I., Komaromi N. A., Scherbak O. V., Striletc O. P.*** 28
CORRECTION OF REPRODUCTIVE PARAMETERS AFTER DESTRUCTION OF TESTICULAR FUNCTION IN RATS.
5. ***Іванченко О. Є., Жарова К. А.*** 33
АНАЛІЗ ВИДОВОГО СКЛАДУ ДЕРЕВНОЇ РОСЛИННОСТІ СКВЕРУ ІМ. П. Я. ГУСЕНКА М. ДНІПРО.
6. ***Кульгускін М. І.*** 39
ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ СЕРЦЕВОГО РИТМУ ПРИ РІЗНИХ ПСИХОЛОГІЧНИХ СТАНАХ.
7. ***Ластовецька Л. О., Маслак В. І., Кудіна С. В., Юнгін О. С.*** 45
ВИЯВЛЕННЯ ЦУКРОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ З СУДИННИХ РОСЛИН АНТАРКТИКИ.
8. ***Мамедова Н. Т., Бабаева Р. Ю., Заманова Ф. Д., Ибрагимова С. Ш.*** 47
ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭПИФИЗА НА ИЗМЕНЕНИЕ ПРОДУКТОВ ПОЛ В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА.
9. ***Рамазанов В. В., Воловельська Є. Л., Руденко С. В.*** 50
ФОРМА МОДИФІКАЦІЯ ЕРИТРОЦИТІВ У СУЛЬФАТНОМУ СЕРЕДОВИЩІ.

MEDICAL SCIENCES

10. ***Bondiuk M. L., Kolodiazhna V. V., Shvid S. O.*** 57
THE EFFECT OF LEUKOCYTOSIS ON THE OUTCOME OF ACUTE STROKE.
11. ***Kocherha Z. R., Nedostup I. S., Lotovska T. V., Tkach B. N., Tereshkun N. M.*** 60
IN ADOLESCENTS WITH OBESITY.

УДК 57.043: 612.111: 576.31

ФОРМА МОДИФІКАЦІЯ ЕРИТРОЦИТІВ У СУЛЬФАТНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Рамазанов Віктор Володимирович,
к.б.н., с.н.с.
Воловельська Єлизавета Леонідівна,
к.б.н., с.н.с.
Руденко Сергій Віталійович,
к.б.н.,
Інститут проблем кріобіології та кріомедицини
НАН України
м. Харків, Україна

Вступ. При включенні еритроцитів у сульфатне середовище (pH 5,6) відзначається швидке формування ехіноцитів з подальшою ретрансформацією клітин у дискоцити, крім того, ехіноцитарні DIDS-мічені еритроцити у фізрозчині при титруванні до pH 5,6 також можуть становитися дискоцитами [1]. Останні дані про формомодифікацію еритроцитів, можливо, пов'язані з тим, що DIDS може бути модифікатором електростатичної (ЕС) структури ділянок мембран, що прилягають до аніонного каналу (AE1) [2]. Зниження концентрації хлориду в середовищі при заміні на сульфат може спричинити збільшення заряду в міжфазній ділянці AE1 та ліпідного біслою, та змінити ЕС структуру поверхні мембран. На основі цих даних стає питання що до ролі змін ЕС структури мембран при формомодифікації еритроцитів.

Мета роботи – дослідити зміну форми інтактних та кріоконсервованих еритроцитів в умовах, що модифікують електростатичну структуру мембран.

Матеріали і методи. У роботі використовували: 4,4'-diisothiocyanato-stilbene-2,2'-disulphonic acid (DIDS, Sigma, США); Трис, NaCl, Na_2SO_4, сахарозу (хч); 1,2-пропандіол (1,2-ПД, Amsoil, Фінляндія). В експериментах використовували хлоридну (150 ммоль/л NaCl) та сульфатне (110ммоль/л Na_2SO_4) середовища з включенням 10 ммоль/л трис-буферу

(pH 7,4). Еритроцити отримували з донорської крові, як описано у [3]. Клітини в модифікованому кріоконсерванті за складом, що містить 1,2-ПД (22%), сахарозу (10%) і NaCl (0,3%), з метою спрощення методу кріоконсервування занурювали у рідкий азот (-196°С) і зберігали протягом тижня з подальшим розморожуванням (40°С) і відмиванням фізрозчином при 37°С [3]. Форму еритроцитів досліджували при реєстрації змін інтенсивності флуктуацій оптичної щільності (ОЩ) клітинної суспензії, що перемішується (~$3{,}0\times10^6$кл./мл) у кюветі спектрофотометра (СФ, λ=720 нм). Дискоїдні клітини анізотропно розсіюють світло і виробляють максимальну флуктуацію ОЩ, сферичні клітини виявляють ізотропне світлорозсіювання – флуктуацій ОЩ не виявляється, тому інтенсивність флуктуацій ОЩ визначається співвідношенням дискоцитів та сфероцитів [4].

Результати та обговорення. При внесенні еритроцитів у хлоридне середовище відзначається флуктуація ОЩ клітинної суспензії (Рис. а, трек 1), що притаманно дискоїдних форм клітин [4]. Внесення в кювету DIDS, перед еритроцитами у концентрації 2 або 20 мкмоль/л, призводить до усунення флуктуацій ОЩ (Рис. а, треки 2,3), що характерно для даного реагенту, що може викликати утворення сферичних форм клітин. При включенні еритроцитів у сульфатне середовище відзначається зниження ОЩ клітинної суспензії протягом ~30 сек з наступним щодо стійким рівнем ОЩ та відсутністю флуктуацій ОЩ протягом ~5 хв (Рис. а, трек 4). Цей результат вказує на те, що клітини не змінюють свою форму і залишаються переважно сфероцитами. Необхідно відзначити, що у сульфатному середовищі при pH 5,6 еритроцити стають ехіноцитами та ретрансформуються у дискоцити і стоматоцити [1]. Як зазначають автори даної роботи, зміна форми еритроцитів пов'язана з Cl^-/SO_4^{2} - обміном та перерозподілом транспортних сайтів аніонного переносника. Ймовірно, при значенні pH сульфатного середовища 7,4 цей перерозподіл сайтів не сприяє ретрансформації клітин.

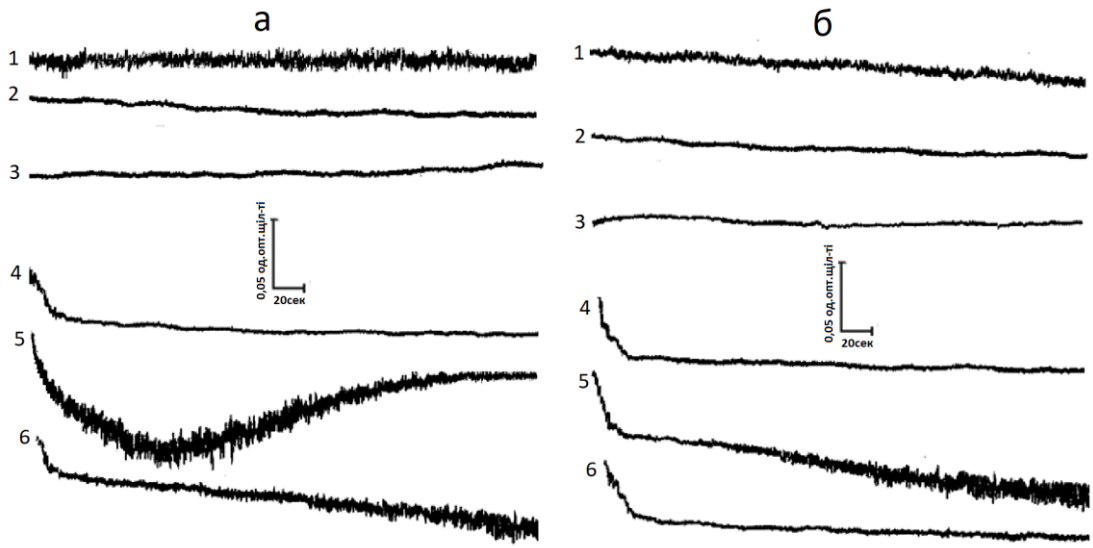


Рис. Зміна інтенсивності флуктуацій ОЩ суспензії інтактних (а) та кріоконсервованих (б) еритроцитів при перемішуванні в кюветі СФ: 1-3 – у хлоридному середовищі 4-6 – у сульфатному середовищі. У середовища перед додаванням клітин додавали DIDS: 2,5 – 2 мкмоль/л, 3,6 – 20 мкмоль/л. 1,4 – контроль.

У той же час, включення у сульфатне середовище DIDS (2 мкмоль/л), перед внесенням еритроцитів, викликає оборотну ретрансформацію клітин – зниження ОЩ з паралельним зростанням інтенсивності флуктуації ОЩ протягом 1-2 хв з подальшим зростанням ОЩ і паралельним послабленням флуктуації ОЩ до ~5-ї хв (Рис. а, трек 5). Слід зазначити, що інтенсивність флуктуації ОЩ на 1-2 хв перевищує таку, що відзначається для еритроцитів у хлоридному середовищі (Рис. а, трек 1). Це вказує на ретрансформацію значної частини клітин у дискоїдні форми, можливо, у дискоцити (нормоцити). Ця оборотна ретрансформація еритроцитів відбувається при перемішуванні клітинної суспензії, тобто в умовах моделювання потоку. Разом з тим, у присутності підвищеної концентрації DIDS (20 мкмоль/л), відзначається гальмування досліджуваної ретрансформації клітин, яка починає проявлятися на ~5-ій хв експериментального треку (Рис. а, трек 6).

При включенні кріоконсервованих еритроцитів у хлоридне середовище відзначається флуктуація ОЩ (Рис. б, трек 1), яка менш інтенсивна, ніж для інтактних клітин (Рис. а, трек 1), що вказує на наявність меншої кількості

дискоцитів. У присутності DIDS (2 мкмоль/л) для кріоконсервованих еритроцитів у сульфатному середовищі відзначається розвиток флуктуації ОЩ к ~5-ї хв (Рис. б, трек 5), порівняний з інтенсивністю розвитку для інтактних клітин на 1-2 хв (Рис. а, трек 5). Очевидно, що кріоконсервування еритроцитів призводить до інгібування ретрансформації клітин. Підвищення концентрації реагенту (20 мкмоль/л) повністю пригнічує розвиток флуктуацій ОЩ і, отже, розвиток дискоїдності клітин (Рис. б, трек 6). У той же час дана концентрація DIDS не повністю пригнічує розвиток флуктуацій ОЩ у випадку інтактних клітин (Рис. а, трек 6). Це, ймовірно, пов'язано з тим, що при кріоконсервуванні еритроцитів відбувається порушення ЕС взаємодій у мембранах, яке сприяє інгібуванню ретрансформації клітин у присутності DIDS. Є дані, що при кріоконсервуванні еритроцитів у середовищі з гліцерином або 1,2-ПД відзначається зниження поверхневого електричного потенціалу через порушення ЕС балансу клітинних мембран [5]. Початкове зниження ОЩ суспензії еритроцитів у сульфатному середовищі, за відсутності та у присутності інгібітора DIDS (Рис. а, б, треки 4-6), вказує на те, що цей експериментальний факт не залежить від функціонування Cl^-/SO_4^{2-} - обміну, а, ймовірно, визначається модифікацією ЕС структури поверхні клітин у даному середовищі.

У вхідній порожнині каналу AE1 локалізуються позитивно заряджені залишки амінокислот, які пов'язують Cl^- - аніони [2]. Можна припустити, що асоціація-дисоціація аніонів на зарядах та Cl^-_{in}/Cl^-_{out} - самообмін призводять до динамічного екранування даних зарядів. Екранування зарядів, ймовірно, робить внесок у встановлення ЕС структури локальних ділянок, що прилягають до AE1, які можуть включатися у формування ЕС структури поверхні мембран. Очевидно, що зв'язування інгібітора DIDS у каналі спричиняє порушенню даного екранування. Крім того, DIDS нейтралізує позитивно заряджений амінокислотний залишок Lys581 біля входу в канал і вносить в його вхідну порожнину дві свої SO^{3-} - групи, одна з яких нейтралізує Arg730 [2]. Зміна локальної ЕС структури ділянок мембран, прилеглих до AE1 при зв'язуванні

DIDS, може бути причиною ретрансформації еритроцитів. Разом з тим при підвищеній концентрації цього інгібітору (20 мкмоль/л) та насичення зв'язування в каналі, він, ймовірно, взаємодіє з іншими місцями на мембрані, що спричиняє зміну загальної ЕС структури та гальмування ретрансформації еритроцитів. Ймовірно, порушення ЕС структури мембран при кріоконсервуванні еритроцитів є причиною інгібування їхньої ретрансформації, тоді як зміна локальної ЕС ділянок мембран, прилеглих до каналу AE1, може бути основою для спрямованої формомодифікації клітин.

Неспіралізований фрагмент білка AE1 в ліпідному біслої Pro815-Lys829, що включає заряджений KDKRK-кластер, має функціональне значення в аніон-транспортній системі еритроцитів за допомогою якого може ініціюватися модифікація структури мембран [6]. Сегмент Leu812-Arg827, що включає чотири з п'яти зазначених заряджених залишків амінокислот, необхідний для зв'язування аніонів і є епітопом позаклітинного антигену, що експонується на зовнішню поверхню при старінні еритроцитів [7]. Ці дані літератури вказують на те, що ступінь доступу амінокислотних залишків до зовнішнього середовища може визначатися станом мембрани і, можливо, умовами потоку в кровоносній системі.

Чутливість ретрансформації еритроцитів у сахарозному середовищі до мікромольних концентрацій органічних аніонів (150-250 мкМ), а також до HCO3-, OH- та H+ (10-25 мкМ) [4], вказує на існування локалізованого механізму регуляції форми клітин, який може бути пов'язаний із вищевказаним кластером амінокислот. Подібний заряджений внутрішньоклітинний RKKEE-кластер механочутливого каналу *E.coli* функціонує як сенсор іонів H+, який утримує канал закритим, коли зовнішній показник pH падає нижче за оптимальне значення, оскільки канал утворює шлях входу іонів H+ [8]. Локалізованим механізмом можна пояснити приклади безпосередніх трансформаций стоматоцитів у ехіноцити, які виключають проміжні дискоїдні форми еритроцитів і тому не цілком зрозумілі з позиції механізму біслойного сполучення [4]. Крім того, даним механізмом можна пояснити прояв

нестандартної морфології, який полягає у тому, що стоматоцити набувають особливостей, властивих ехіноцитарним формам еритроцитів, що збереглися після постгіпертонічного шоку в присутності стоматоцитогенного агента хлорпромазину [9].

Висновки.

1. Виявлено оборотну ретрансформацію сферичних еритроцитів у дискоїдні форми при моделюванні умов потоку внаслідок перемішування клітинної суспензії у сульфатному середовищі у присутності інгібітора аніонного каналу DIDS (2 мкмоль/л). Ймовірно, при зв'язуванні негативно зарядженої молекули DIDS у каналі модифікується локальна ЕС структура мембран, що є причиною ретрансформації еритроцитів внаслідок оборотних змін структури ділянок мембрани, що прилягають до AE1.

2. Показано, що ретрансформація еритроцитів пригнічується при підвищеній концентрації DIDS (20 мкмоль/л). Пригнічення ретрансформації для кріоконсервованих клітин відбувається при відсутності DIDS. Це вказує на те, що порушення ЕС балансу клітинних мембран при кріоконсервуванні еритроцитів є причиною пригнічення їх ретрансформації.

3. Можна припустити, що зміна потоку за фізіологічних умов у кровотоку, викликає експонування прихованих у мембрані заряджених залишків амінокислот AE1, які стають мішенню впливу аніонів та іонів H+. Дані впливи можуть призводити до модифікації локальної електростатики та структури ділянок мембран, прилеглих до AE1, що може бути основою спрямованої формомодифікації клітин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.

1. Gimsa J, C Ried 1995. Do band 3 protein conformational changes mediate shape changes of human erythrocytes? Mol Membr Biol. V. 12. № 3. P. 247. doi: 10.3109/09687689509072424.

2. Reithmeier R.A., Casey J.R., Kalli A.C. 2016. Band 3, the human red cell chloride/bicarbonate anion exchanger (AE1), in a structural context. Biochim

Biophys Acta. V. 1858. (7 Pt A). P. 1507. doi: 10.1016/j.bbamem.2016.03.030.

3. Рамазанов В.В, Воловельская Е.Л., Нипот Е.Е. 2018. Свойства эритроцитов, отмытых после быстрого замораживания-оттаивания в среде с сахарозой и 1,2-прОЩандиолом. Актуальні проблеми сучасної медицини. V. 18. № 1. С.188.

4. Rudenko S.V. 2010. Erythrocyte morphological states, phases, transitions and trajectories. Biochim Biophys Acta. V. 1798. № 9. P. 1767. doi: 10.1016/j.bbamem.

5. Gordiyenko O.I., Anikieieva M.O., Rozanova S.L., Kovalenko S. Ye., Kovalenko I. F. 2015. Development of a model to investigate red blood cell surface characteristiks after cryopreservation. Cryo Letters. V. 36. № 3. P. 221.

6. Zhu Q., Lee D.W.K., Casey J.R. 2003. Novel topology in C-terminal region of the human plasma membrane anion exchanger, AE1. J Biol Chem. V. 278. № 5. P. 3112. doi: 10.1074/jbc.M207797200.

7. Kay M.M., Lin F.B. 1990. Molecular mapping of the active site of an aging antigen: senescent cell antigen requires lysine(s) for antigenicity and is located on an anion-binding segment of band 3 membrane transport protein. Gerontology. V. 36. № 5-6. P. 293. doi: 10.1159/000213214.

8. Kloda A., Ghazi A., Martinac B. 2006. C-terminal charged cluster of MscL, RKKEE, functions as a pH sensor. Biophys J. V. 90. №6. P. 1992. doi: 10.1529/biophysj.

9. Шпакова Н.М., Семіонова К.А., Коваленко І.Ф., Ершова Н.А., Орлова Н.В. 2017. Морфологічні особливості температурної та осмотичної реакції еритроцитів за наявності хлорпромазину. Фізіол. Журн. Т. 63. № 5. С. 62.