

T-хелперов и T-супрессоров и число В-лимфоцитов. Одновременно обнаружено, что введение тироксина гипотиреозным животным вызывает увеличение коэффициента А почти в 2 раза и за счет активации 5'-нуклеотидазы и АМФ-дезаминазы нормализует уровень коэффициента В. Эти данные с большей убедительностью свидетельствуют об участии тиреоидных гормонов в регуляции иммунного статуса через изменение активности ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов.

Выводы:

1. Гормоны щитовидной железы оказывают регуляторное воздействие на ферменты контролируемые уровень аденозина, АМФ и инозина.

2. Механизм тиреоидного контроля функций клеток иммунной системы в значительной степени осуществляется через регуляцию активности ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и нуклеозидов: 5'-нуклеотидазы, аденозиндезаминазы и АМФ-дезаминазы.

3. Повреждающее действие радиации и других стрессорных факторов на иммунный статус осуществляется через изменение содержания в клетке аденозина, АМФ и инозина и систем, регулирующих активность ферментов обеспечивающих метаболизм и уровень пуриновых нуклеотидов и нуклеозидов в организме.

4. Для характеристики функционального состояния иммунной системы можно определять активность ферментов метаболизма пуриновых нуклеотидов и коэффициентов А и В не только в лимфоцитах, но и в плазме крови.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тапбергенов С.О., Тапбергенов Т.С. // Биомедицинская химия, Москва, 2005 т.51 №2 с.199-205.
2. Тапбергенов С.О., Тапбергенов Т.С. // Труды 6 съезда физиологов Казахстана, июль, 2007г с.114-117.
3. Тапбергенов Т.С., Прозор И.И., Олжаева Р.Р. // Фундаментальные исследования, Москва, 2008 №6 с.39-44.
4. Тапбергенов С.О., Тапбергенов Т.С. // Успехи современного естествознания 2009 №7 с.92-93.

ОНКОФЕТАЛЬНЫЕ БЕЛКИ И ИХ УЧАСТИЕ В БЕЛКОВЫХ СЕТЯХ

Терентьев А.А., Молдогазиева Н.Т.,
Татаринов Ю.С.

*Российский государственный медицинский университет имени Н.И. Пирогова
Москва, Россия*

Белок-белковые взаимодействия в живых клетках в последнее время стали объектом пристального внимания исследователей, так как современное состояние вычислительной техники позволило выявить определенные закономерности таких взаимодействий и подвергнуть их анализу. На основании математического анализа таких взаимодействий сформулирована концепция белковых сетей, образующихся группами физически взаимодействующих друг с другом белков. Белковые сети являются одной из разновидностей молекулярных сетей, к которым относятся также: геновые сети, включающие гены и контролирующие их функционирование регуляторные РНК и факторы транскрипции; метаболические сети, состоящие из субстратов и продуктов биохимических реакций; и сети сигнальных молекул, включающие рецепторы, их лиганды и внутриклеточные эффекторы. Анализ белковых сетей позволяет решать ряд задач фундаментальной медицины, среди которых необходимо выделить выявление и объяснение механизмов возникновения и развития заболеваний, включая опухолевые, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые, аутоиммунные, а также поиск молекулярных мишеней для действия лекарств.

Несмотря на то, что имеющиеся в настоящее время данные по анализу белковых сетей, ассоциированных с заболеваниями, неполны и неоднозначны, достаточно четко показано, что белки, ассоциированные с опухолями, характеризуются большей плотностью связей и имеют в два раза больше взаимодействующих партнеров, чем нормальные белки. Наличие большего количества взаимодействующих партнеров обуславливает центральную роль этих белков в сети и означает большую вовлеченность в патофизиологические процессы, происходящие в клетке.

Сайто и соавторами, 2008, было показано, что ряд белков проявляют совместную экспрессию с альфа-фетопротеином (АФП), являющимся основным онкофетальным белком всех млекопитающих. Среди этих белков были обнаружены факторы транскрипции, факторы коагуляции, белки, участвующие в регуляции ангиогенеза и метаболизма железа, фактор Виллебранда, факторы роста. Все эти белки так или иначе принимают участие в регуляции

эмбрио- и канцерогенеза. Была построена белковая сеть, включающая эти белки и позволяющая на основе её анализа выявлять потенциальные маркеры опухолевых заболеваний. Выявление генов, ассоциированных с опухолевыми заболеваниями, и их белковых продуктов, взаимодействующих с известными белками – биомаркерами опухолей, может способствовать разработке новой стратегии в диагностике заболеваний.

Использование специальных компьютерных программ типа Cytoscape позволяет визуально сопоставлять экспериментальные данные и использовать их совместно с информацией, содержащейся в аннотированных базах данных по молекулярным сетям. Так, с применением данного подхода было показано, что белки, участвующие в регуляции эпителиально-мезенхимного перехода, инициированного в клетках почек под воздействием TGF- β 1, образуют единую сеть. Анализ онтологии генов показал гиперэкспрессию белков, входящих в состав сигнальных путей, контролирующих морфогенез и эмбриональное развитие. Анализ молекулярных сетей способствует также пониманию механизмов, лежащих в основе возникновения комплексных заболеваний, обусловленных как генетическими, так и негенетическими факторами, такими как факторы окружающей среды, тип питания и др. На этой основе предлагается новый подход к диагностике и классификации заболеваний. Анализ молекулярных сетей позволяет также выявлять новые потенциальные мишени для лекарств и определять резистентность клеток к лекарствам. Фактически, это обеспечивает новые подходы к лечению заболеваний. Так, сравнительный анализ сетей, образованных белками, вовлеченными в апоптоз клеток HeLa и нормальных фибробластов у человека, способствовал не только выяснению механизма развития апоптоза, но и поиску потенциальных мишеней для действия лекарств. Было установлено существование большого числа взаимодействий (841) в опухолевых (HeLa) и нормальных клетках. Из них 18,7% присутствовали в опухолевых клетках и отсутствовали в нормальных. И наоборот, примерно столько же взаимодействий, наоборот, было выявлено в нормальных, но не обнаруживалось в опухолевых клетках. Суммарно эти взаимодействия были определены как потенциальные мишени для действия лекарств. Было высказано предположение, что белки BCL2, PT53 и каспаза-3 могут являться мишенями для действия лекарств.

Модули белков, ответственные за их взаимодействие. В настоящее время становится признанным, что многие белки эукариот

являются мультимодульными и полифункциональными. При этом каждый из модулей (мотив или домен) ответственен за ту или иную функцию белка и может функционировать независимо от других. В результате этого белковая молекула приобретает способность выполнять целый комплекс различных функций. Вероятно, эти функции взаимосвязаны, т.е. набор функциональных модулей того или иного конкретного белка, видимо, образован не случайным образом. Какой из модулей белка может быть задействован, зависит от типа клетки, её микроокружения, физиологического и патофизиологического состояния клетки, а также микроокружения самой белковой молекулы. Мультимодульность белков может приводить к значительному усложнению характера белковых сетей. В случае, если в узлах белковых сетей располагаются мультимодульные, полифункциональные белки, каждый узел может быть представлен не отдельным белком, а его функциональным модулем, и связи между узлами становятся взаимопереплетенными. В связи с этим, представляется важным составление структурно-функциональных карт для мультимодульных и полифункциональных белков с целью выявления участков, ответственных за ту или иную функцию, в том числе за белок-белковые взаимодействия. Экспериментально показано, что белок-белковые взаимодействия осуществляются с помощью белковых доменов одних белков и соответствующих им коротких линейных пептидных мотивов других белков. Если белок содержит несколько доменов для взаимодействия или несколько связывающих мотивов, то он может одновременно взаимодействовать с несколькими белками, что приводит к образованию белковых комплексов. Примерами доменов, участвующих в белок-белковых взаимодействиях, являются SH2 и РТВ домены, связывающиеся с фосфорилированными остатками тирозина в составе рецепторов, или SH3 и WW домены, реагирующие с пролин-богатыми мотивами белков.

Изучение строения SH3-доменов показало, что их полипептидная цепь содержит около 50–70 аминокислотных остатков и организована в пять β -складчатых структур. В настоящее время известно более 1500 различных SH3-доменов, классическим участком связывания которых является PXXP мотив (где Р – пролин, а Х – любая аминокислота).

Такие PXXP мотивы были обнаружены нами в альфа-фетопротеине (АФП) и во всех белках PSG (Pregnancy-specific glycoprotein) человека. PSG представляют собой группу секреторируемых белков, синтезируемых в плаценте

и играющих важную роль в нормальном протекании беременности. PSG1 был впервые обнаружен в 1970 году Ю.С.Татариновым и В.Н. Масюкевич и обозначен в начале как трофобласт-специфический бета-глобулин (ТБГ). Позже был обнаружен целый ряд белков PSG у человека и грызунов и было показано, что эти белки выполняют иммуномодуляторную функцию, а также регулируют ангиогенез и предотвращают окислительный стресс во время беременности. Вероятно, обнаруженные нами РХХР мотивы участвуют в передаче сигнала, инициированного этими белками путем связывания с адаптерными белками. Построение белковых сетей, включающих эти белки, могло бы прояснить важность этих белков в метаболических процессах клетки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского гуманитарного научного фонда (грант № 09-06-00241а).

ВЛИЯНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ КАРТИНУ ПЕЧЕНИ ПРИ СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭМИ КВЧ И ЦИТОСТАТИКОВ

Хадарцев А.А., Иванов Д.В., Субботина Т.И.,
Савин Е.И., Иванов В.Б., Хренов П.А.
*Тульский государственный университет
Тула, Россия*

Целью настоящей экспериментальной работы является сравнение изменений морфологической картины печени, подвергшейся поражению цитостатиками, при воздействии на организм только введения стволовых клеток и при сочетанном влиянии введения стволовых клеток и воздействия на организм ЭМИ КВЧ.

Экспериментальные исследования выполнены на беспородных крысах обоих полов в возрасте от 3 до 6 месяцев. Для решения поставленных задач и достижения цели работы все животные были разделены на следующие экспериментальные группы:

1. Первой группе животных вводили цитостатик (фторурацил 0,1 мл). По истечении пяти суток половине животных в данной группе вводили стволовые клетки. Оставшиеся животные использовались в качестве группы сравнения.

2. Второй группе животных также вводился цитостатик (фторурацил 0,1 мл), после чего по истечении пяти суток вводили стволовые клетки. Часть животных оставляли для группы сравнения. Все животные второй груп-

пы подвергались модулирующему воздействию ЭМИ КВЧ частотой 37 ГГц, мощностью 0,5 мВт/см², время однократного облучения составило 30 минут, суммарное время воздействия равняется 180 минутам.

3. Третья группа - интактные животные, использовались в качестве контроля. Оценка полученных результатов проводилась на основании морфологического исследования печени. Забор материала во всех группах осуществлялся спустя 6 дней от начала эксперимента.

Результаты исследования

У животных первой и второй экспериментальных групп, не подвергшихся введению стволовых клеток (группы сравнения) после введения цитостатика при исследовании печени выявлены следующие морфологические изменения: наблюдается уменьшение количества купферовских клеток, синусоиды и центральные вены расширены. В просвете синусоидов формируется слайдж-феномен, в просвете центральных вен - микротромбы. Отсутствует инфильтрация портальных полей макрофагами и лимфоцитами. Митотическая активность гепатоцитов во всех зонах классических печеночных долек низкая, двухъядерные гепатоциты отсутствуют.

У животных первой экспериментальной группы, которым были введены стволовые клетки, морфологическая картина ткани печени существенно не отличалась от таковой у животных первой экспериментальной группы, которым не вводились стволовые клетки. У животных второй экспериментальной группы на фоне облучения ЭМИ КВЧ в ткани печени выявлено увеличение количества синусоидальных клеток, появление макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации в портальных полях, присутствует выраженная митотическая активность гепатоцитов во всех зонах классической печеночной дольки. Морфологические признаки нарушения микроциркуляции отсутствуют.

Выводы

Полученные в ходе данной работы результаты свидетельствуют о том, что при сочетании введения стволовых клеток и воздействия на организм ЭМИ КВЧ наблюдается более выраженная положительная динамика изменений морфологической картины печени, подверженной поражению цитостатиками, чем при изолированном введении стволовых клеток вследствие того, что электромагнитные поля оказали в данном случае модулирующее влияние на пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток.