КАМЛД

ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА

4 (19) 2016

КАЗАХСТАНСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

www.labmed.kz

modular pro
combi line

Labtronic®
ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

КАМЛД

ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА

4 (19) 2016

Казахстанская ассоциация медицинской лабораторной диагностики

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ
Председатель редакционной коллегии – Рысулы М.Р.

Уразбаева Д.Ч. (зам. председателя редакционной коллегии), Ахматуллина Н.Б., Баймуратова М.А., Бейсембаева Ш.А., Джардемов Э.Э., Длимбетов Е.Т., Иванов А.В., Калимолдаева С.Б., Ким Т.Я., Кожинов П.Л., Пономаренко И.В., Шибанова А.И.

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ
Уразбаева Д.Ч.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ
Абишев Т.Ж. (Алматы), Азизов И.С. (Смоленск), Ахметов В.И. (Алматы), Бекиров Д.С. (Алматы), Билялова К.И. (Алматы), Бисенова Н.М. (Астана), Булегенова М.Г. (Алматы), Гильманов А.Ж.(Уфа), Дурумбетов Е.Е. (Алматы), Жакипбаева Б.Т. (Алматы), Каральник Б.В. (Алматы), Лебедев А.С. (Астана), Маймакова А.М. (Алматы), Мека-Меченко Т.В. (Алматы), Мусаев А.Т. (Алматы), Мухаметкалиев Н.А. (Алматы), Рамазанова Б.А. (Алматы) Сейдуалиева Б.С. (Алматы), Сулейменова Ж.Н.(Астана), Сыдыкова С.И. (Алматы),Тугамбаев Т.И. (Алматы), Турланов К.М. (Алматы), Шопаева Г.А. (Алматы), Щербо С.И. (Москва).

КООРДИНАТОР КАМЛД
Мадина САПАРБАЕВА

Редакция не всегда разделяет мнение авторов публикации. Ответственность за содержание рекламы несут рекламодатели. Рекламодатели предупреждены об ответственности за рекламу незарегистрированных, не разрешенных к применению МЗСР РК лекарственных средств, изделий медицинского назначения и оборудования. При перепечатке материалов ссылка на журнал «Лабораторная медицина» обязательна.

Редакция журнала «Лабораторная медицина» принимает для опубликования статьи по вопросам организации, управления и модернизации здравоохранения.

К сведению авторов:
1. Статьи предоставляются на бумажном и электронном носителях. Допустима пересылка электронной версии по e-mail.
2. На первой странице указываются инициалы авторов, их должности, ученые степени и звания, полное название учреждения, где работают авторы.
3. На последней странице должны быть подписи авторов с указанием почтового адреса и телефонов.
4. Таблицы, графики и рисунки должны быть компактными, иметь порядковый номер, название и четко обозначенные графы.
5. Редакция оставляет за собой право редактирования и сокращения текста.

Собственник и издатель: ТОО «МедМедиа Казахстан»

MedMedia в составе MedExpert

Зарегистрирован в Министерстве информации и культуры РК, свидетельство о постановке на учет №11928-Ж от 16.08.2011 г.

Электронная версия журнала на сайтах
www.labmed.kz, www.medmedia.kz, www.kamld.kz

Генеральный директор-главный редактор: Айдын ДЖАНКУРАЗОВА

Выпускающий редактор: Виктория ФЕРТЕНКО

Верстка и дизайн: Асель РАХИМБАЕВА

Руководитель отдела рекламы: Мадина САПАРБАЕВА

Менеджер по распространению и подписке: Мадина САПАРБАЕВА

Водитель: Тимур КАУЛАНБАЕВ

Веб-дизайнер: Дмитрий КОНШИН

Отдел подписки
+7 (727) 250 00 11
e-mail: podpiska@medmedia.kz

Адрес редакции:
Республика Казахстан, 050026,
г.Алматы, ул. Байзакова 125/185, НП 2, офисы 208
тел. +7 (727) 250 00 11
e-mail: info@kamld.kz, info@medmedia.kz

Отпечатано в типографии
ТОО "ПК Муравей"
Адрес: ул. Толе би, 304, оф. 301
тел.: +7 (727) 238 14 28, 238 14 29
www.muravei.kz

Тираж: 500 экз.

Журнал «Лабораторная медицина» распространяется по подписке, на открытых площадках общественно значимых мероприятий и в медицинских учреждениях.

IMMUNOLOGY

Study of lupus anticoagulant in pregnant women of kazakh ethnic groups in Almaty
A.M. Kalimagambetov, SH.A. Beisembayeva, N.K. Degemerzanova, Z.B. Rakisheva, K.A. Saduyeva, A.H. Erdenova, M.V. Solomadin

ИММУНОЛОГИЯ

Исследование содержания волчаночного антикоагулянта у беременных женщин казахской этнической группы г. Алматы
А.М. Калимагамбетов, Ш.А. Бейсембаева, Н.К. Дегемерзанова, З.Б. Ракишева, К.А. Садуева, А.Х. Ерденова, М.В. Соломадин

ИММУНОЛОГИЯ

Алматы қаласындағы қазақ этникалық тобының жүкті әйелдеріндегі қызыл жегі антикоагулянтының құрамын зерттеу
А.М. Калимагамбетов, Ш.А. Бейсембаева, Н.К. Дегемерзанова, З.Б. Ракишева, К.А. Садуева, А.Х. Ерденова, М.В. Соломадин 3

CYTOLOGY

Study homocysteine concentrations in pregnant women Almaty
N.K. Degemerzanova, SH.A. Beisembayeva, A.M. Kalimagambetov, Z.B. Rakisheva, K.A. Saduyev, A.H. Erdenova, M.V. Solomadin

ЦИТОЛОГИЯ

Исследование концентрации гомоцистеина у беременных женщин казахской этнической группы г. Алматы
Н.К. Дегемерзанова, Ш.А. Бейсембаева, А.М. Калимагамбетов, З.Б. Ракишева, К.А. Садуева, А.Х. Ерденова, М.В. Соломадин

ЦИТОЛОГИЯ

Алматы қаласындағы қазақ этникалық тобының жүкті әйелдеріндегі гомоцистеин концентрациясын зерттеу
Н.К. Дегемерзанова, Ш.А. Бейсембаева, А.М. Калимагамбетов, З.Б. Ракишева, К.А. Садуева, А.Х. Ерденова, М.В. Соломадин 8

The state of cytoskeleton and its lincs "oxygen-peroxide" Effects in some pathologies and apoptosis
B.I. Ismailov, S.B. Ismailov

Состояния цитоскелета: связь с кислородно-перекисными эффектами в норме, при клеточных патологиях и апоптозе
Б.И. Исмаилов, С.Б. Исмаилов

Митохондиологияға және митохондриальды медицинаға кіріспе: цитоқаңқа жағдайының қалыпты жағдайдағы, жасушалық патологиялардағы және апоптоз кезіндегі оттегі-асқын тотығу әсерлерімен байланысы
Б.И.Исмаилов С.Б. Исмаилов 13

New information on mechanisms of carcinogenesis and oncotherapy
N.R. Ablaev

Новые сведения о механизмах канцерогенеза и онкотерапии
Н.Р. Аблаев

Канцерогенез механизмдері және онкотерапия туралы жаңа мәліметтер
Н.Р. Аблаев 31

МРНТИ 76.03.55
УДК 618.3

А.М. Калимагамбетов[1], Ш.А. Бейсембаева[2], Н.К. Дегемерзанова[3], З.Б. Ракишева[3], К.А. Садуева4, А.Х. Ерденова[3], М.В. Соломадин[3]

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ВОЛЧАНОЧНОГО АНТИКОАГУЛЯНТА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН КАЗАХСКОЙ ЭТНИЧЕСКОЙ ГРУППЫ Г. АЛМАТЫ

[1]КазНУ им. АльФараби, кафедра молекулярной биологии и генетики
[2]КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, кафедра КЛДиММ
[3]Молекулярно-генетическая лаборатория TreeGene
[4]Городской перинатальный центр
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

Проведено исследование содержания волчаночного антикоагулянта в венозной крови беременных женщин казахской этнической группы с отягощенным акушерским анамнезоми физиологическим течением беременности. Содержание волчаночного антикоагулянта определялось с помощью иммунноферментного метода. Исследование проводилось на полностью автоматизированном анализаторе гемостаза для исследований свертывающей системы крови – коагулометре SYSMEX CA 1500 (Япония). Результаты исследования показали, что средние значениясодержания волчаночного антикоагулянта в венозной крови женщин с осложнениями беременности и в контрольной группе находятся в пределах референсных значений – 0,951±0,020у.е.и 0,857±0,015 у.е., соответственно. Выявлен достоверно повышенный уровень (p<0,001) волчаночного антикоагулянта убеременных женщин сотягощенным акушерским анамнезом по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: *волчаночный антикоагулянт, осложнение беременности, тромбофилия.*

В настоящее время тромбофилия, нарушение системы свертывания крови, обуславливающее возникновение тромозов и тромбоэмболий, является одной из основных причин синдрома потери плода. Тромбофилия условно различается на приобретенную и наследственную.

Роль тромбомбофилии в структуре причин синдрома потери плода составляет 40-80% [1].

Наиболее частой причиной приобретенной тромбофилии является антифосфолипидный синдром(АФС). Антифосфолипидный синдром – это клиническое состояние, которое характеризуется повторяющимися тромбообразованиями и акушерскими патологиями (периодические потери плода, задержка внутриутробного развития плода, преэклампсии, мертворождения и др.) [2,3].

Согласно данным литературы, популяционная частота АФС составляет около 5 %, среди пациенток с привычным невынашиванием беременности АФС встречается у 27–42 %. Потеря плода у женщин с АФС при отсутствии лечения происходит в 80–95 % случаев [4,5].

Показано, что антифосфолипидные антитела повышают экспрессию ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1) и тканевого фактора, что усиливает протромботические механизмы и снижает активность фибринолиза, приводя к дефектам имплантации и снижению глубины децидуальной инвазии трофобласта [1].

В условиях АФС и преэклампсии риск развития катастрофической формы антифосфолипидного синдрома с полиорганной недостаточностью и нередко летальным исходом для матери и ребенка выше, чем в отсутствие антифосфолипидных антител [6].

Существует целый ряд антител к фосфолипидам: волчаночный антикоагулянт, антитела к кардиолипину, b2-гликопротеин-1-кофакторзависимые антитела, антитела к факторам свертывания крови, антитела к веществам, наоборот, препятствущим этому процессу и др. На практике обычно чаще всего определяются первые два – волчаночный антикоагулянт и антитела к кардиолипину.

При этом установлено, что частота выявления

волчаночного антикоагулянта лучше коррелирует с развитием тромбозов, чем частота выявления антител к кардиолипину [7].

Следует иметь в виду, что при достаточно полном иммунологическом обследовании значительная часть случаев АФС (по разным данным 35–60 %) остается нераспознанной, если одновременно не определяется в плазме крови антикоагулянты волчаночного типа [8].

Целью данной работы явилось определение содержания волчаночного антикоагулянта в венозной крови беременных женщин казахской этнической группы с отягощенным анамнезом и физиологическим течением беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы две группы беременных женщин, направленных из Городского перинатального центра и женских консультаций № 3, № 6 и № 8 г. Алматы. Основную группу (n=53) составили женщины, имевшие в анамнезе от двух и более беременностей с осложнениями в виде преэкламсии, эклампсии, замершей беременности, самопроизвольных выкидышей и т.д. Контрольную группу (n=28) составили женщины с двумя и более нормальными исходами беременностей и с отсутствием в анамнезе выкидышей и осложнений беременности в виде преэклампсии, эклампсии, замершей беременности, ПОНРП. Средний возраст женщин в основнойгруппе составил 32,1±0,6 лет, в контрольной группе – 33,9±1,01 лет. Все женщины дали информированное согласие на обследование.

Содержание волчаночного антикоагулянта определялось с помощью иммунноферментного метода. Исследование проводилось на коагулометре SYSMEX CA 1500 (Япония). Прибор представляет собой полностью автоматизированный анализатор гемостаза для исследований свертывающей системы крови в диагностических лабораториях. В основу метода определения волчаночного анткоагулянта положено его свойство ингибировать фосфолипиды, удлиняя тем самым время свертывания в тестах АЧТВ, время разбавленного яда гадюки Рассела, протромбиновое время, каолиновое время. Тромбоциты или тромбоцитарные фрагменты в исследуемой плазме влияют на результаты анализа, маскируя нарушения коагуляционных тестов, вызванные присутствием волчаночного антикоагулянта. Для исследований необходимо использовать плазму крови, лишенную тромбоцитов, полученную двойным центрифугированием. Исследование гепаринизированной плазмы не рекомендуется. Венозную кровь вносят в силиконированную стеклянную или пластиковую пробирку на 3,8% (0.11моль/л) цитрате натрия (9:1). Центрифугируют 15 мин при 3000 об/мин (1200g), плазму переносят в другую пробирку и повторно центрифугируют 15 мин при 3000 об/мин (1200g). Центрифугирование следует проводить как можно скорее после взятия крови. Немедленно после центрифугирования переносят плазму в пластиковую пробирку. Для анализов достаточно 2 мл бедной тромбоцитами плазмы. Время хранения при комнатной температуре - не более 4 часов, при 2–8°С не более 8 часов. Допускается однократное замораживание плазмы при температуре – 20°С [9]. Референсное значение волчаночного антикоагулянта составляет 0,8-1,2 у.е. [8].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t – критерия Стьюдента, достоверными считались различия при p<0,05.Вработе рассчитан риск возникновения синдрома потери плода (OR – oddsratio) с 95 %-м доверительным интервалом (CI – confidenceinterval). Значение OR рассчитанс использованием четырехпольной таблицы[10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице представлены предварительные данные исследования по содержанию волчаночного антикоагулянта в венозной крови беременных женщин.

Таблица 1 – Содержание волчаночного антикоагулянта в венозной крови беременных женщин.

Группа обследованных женщин	Количество обследованных женщин	Содержание волчаночного антикоагулянта, у.е.
Беременные женщины с отягощенным акушерским анамнезом	53	0,951±0,020
Контрольная группа	28	0,857±0,015

Как видно из таблицы средние значения содержанияволчаночного антикоагулянта в венозной крови женщин с осложнениями беременности и в контрольной группе находятся в пределах его референсных значений – 0,951±0,020 у.е. и 0,857±0,015 у.е., соответственно. Сравнительный анализ полученных результатов показал достоверно повышенный уровень (p<0,001) волчаночного антикоагулянта у беременных женщин с отягощенным акушерским анамнезом по сравнению с контрольной группой.

Отечественными учеными при изучении роли тромбофилии в генезе синдрома потери плода у женщин казахской популяциипоказано, что приобретенная форма тромбофилии, к которой относится антифосфолипидный синдром, обнаруживается у 26 пациенток (26,0±4,4%; p<0,001)основной группы, в контрольной группе – у 1 (1%)[11].

Исходя из полученных данных и предполагая, что уровни волчаночного антикоагулянта 0,95у.е. и выше в нашем случае являются неблагоприятными для нормального развития беременности, определена доля беременных женщин группы риска в обе-

их обследованных группах. Частота встречаемости беременных женщин с отягощенным анамнезом в основной группе составил 49,1%, в то время как в контрольной группе 17,9%, что в 2,7 раза больше, чем в контрольной группе.

Таким образом, при уровне 0,95у.е. и выше, риск возникновения синдрома потери плода увеличивался в 4,4 раза (OR=4,4; 95% CI: 1,5–13,4), то есть рискстановился статистически значимым.

Работа выполнена в рамках проекта МОН РК ГР №0115РК00287.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике. – М.: Триада-Х, 2003. – 904 с.*
2. *Pierangeli S., Leader B., Barilaro G., Willis R. Acquired and inherited thrombophilia disorders in pregnancy // Obstetrics And Gynecology Clinics Of North America. – 2011. – Vol. 38. – P. 271-295.*
3. *Marchetti T., Cohen M., de Moerloose P. Obstetrical antiphospholipid syndrome: from the pathogenesis to the clinical and therapeutic implications // Clinical & Developmental Immunology. – 2013. - Vol. 2013. - P. 159124.*
4. *Kutteh W.H. Recurrent pregnancy loss: an update // Curr. Op. Obst. Gynecol. — 1999. — Vol. 11,N 5. — P. 435–439.*
5. *Ohmura K., Oku K., Atsumi T. The pathogenesis, diagnosis and treatment of antiphospholipid syndrome // Japanese Journal Of Clinical Medicine. – 2014. - Vol. 72. – P. 1309-1313.*
6. *Asherson R.A. The Catastrophic Antiphospholipid Syndrome (Asherson's Syndrome). Monograph collected papers. 1992–2005. 132 p.*
7. *Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T.Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. Blood. – 2003. -Vol. 101(5). P.1827-1832.*
8. *Назирова А.А., Малышева Е.В., Гулин А.В. Диагностика коагулянтов волчаночного типа у женщин. Вестник ТГУ. – 2012. - Т.17, вып.1. - С.315-317.*
9. *Козлов А.А., Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Кишинец Р.С., Бабенко С.В., Тихомирова К.В. / Методическое руководство: Работа на автоматических коагулометрах с использованием реагентов отечественного производства. Автоматические коагулометрыSysmex, серия CA-1500. - 2011. - 54 с.].*
10. *http://www.medstatistic.ru/theory/odds_ratio.html*
11. *Рапильбекова Г. К., Мамедалиева Н. М. Роль тромбофилии в генезе синдрома потери плода у женщин казахской популяции//Журнал акушерства и женских болезней. - 2006. - № 3. - С.31-34.*

REFERENCES:

1. *Makatsariya A.D., Bitsadze V.O. Trombofiliiiprotivotromboticheskayaterapiya v akusherskoypraktike. – M.: Triada-H, 2003. – 904 s. (in Russ.)*
2. *Pierangeli S., Leader B., Barilaro G., Willis R. Acquired and inherited thrombophilia disorders in pregnancy // Obstetrics And Gynecology Clinics Of North America. – 2011. – Vol. 38. – P. 271-295.*
3. *Marchetti T., Cohen M., de Moerloose P. Obstetrical antiphospholipid syndrome: from the pathogenesis to the clinical and therapeutic implications // Clinical & Developmental Immunology. – 2013. - Vol. 2013. - P. 159124.*
4. *Kutteh W.H. Recurrent pregnancy loss: an update // Curr. Op. Obst. Gynecol. — 1999. — Vol. 11, N 5. — P. 435–439.*
5. *Ohmura K., Oku K., Atsumi T. The pathogenesis, diagnosis and treatment of antiphospholipid syndrome // Japanese Journal Of Clinical Medicine. – 2014. - Vol. 72. – P. 1309-1313.*
6. *Asherson R.A. The Catastrophic Antiphospholipid Syndrome (Asherson's Syndrome). Monograph collected papers. 1992–2005. 132 p.*
7. *Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. Blood. – 2003. -Vol. 101(5). P.1827-1832.*
8. *Nazirova A.A., Malyisheva E.V., Gulin A.V. Diagnostikakoagulyantovvolchanochnogotipa u zhenschin. Vestnik TGU. – 2012. - T.17, vyip.1. - S.315-317 (in Russ.)*
9. *Kozlov A.A., Berkovskiy A.L., Sergeeva E.V., Kishinets R.S., Babenko S.V., Tihomirova K.V. / Metodicheskoe rukovodstvo: Rabota na avtomaticheskih koagulometrah s ispolzovaniem reagentov otechestvennogo proizvodstva. Avt omaticheskiekoagulometryiSysmex, seriya CA-1500. - 2011. - 54 s. (in Russ.)*
10. *http://www.medstatistic.ru/theory/odds_ratio.html(in Russ.).*
11. *Rapilbekova G. K., Mamedalieva N. M. Rol trombofilii v geneze sindroma poteri ploda u zhenschin kazahskoy populyatsii//Zhurnal akusherstva i zhenskih bolezney. - 2006. - № 3. - S.31-34 (in Russ.)*

SUMMARY

A.M. Kalimagambetov[1], SH.A. Beisembayeva[2], N.K.Degemerzanova[3], Z.B. Rakisheva[3], K.A.Saduyeva[4], A.H. Erdenova[3], M.V.Solomadin[3]

STUDY OF LUPUS ANTICOAGULANT IN PREGNANT WOMEN OF KAZAKH ETHNIC GROUPS IN ALMATY

[1]Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
[2]S.D.AsfendiyarovKazakh National Medical University, Kazakhstan, Almaty
[3]Genetic Laboratory TreeGene, Kazakhstan, Almaty.
[4]City Perinatal center, Almaty, Kazakhstan.

The study of the content of lupus anticoagulant in the venous blood of pregnant women of the Kazakh ethnic group with a history of complicated and physiological pregnancy. The content of lupus anticoagulant was determined by immunoassay method. The study was conducted on a fully automated hemostasis analyzer for coagulation studies – coagulometer SYSMEX CA 1500 (Japan). The results showed that the average content of lupus anticoagulant in the venous blood of women with complications of pregnancy and in the control group are within the reference range - 0,951±0,020 and 0,857±0,015, respectively. Revealed significantly elevated levels (p<0,001) lupus anticoagulant in pregnant women with a history of complicated as compared to the control group.

Key words: *lupus anticoagulant, a complication of pregnancy, thrombophilia*

ТҮЙІНДЕМЕ

А.М. Калимагамбетов[1], Ш.А. Бейсембаева[2], Н.К. Дегемерзанова[3], З.Б. Ракишева[3], К.А. Садуева[4], А.Х. Ерденова[3], М.В. Соломадин[3]

АЛМАТЫ ҚАЛАСЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ЭТНИКАЛЫҚ ТОБЫНЫҢ ЖҮКТІ ӘЙЕЛДЕРІНДЕГІ ҚЫЗЫЛ ЖЕГІ АНТИКОАГУЛЯНТЫНЫҢ ҚҰРАМЫН ЗЕРТТЕУ

[1]Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Молекулалық биология және генетика кафедрасы
[2]С.Ж. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ, ЗД ж/е ММ кафедрасы
[3]TreeGene молекулалық-генетикалық зертханасы
[4]Қалалық перинатальды орталық
Қазақстан, Алматы

Қазақ этникалық тобының ауыр акушерлік анамнезі және жүктіліктің физиологиялық ағымы бар жүкті әйелдерінің веноздық қанындағы қызыл жегі антикоагулянтының құрамын зерттеу жүргізілді. Қызыл жегі антикоагулянтының құрамы иммунноферменттік әдіс көмегімен анықталды. Зерттеу SYSMEX CA 1500 (Жапония) коагулометрінде – қан ұйыту жүйесін зерттеуге арналған толық автоматтандырылған гемостаз талдағышымен жүргізілді. Зерттеу нәтижелері жүктілік асқынулары бар жүкті әйелдердің және бақылау тобының веноздық қанындағы қызыл жегі антикоагулянты құрамының орташа мәндері референстік мәндердің – сәйкесінше, 0,951±0,020 ш.б. және 0,857±0,015 ш.б. шегінде екенін көрсетті. Бақылау тобымен салыстырғанда ауыр акушерлік анамнезі бар жүкті әйелдерінде қызыл жегі антикоагулянтының сенімді жоғары деңгейі (p<0,001) анықталды.

Түйін сөздер: *қызыл жегі антикоагулянты, жүктілік асқынуы, тромбофилия.*

Сведения об авторах:

Калимагамбетов А.М. – к.б.н., кафедра молекулярной биологии и генетики, Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Алматы, пр. аль-Фараби 71, aitkali.kalimagambetov@kaznu.kz

Бейсембаева Ш.А – к.м.н., доцент кафедры Клинической лабораторной диагностики и молекулярной медицины Казахского Национального Медицинского Университета им С.Д.Асфендиярова, г Алматы,Толеби 94, beisem@mail.ru

Дегемерзанова Н.К. – врач-лаборант, молекулярно-генетическая лаборатория«TreeGene», ул. Аносова 98, nazgul@tree-gene.com.

Ракишева З.Б. – к.м.н., врач-генетик, молекулярно-генетическая лаборатория«TreeGene», ул. Аносова 98, rakisheva@tree-gene.com.

Садуева К.А – врач акушер-гинеколог,ГКП на ПХВ Городской Перинатальный центр г. Алматы, k_sadu@mail.ru.

Соломадин М.В. – главный специалист, молекулярно-генетическая лаборатория «TreeGene», ул. Аносова 98, info@tree-gene.com.

Ерденова А.Х. – врач-лаборант, молекулярно-генетическая лаборатория«TreeGene», ул. Аносова 98, info@tree-gene.com.

МРНТИ 76.03.39
УДК 618.3

Н.К. Дегемерзанова[1], Ш.А. Бейсембаева[2], А.М. Калимагамбетов[3], З.Б. Ракишева[1], К.А. Садуева[4], А.Х. Ерденова[1], М.В. Соломадин[1]

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГОМОЦИСТЕИНА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН КАЗАХСКОЙ ЭТНИЧЕСКОЙ ГРУППЫ Г. АЛМАТЫ

[1]Молекулярно-генетическая лаборатория TreeGene
[2]КазНМУ им. С.Д.Асфендиярова, кафедра лабораторной диагностики и молекулярной медицины
[3]КазНУ им. АльФараби, кафедра молекулярной биологии и генетики
[4]Городской перинатальный центр г. Алматы

АННОТАЦИЯ

Проведено исследование содержания гомоцистеина в крови беременных женщин казахской этнической группы с отягощённым акушерским анамнезом и физиологическим течением беременности. Исследование на гомоцистеин проводилось на автоматическом иммунохемилюминесцентном анализаторе Immulite 2000 (SiemensHealthcareDiagnostics, Германия). Результаты исследования показали, что среднее значение концентрации гомоцистеина в крови женщин с осложнениями беременности находится в пределах референсных значений - 7,93±0,45 мкмоль/л и в контрольной группе - 8,37±0,52 мкмоль/л. Полученные результаты исследования показывают на положительный эффект проводимых лечебно-профилактических мероприятий, направленных на снижение частоты встречаемости синдрома потери плода.

Ключевые слова: *гомоцистеин, осложнения беременности, тромбофилия*

Беременность является фактором, способствующим фенотипическому проявлению скрытой формы тромбофилии, что приводит к неблагоприятным исходам беременности – потере плода, к недостаточному росту плода, преэклампсии, преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты, тромбоэмболии, массивным кровотечениям [1]. Установлено, что беременность повышает риск тромбоза в три, четыре раза [2]. В развитии атеротромбоза и венозных тромбоэмболий существенная роль принадлежит гипергомоцистеинемии [3]. Наряду с этим, причинами тромбофилии могут быть антифосфолипидный синдром (АФС), наследственные дефекты гемостаза.

Гомоцистеин образуется в организме в ходе метаболизма незаменимой аминокислоты метионина. Повышенные концентрации гомоцистеина являются цитотоксичными. Во время беременности гомоцистеин в повышенных концентрациях в крови способен оказывать атерогенное и тромбообразующее действие, таким образом, служить серьезным фактором риска нарушения фето- и маточно-плацентарного кровотока, что приводит к таким осложнениям, как спонтанные аборты, преэклампсия и эклампсия, тромбозы [4,5,6].

Лечебные препараты (метотрексат, противосудорожные препараты, метформин, закись азота, антагонисты Н2-рецепторов и эуфиллин), некоторые заболевания (гипотиреоз, гиперпролиферативные заболевания, почечная недостаточность), негативные факторы (курение, алкоголь, большое количество кофе), дефицит фолата, витаминов В6, В12 и генетические дефекты ферментов, участвующих в метаболизме гомоцистеина, могут повышать уровень гомоцистеина.

Гомоцистеин свободно проходит через плаценту и может оказывать тератогенное и фетотоксическое действие. По данным Шмелевой с соавт. (2011) уровень гомоцистеина выше 7,9 мкмоль/л является неблагоприятным для нормального развития плода беременности [7].

Целью данной работы явилось определение содержания гомоцистеина в крови у беременных женщин казахской этнической группы с осложнениями беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы беременные женщины, направленные из Городского перинатального центра и

женских консультаций № 3, № 6 и № 8 г. Алматы. Основную группу (n=65) составили женщины, имевшие в анамнезе от двух и более беременностей с осложнениями в виде преэклампсии, эклампсии, неразвивающей беременности, самопроизвольных выкидышей и т.д. Контрольную группу (n=31) составили женщины с двумя и более нормальными исходами беременностей и не имевшие осложнений во время беременности и в анамнезе. Средний возраст женщин в основной группе составил 32,2±0,5 лет, в контрольной группе - 35,1±1,08 лет. Средний возраст менархе составил 13,6±0,16 лет в основной группе и 13,7±0,23 лет в контрольной группе. Все женщины дали информированное согласие на обследование.

Исследование на гомоцистеин проводилось на автоматическом иммунохемилюминесцентном анализаторе Immulite 2000 (SiemensHealthcareDiagnostics, Германия). Метод является полностью автоматизированным и основан на ферментативно-усиленной хемилюминесценции с эксклюзивной технологией промывки. Прибор использует специфичные образцу антитела или гранулы из полистирола покрытые антигеном в качестве твердой фазы. Излучение происходит тогда, когда хемилюминисцентный субстрат взаимодействует с щелочным фосфотазным маркером, соединенным с гранулой. Количество излучения пропорционально количеству исследуемого вещества в образце. Излучение детектируется фотомультиплицирующей пробиркой, и результаты подсчитываются для каждого образца [8]. Референсные значения гомоцистеина для женщин составляет 5-12 мкмоль/л [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице приведены предварительные данные по содержанию гомоцистеина в крови беременных женщин.

Таблица 1 - Содержание гомоцистеина в крови беременных женщин

Группа обследованных женщин	Количество обследованных женщин	Содержание гомоцистеина, мкмоль/л
Беременные женщины с отягощенным анамнезом	65	7,93±0,45
Контрольная группа	31	8,37±0,52

Как видно из таблицы среднее значение концентрации гомоцистеина в группе женщин с осложнениями беременности и в контрольной группе находится в пределах его референсных значений.

Поскольку, по данным Шмелевой с соавт. (2011) уровни гомоцистеина выше 7,9 мкмоль/л являются неблагоприятными для нормального развития беременности [7], нами проведен сравнительный анализ частоты распределения женщин относительно данной концентрации гомоцистеина. Результаты анализа приведены на рисунках 1 и 2.

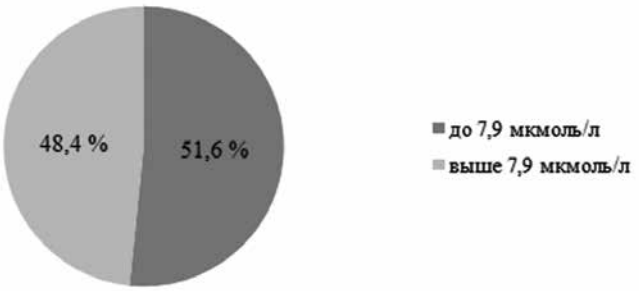

Рисунок 1 – Распределение беременных женщин в зависимости от уровня гомоцистеина в контрольной группе.

Как видно из рисунка 1, в контрольной группе частоты распределения беременных женщин относительно концентрации гомоцистеина менее и более 7,9 мкмоль/л оказались близкими – 51,6% и 48,4%, соответственно.

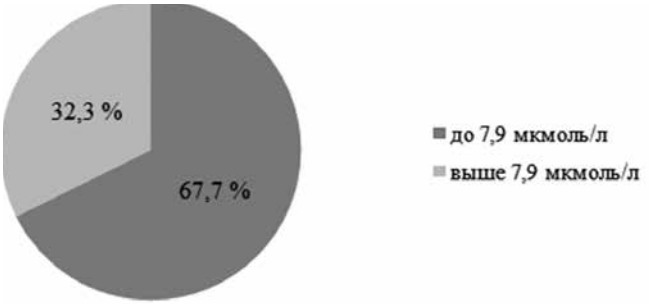

Рисунок 2 – Распределение женщин с осложнениями беременности в зависимости от уровня гомоцистеина.

Как видно из рисунка 2, частота встречаемости женщин с осложнениями беременности в зависимости от концентрации гомоцистеина менее 7,9 мкмоль/л оказалась в 2 раза больше по сравнению с концентрацией более 7,9 мкмоль/л. Частота беременных с женщин с концентрацией гомоцистеина менее 7,9 мкмоль/л в группе риска оказалась на 16,1% больше, чем в контрольной группе.

Следует отметить, что по данным Мамедалиевой и Аимбетовой (2011) уровень гомоцистеина в сыворотке крови у пациенток казахской национальности с невынашиванием беременности в анамнезе был достоверно выше его уровня в I триместре беременности по сравнению с контрольной группой - 18,25±1,76 и 10,4±0,8 мкмоль/л, $p<0,05$, соответственно [10].

Известно, что уровень гомоцистеина в крови может повышаться по многим причинам, чаще всего при недостатке витаминов группы В (В1, В6 , В9 и В12).

В настоящее время с целью профилактики син-

дрома потери плода женщинам группы риска до начала зачатия в течение 2-3 менструальных циклов назначаются препараты фолиевой кислоты и витаминов группы В [11]. Считаем, что данное обстоятельство и объясняет, в какой-то мере, расхождение наших результатов исследования содержания гомоцистеина в крови беременных женщин обследованных групп по сравнению с ранее полученными данными отечественных ученых.

Таким образом, сравнительный анализ результатов данного исследования позволяют сделать вывод о положительном эффекте проводимых лечебно-профилактических мероприятий, которые, безусловно, будут способствовать снижению частоты синдрома потери плода.

Работа выполнена в рамках проекта МОН РК ГР № 0115РК00287.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy // Thromb. Res. - 2004. - Vol. 114, № 5-6. - P. 409-414.*
2. *Lussana F., Coppens M., Cattaneo M., Middeldorp S. Pregnancy-related venous thromboembolism: risk and the effect of thromboprophylaxis // Thrombosis Research. – 2012. - Vol. 129. - P. 673-680.*
3. *Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Антифосфолипидный синдром, генетические тромбофилии в патогенезе основных форм акушерской патологии // Русский медицинский журнал. - 2006. – Спец.выпуск. – С.2–10.*
4. *Ефимов В.С., Озолиня Л.А., Кашежева А.З., Макаров О.В. //Гипергомоцистеинемия в клинической практике: Руководство.- М.:ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 80 с.*
5. *Венцковский Б.М., Запорожан В.Н., Сенчук А.Я., Скачко Б.Г.. //Гестозы: Руководство для врачей. -М.:Медицинское информационное агентство, 2005. - 312 с.*
6. *Бицадзе В.О., Макацария А.Д., Хизроева Д.Х., Макацария Н.А., Яшенина Е.В. Тромбофилия как важнейшее звено патогенеза осложнений беременности. // Практическая медицина, 2012. - №5 (60). - С. 22-29.*
7. *Шмелева В.М., Папаян Л. П., Капустин С.И., Смирнова О.А., ГуржийА. А., КобилянскаяВ.А.Гипергомоцис теинемия — независимый и значимый фактор риска привычного невынашивания беременности в Северо-Западном регионе Росии. // Журнал Акушерства и женских болезней. -2011. Том LX. Выпуск 3. – С. 169-175.*
8. *Инструкция к анализатору IMMULITE 2000 (Document Number: 600849-0001 Revision A, Version 5.xx.) - 2007. - 468 с.*
9. *http://unimedic.ru/standard/ref-ranges*
10. *Мамедалиева Н.М., Аимбетова А.Р. Гипергомоцистеинемия и полиморфизм генов фолатного обмена в генезе неразвивающейся беременности I триместра // Репродуктивная медицина. – 2011. - № 3-4 (08-09). – С. 69-71.*
11. *Приказ Министерства Здравоохранения Республики Казахстан "Об утверждении протоколов диагностики и лечения" № 239 от 07.04.2010 г.*

REFERENCES:

1. *Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy // Thromb. Res. - 2004. - Vol. 114, № 5-6. - P. 409-414.*
2. *Lussana F., Coppens M., Cattaneo M., Middeldorp S. Pregnancy-related venous thromboembolism: risk and the effect of thromboprophylaxis// Thrombosis Research. – 2012. - Vol. 129. - P. 673-680.*
3. *Makatsariya A.D., Bitsadze V.O. Antiphospholipid syndrome, genetic thrombophilia in the pathogenesis of the main forms of obstetric pathology // Russian Medical Journal. - 2006. P. 2–10 (in Russ.).*
4. *Efimov V.S., Ozolinya L.A., Kashezheva A.Z., Makarov O.V.//Hyperhomocysteinemia in clinical practice: Rukovodstvo. M.: -GEOTAR Media, 2013. - 80 p. (in Russ.).*
5. *Ventskovskiy B.M., Zaporozhan V.N., SenchukA.Ya., SkachkoB.G.. //Gestoses: A Guide for Physicians. -M.: Medical News Agency, 2005. - 312 p. (in Russ.).*
6. *Bitsadze V.O., Makatsariya A.D., Hizroeva D.H., Makatsariya N.A., Yashenina E.V. Thrombophilia as the most important link in the pathogenesis of complications of pregnancy. // Practical Medicine, 2012. - № 5 (60) p. 22-29 (in Russ.).*
7. *Shmeleva V.M., Papayan L.P., Kapustin S.I., Smirnova O.A., Gurzhiy A.A., Kobilyanskaya V.A. Hyperhomocysteinemia - an independent and significant risk factor for recurrent miscarriage in the Northwest region Rosii. // Journal of Obstetrics and Gynecological Diseases. – 2011. – Vol. LX, Edition 3. - P.169-175 (in Russ.).*
8. *Guide to the analyzer IMMULITE 2000 (Document Number: 600849-0001 Revision A, Version 5.xx.) - 2007. - 468 p. (in Russ.).*
9. *http://unimedic.ru/standard/ref-ranges (in Russ.).*
10. *Mammadaliyeva NM, Aimbetova AR Hyperhomocysteinemia and folate metabolism polymorphisms of genes in the*

genesis of developing pregnancy I trimester // Reproductive Medicine. - 2011. - № 3-4 (08-09). - S. 69-71. (in Russ.).
11. *Order of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan "On approval of the diagnostic and treatment protocols," number 239 of 07.04.2010. (in Russ.).*

SUMMARY

N.K. Degemerzanova[1]., SH.A. Beisembayeva[2], A.M. Kalimagambetov[3], Z.B. Rakisheva[1], K.A. Saduyeva[4], A.H. Erdenova[1], M.V. Solomadin[1]

STUDY HOMOCYSTEINE CONCENTRATIONS IN PREGNANT WOMEN KAZAKH ETHNIC GROUPS IN ALMATY

[1]Genetic Laboratory TreeGene
Kazakhstan, Almaty.
[2]S.D.AsfendiyarovKazakh National Medical University
Kazakhstan, Almaty.
[3]Al-Farabi Kazakh National University
Almaty, Kazakhstan.
[4]City Perinatal center
Kazakhstan, Almaty

The study of blood homocysteine in pregnant women with the Kazakh ethnic group with a history of complicated and with physiological pregnancy. Study on homocysteine was conducted on an automated analyzer immunohemilyuminestsentnomImmulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Germany). The results showed that the average concentration of homocysteine in the blood of women with obstetric complications is within the reference value - 7.93 ± 0.45 mmol / l in the control group - 8.37 ± 0.52 mmol / l, respectively. The results of research show a positive effect of ongoing treatment and preventive measures aimed at reducing the incidence of fetal loss syndrome.

Key words: *homocysteine, pregnancy complications, thrombophilia*

ТҮЙІНДЕМЕ

Н.К. Дегемерзанова[1], Ш.А. Бейсембаева[2], А.М. Калимагамбетов[3], З.Б. Ракишева[1], К.А. Садуева[4], А.Х. Ерденова[1], М.В. Соломадин[1]

АЛМАТЫ ҚАЛАСЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ЭТНИКАЛЫҚ ТОБЫНЫҢ ЖҮКТІ ӘЙЕЛДЕРІНДЕГІ ГОМОЦИСТЕИН КОНЦЕНТРАЦИЯСЫН ЗЕРТТЕУ

[1]TreeGene молекулалық-генетикалық зертханасы
[2]С.Ж. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ, Зертханалық диагностика және молекулалық медицина кафедрасы
[3]Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Молекулалық биология және генетика кафедрасы
[4]Алматы қалалық перинатальды орталық.
Қазақстан, Алматы

Қазақ этникалық тобының ауыр акушерлік анамнезі және жүктіліктің физиологиялық ағымы бар жүкті әйелдерінің веноздық қанындағы гомоцистеиннің құрамын зерттеу жүргізілді. Гомоцистеинді зерттеу Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия) автоматты иммунохемилюминесцентті талдағышымен жүргізілді. Зерттеу нәтижелері жүктілік асқынулары бар әйелдердің қанындағы гомоцистеин концентрациясының орташа мәндері референстік мәндердің –7,93±0,45 мкмоль/л және бақылау тобында 8,37±0,52 мкмоль/л шегінде екенін көрсетті. Алынған зерттеу нәтижелері ұрықты жоғалту синдромының кездесу жиілігін азайтуға бағытталған емдік-алдын алу іс-шараларының оң әсерін көрсетеді.

Түйін сөздер: *гомоцистеин, жүктілік асқынулары, тромбофилия.*

Сведения об авторах:

Дегемерзанова Н.К. – молекулярно-генетическая лаборатория «TreeGene», ул. Аносова 98, nazgul@tree-gene.com.

Бейсембаева Ш.А – к.м.н., доцент кафедры Клинической лабораторной диагностики имолекулярной медицины Казахского Национального Медицинского Университета им С.Д.Асфендиярова, г Алматы,Толеби 94, beisem@mail.ru

Калимагамбетов А.М – к.б.н., кафедра молекулярной биологии и генетики, Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Алматы, пр. аль-Фараби 71, aitkali.kalimagambetov@kaznu.kz

Ракишева З.Б. – к.м.н.,врач-генетик, молекулярно-генетическая лаборатория «TreeGene», ул. Аносова 98, rakisheva@tree-gene.com.

Садуева К.А. – врач акушер-гинеколог, ГКП на ПХВ Городской Перинатальный центр г. Алматы, k_sadu@mail.ru.

Соломадин М.В. – молекулярно-генетическая лаборатория «TreeGene», ул. Аносова 98, info@tree-gene.com.

Ерденова А.Х. – молекулярно-генетическая лаборатория «TreeGene», ул. Аносова 98, info@tree-gene.com.

МРНТИ 76.03.31, 76.03.33
УДК 576.311.32

Б.И.Исмаилов[1,2] С. Б. Исмаилов[1,2]

СОСТОЯНИЯ ЦИТОСКЕЛЕТА: СВЯЗЬ С КИСЛОРОДНО-ПЕРЕКИСНЫМИ ЭФФЕКТАМИ В НОРМЕ, ПРИ КЛЕТОЧНЫХ ПАТОЛОГИЯХ И АПОПТОЗЕ

[1]Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии
[2]Научный центр противоинфекционных препаратов
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

Элементы цитоскелета, особенно система микротрубочек, ответственны за образование опорной системы клетки, создание глобальной пространственной организации и порядка в ней, в том числе за эффективность транспортных процессов. По микротрубочкам перемещаются прикрепленные к ним митохондрии, пероксисомы, микросомы, лизосомы, аппарат Гольджи, «пузырьковые» структуры, некоторые ферменты, адгезивные молекулы и, предположительно, O_2–депонирующие соединения. При дезорганизации по тем или иным причинам микрофиламентов и микротрубочек митохондрии, как основные потребители внутриклеточного O_2, лишаются бесперебойной «адресной» доставки к ним субстратов окисления и O_2, а также необходимых для их биогенеза компонентов, что может быть одним из значимых факторов недостаточности митохондриального дыхания, возникновения и/или усиления в клетках гипероксии и окислительного стресса. С ними связываются кислородно-перекисные эффекты при окислительном митогенезе нормальных клеток, при некоторых клеточных патологиях, в частности, канцерогенезе, а также при апоптозе. Для опухолевых клеток апоптогенными яв-ляются как стабилизирующие, так и дезорганизующие микротрубочки агенты. Последние, в отличие от антиоксидантных и прооксидантных факторов, приводящих в указанных клетках к двум разным апоптозным уровням окислительного стресса, могут быть причастны к такому «парадоксальному» проявлению лишь косвенно, через изменение структуры цитоскелета и соответственно скорости утилизации O_2 митохондриями.и.

Ключевые слова: *цитоскелет, микротрубочки, митохондрии, окислительный стресс, пролиферация, канцерогенез, апоптоз.*

1. СИСТЕМА «ЦИТОСКЕЛЕТ – МИТОХОНДРИИ - ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС» И РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ В КЛЕТКЕ

(некоторые исходные факты и положения)

Цитоскелет как совокупность всех фибриллярных компонентов клетки важен для создания внутри нее глобального пространственного порядка. Элементы цитоскелета, особенно микротрубочки как достаточно жесткие структуры, ответственны не только за пространственную организацию и образование опорной системы клетки, но и за эффективность в ней транспортных процессов. Механизм транспорта молекулярных «грузов» к определенным ме-стам их доставки в цитоплазме включает участвующие в организации цитоскелета «мотор-ные» белки: миозин и актин, динеин и кинезин – механоферменты (АТФазы). По некоторым данным [1], существуют 5 «двигателей» клеточных макромолекул и структур, которые появи-лись в эволюции у примитивных эукариот. Грибы, паразиты, растения и животные различаются по набору моторных инструментов для своих моторных систем. Например, в аксонах дрозофилы таковыми являются кинезин-1 и динеин [2].

Цитоплазматические структуры (микросомы, митохондрии, пероксисомы, лизосомы, аппа-рат Гольджи) и какие-то другие внутриклеточные соединения в норме располагаются (при-крепляются) и направленно передвигаются вдоль микротрубочек и актиновых филаментов. Так, роль этих элементов цитоскелета в движении митохондрий четко

показана в аксонах и дендритах культивированных нейронов гиппокампа, выделенных из плода крысы [3]. Нокодазол, разрушая сеть микротрубочек, останавливал движение по ним митохондрий. Цитохалазин D, индуцирующий агрегацию актиновых филаментов, прекращал движение большей части митохондрий, а деполимеризующий филаменты актина латрункулин B не влиял на их по-движность. Считают, что актин принимает участие не только в двигательной реакции, но также и в координации обменных процессов клетки. В частности, F-актин комплексируется с гликолитическими ферментами, и активность некоторых из них в результате такого взаимодействия меняется [4]. Интересные «детали» двунаправленного транспорта митохондрий при помощи двигательных белков, перемещающихся вдоль антипараллельных микротрубочек приведены в работе [5] на примере дендритов культивируемых нейронов. Высокая мобильность митохондрий позволяет им транспортироваться в специализированные клеточные места. А сам транспорт, происходящий путем взаимодействия с рядом цитоскелетных протеинов, имеет способность влиять на форму и функции митохондрий. Все очевиднее становится, что эти органеллы используют цитоскелетные белки как дорожки (рельсовые пути) для своего передви-жения, однако морфология и функции митохондрий регулируются цитоскелетом через большей частью неохарактеризованные пути [6].

Интересное развитие эта тема получила в работах А.В. Кулика и соавторов [7, 8]. Ими показано, что доля подвижных митохондрий, время и скорость их движения вдоль микротрубочек существенно зависели от состояния актиновых микрофиламентов. При деполимеризации последних латранкулином B показатели подвижности митохондрий увеличиваются. Напротив, стимуляция полимеризации актина, связывающего митохондрии, подавляет их движение. Таким свойством обладает, в частности, белок mDia1 – мишень малой ГТФазы RhoA и передатчик сигнала лизофосфатидной кислоты. Последняя осуществляет регулируемый переход мито-хондрий из подвижного состояния в стационарное. Рассматриваемый механизм имеет, на наш взгляд, более глубокий биохимический смысл, какое-то принципиально важное предназначение, чем просто изменение затем-то скоростных и временных показателей движения митохондрий. К этому вопросу нам придется возвратиться при последующем обсуждении наших представлений о том, как связана подвижность/неподвижность митохондрий с фундаментальными клеточными процессами, в частности, с окислительным митогенезом, канцерогенезом и апоптозом.

Взаимодействие эндоплазматического ретикулума с микротрубочками способствует обра-зованию мембраносвязанных полирибосом и транспорту к последним мРНК, поскольку разрушение микротрубочек приводит к исчезновению мРНК из указанных рибосом [9]. Механо-ферменты связываются с мембраной органеллы, а их АТФазные «головки» взаимодействуют со стационарной микротрубочкой, что в присутствии АТФ вызывает скольжение по ней органеллы как по рельсу [10]. Новые данные о механизмах движения клеточных органелл при участии микротрубочек и моторных белков освещены и в ряде других обстоятельных статей [1, 11, 12].

На элементах цитоскелета могут локализоваться и передвигаться, как и некоторые внутриклеточные ферменты и адгезивные молекулы [13], различные «пузырьковые» структуры. В частности, обзор [14] посвящен домену VHS – «носильщику» на линиях пузырьков. Этот домен из 140 аминокислот, содержащийся на N-конце по меньшей мере 60 белков, играет роль в мембранном адресовании и узнавании груза при переносе пузырьков. VHS образован правосторонней сверхспиралью из 8 спиралей с заряженными участками на поверхности, вовлеченными, по-видимому, в белок-белковое узнавание и сближение. Показано, что микротрубочковый цитоскелет необходим для опосредуемой инсулином транслокации пузырьков переносчика GLUT4 глюкозы, которые в базальных условиях ассоциированы с полимеризованными микротрубочками [15]. Пузырьки плазмалеммы (кавеолы) перемещаются в клетках CHO от плазматической мембраны во внутрь их со скоростью 0,3-2 мкм/сек. Это движение прерывается после деполимеризации микротрубочек нокодазолом. При этом формируется примерно в 20 раз больше кавеол [16].

В аспекте обсуждаемой темы интересной следует признать работу, в которой изучали роль различных элементов цитоскелета в локализации митохондрий и регуляции дыхательной функции клетки in vivo. Анализ происхождения различий между зависимым от экзогенного АДФ дыханием изолированных митохондрий in vitro и митохондрий в кардиомиоцитах in situ показал важную роль структурных факторов внутриклеточного расположения митохондрий в мышечных клетках и значение этих факторов в контроле над проницаемостью наружных мембран митохондрий. При протеолитической обработке дыхательный коэффициент митохондрий снижается из-за нарушения их расположения между саркомерами. В этом случае микроскопия выявила нарушения в строении микротрубочек и некоторых других структурных элементов. В связи с приведенными фактами авторы данного исследования [17] развили мысль о новом направлении в науке – структурной биоэнергетике.

Можно предполагать, что по элементам цитоскелета способны передвигаться также O_2-депонирующие и O_2-транспортирующие соединения и структуры. В отношении последних пока нет ясности, но таковыми в принципе могут быть, в частности, каротиноиды и ретиноиды и даже просто микропузырьки, образованные молекулами O_2.

Нетрудно представить себе, какие негативные изменения в биоэнергетике будут вызваны в случае дезорганизации элементов цитоскелета, в частности микротрубочек. Упорядоченные до этого локализация на них и движе-ние по ним митохондрий нарушит адресную доставку к последним субстратов окисления и поступившего в клетку O_2, до 95-99 % которого, как известно, в норме утилизируется именно митохондриями. Речь идет, таким образом, о нормальной организации поточной работы в клетке, когда необходимость фиксированного расположения цитоплазматических структур и транспортных коммуникаций к ним очевидна; иначе, т.е. в случае произвольной локализации в пространстве и пребывания в состоянии броуновского движения, системность и согласованность их действий будут затруднены, неизбежными станут всевозможные диспропорции в протекании множества процессов во времени и пространстве. Более того, некоторые из специфических функций могут оказаться в этих условиях практически нереализуемыми.

Одним из серьезных негативных последствий дезорганизации цитоскелета (сети микрофи-ламентов и микротрубочек) в клетках животных и человека представляется очевидное возрас-тание внутриклеточного значения pO_2 вследствие заметного ослабления утилизации поступившего в клетку O_2. Это положение верно при условии отсутствия, естественно, каких-либо сильных ограничений на поступление O_2 в клетку.

Здесь необходимо обратить внимание на другое весьма существенное положение, суть ко-торого состоит в следующем [18]. Обычно влияние митохондрий на внутриклеточные процес-сы связывают главным образом с продукцией АТФ в ходе реализации в них окислительного фосфорилирования. Однако анализ немалого числа современных исследований показывает, что воздействие митохондрий на многие процессы может вызываться и опосредованно самой их способностью просто быть основным потребителем поступившего в клетку O_2. В этом смысле митохондрии выполняют антикислородную функцию, так как свободный избыточный O_2 оказывает, как известно, негативное действие на многоклеточные организмы. Данная функция митохондрий позволяет поддерживать в норме низкие, но достаточные для дыхания и энергообеспечения значения pO_2 и, следовательно, непосредственно связанные с ними уровни активных форм кислорода и азота (АФК, АФА) и перекисных продуктов.

Можно представить, что изменение мощности митохондриальной базы (количества, качества и активности митохондрий), как бы оно ни происходило, служит фактически способом регулирования кислородно-перекисного состояния и зависимых от него сигнальных путей, влияющих на ход всех фундаментальных клеточных процессов. В такой постановке этот, с нашей точки зрения, принципиально важный регуляторный канал до сих пор не являлся предметом должного исследования и обсуждения в научной литературе. По-видимому, происходящие при этом «кислородно-перекисные» сдвиги как, на первый взгляд, побочные и малозначащие не оказались привлекательными, в частности, для биоэнергетиков, биокибернетиков и специалистов в области физико-химической биологии клетки.

АФК, АФА и некоторые продукты пероксидации, как теперь достоверно известно [19, 20, 21 и др.], являясь сигнальными молекулами, прямо или опосредованно влияют на активность ряда факторов транскрипции и белков-ферментов, модификацию экспрессии многих генов, с чем связано изменение спектра экспрессируемых инициаторных и эффекторных ферментов. Другими словами, в клетках возникает или же усиливается уже имевший в них место окисли-тельный стресс, который приводит к устойчивому нарушению многих синтетических и регу-ляторных процессов. Набор таких нарушений достаточно характерен для старения, возрастных болезней, канцерогенеза и ряда других клеточно-патологических проявлений, обусловленных действием «кислородно-перекисного» механизма. В некоторых случаях указанные изменения в ходе эволюции адаптированы и запрограммированы для реализации необходимых в норме по-зитивных функций, например апоптоза [22, 23, п.7.1; 24].

Названные выше эффекты будут происходить в разных типах клеток, очевидно, с различ-ной интенсивностью. К такому выводу наталкивают данные о разнообразии митохондрий: в клетках разных тканей они различаются количеством, размерами, химическим составом, экспрессией разных изоформ ферментов, в частности, цитохром с-оксидазы, АТФ-синтетазы и митохондриального комплекса I, а также специфичностью происходящего в них окислитель-ного фосфорилирования [25]. Поэтому степень снижения утилизации O_2 митохондриями и, как следствие, уровни гипероксии и связанные с ней последствия в разных типах клеток будут за-висимыми не только от степени дезорганизации сети микротрубочек, но и от указанных количественно-качественных параметров самих митохондрий. В таком случае чувствительность разнотипных клеток к тем или иным изменениям, в том числе негативным, при дестабилизации микротрубочек может и должна заметно определяться результатами функционирования в них конкретных, «безадресных» теперь митохондрий. Это, прежде всего, количество вынужденно недопотребляемого O_2 в единицу времени – естественная в данных условиях причина, приводящая к внутриклеточным гипероксии и окислительному стрессу.

Представляется уместным и важным здесь сослаться и на оригинальную работу по удале-нию цитоскелетных филаментов и митохондрий в живых клетках с помощью фемтосекундного лазерного нанонож. Селективное удаление субмикрометровых регионов цитоскелета и отдельных митохон-

дрий проводили сжатым фокусированием лазерных пульсов малой скорострельности и с низкой энергией без изменения соседствующих структур или нарушения жиз-неспособности клеток. Применение этой наносизенной (nanoscissor) техники позволяет проводить неинвазивные манипуляции со структурой живых клеток с разрешением несколько сотен миллимикрон. Используя указанный подход, авторы данного исследования [26] показали, что «митохондрии – структурно независимые функциональные единицы, и они не формируют непрерывную сеть как было показано несколькими последними работами».

Указанная выше связь клеточного дыхания с состоянием цитоскелета носит, по всей вероятности, всебщий, универсальный характер, так как касается не только животных клеток, но и растительных, хотя и с разными последствиями для них. Например, показано влияние ингиби-торов полимеризации микротрубочек и микрофиламентов на общее дыхание и его составляющие у листьев проростков озимой пшеницы на фоне их холодового закаливания. В этой связи обсуждают зависимость функционирования электроно-транспортной цепи дыхания от состоя-ния цитоскелетных белков [27]

Наконец, для дальнейшего изложения материалов данной статьи нам необходимо бу-дет опираться на выдвинутые одним из нас следующие представления. В ходе эволюции в клетках, в порядке адаптации к постепенно возраставшему в земной атмосфере содержанию O_2, могла как-то закрепиться последовательность «специализированных» диапазонов дисбалансов Δ(ПО-АО) между их прооксидантными (ПО) и антиоксидантными (АО) составляющими. С каждым из них увязаны возможность (допустимость) и даже необходимость реализации определенного комплекса биохимических процессов. В частности, для постнатального периода онтогенеза указана возможность градации дисбалансов Δ(ПО-АО) с выделением при этом, по меньшей мере, следующих условных диапазонов их значений, которым соответствуют и/или от которых зависит конкретное состояние клетки. В пределах дисбалансов ΔП(ПО-АО) и ΔК(ПО-АО) реализуются соответственно пролиферация (окислительный митогенез нормальной, неопухолевой клетки) и канцерогенез; при дисбалансе ΔЦ(ПО-АО) происходит цитолиз клетки, а в диапазоне дисбалансов ΔА1(ПО-АО) и ΔА2(ПО-АО) – апоптозы соответственно типа А1 и А2. В сокращенном обозначении указанные «специализированные» дисбалансы распо-лагаются в последовательности:

$$\Delta П < \Delta А1 < \Delta К < \Delta А2 < \Delta Ц \qquad (1)$$

Старение клеток происходит, вероятнее всего, в диапазоне дисбалансов ΔС(ПО-АО), который расположен между дисбалансами ΔП и ΔА1. Тогда, после дополнения, последовательность (1) примет вид:

$$\Delta П < \Delta С < \Delta А1 < \Delta К < \Delta А2 < \Delta Ц \qquad (2)$$

В обоснование и с учетом неравенств (2) нами были сформулированы общие положения кислородно-перекисной концепции развития, старения, возрастных патологий, канцерогенеза и программированной смерти клеток [18, 23, 24]. Центральное место в них занимают митохондрии как критические органеллы для жизни и смерти клеток.

Во всех указанных дисбалансах под их ПО и АО составляющими нами понимаются некие интегральные «проколичественные» показатели – стационарные уровни прооксидантов и антиоксидантов и/или уровни их продукции на момент участия их в индукции процессов и/или подпроцессов пролиферации, старения, канцерогенеза и апоптоза.

2. ЦИТОСКЕЛЕТ И ПРОЛИФЕРАЦИЯ (ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ МИТОГЕНЕЗ) НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Признаки перестройки элементов цитоскелета и их деструкции отчетливо коррелируют также с переходом эукариотической клетки в стимулированное состояние. В связи с этим высказаны разные мнения о механизме прохождения митогенного стимула от плазматической мембраны к внутриклеточным структурам. Система фибрилл, скорее всего, способствует торможению, а не проведению стимулирующего сигнала, поскольку его прохождение нередко связывают именно с дестабилизацией элементов цито- и мембранного скелетов, целостная же структура их соответствует состоянию покоящихся клеток. Организованное внутриклеточное расположение микрофибрилл и микротрубочек изменяет их взаимодействие с геномом таким образом, что это подавляет способность клеток к размножению [28].

Действительно, известные антитубулины колцемид и колхицин синергично увеличивают синтез ДНК в нормальных фибробластах 3Т3, стимулированный эпидермальным фактором роста, что прямо свидетельствует о связи этого синтеза с организацией микротрубочек. По результатам работ, посвященных зависимости прохождения клеточного цикла от состояния микротрубочек, был сделан вывод: разборка микротрубочек – необходимый этап, предшествующий синтезу ДНК и митозу. Более того, по некоторым данным [29], для инициации синтеза ДНК достаточно разрушения небольшой доли клеточных микротрубочек.

В последующие годы факты, подобные указанным выше, приводились в литературе неоднократно. Показано, в частности, что антипролиферативный агент криптофицин в наномолярных концентрациях активно стабилизирует микротрубочки из тубулина мозга быка. В его присутствии угнеталось укорочение микротрубочек и почти прекращался процесс их распада. Предположительно,

эффекты криптофицина в клетках-мишенях определяются его способностью активно связываться с концевыми участками микротрубочек. Позднее в этой же исследовательской группе [30] установлено, что в указанных выше концентрациях криптофицин ингибирует митоз и раковых клеток, стабилизируя микротрубочки веретена. Он быстро, нековалентно и почти независимо от температуры связывается с тубулином в единственном высокоаффинном центре. При этом подавляется индуцируемая колхицином ГТФазная активность тубулина, что отражает его структурную перестройку при связывании с криптофицином. Неслучайна также другая корреляция: белок статмин (метабластин, онкопротеин 18), препятствующий встраиванию тубулина в микротрубочки и вызывающий их разборку, найден во всех размножающихся клетках позвоночных, но особенно на высоком уровне он экспрессируется во множестве видов рака, а ингибирование статмина препятствует развитию опухоли [31, 32].

Для поддержания структуры пучков актиновых микрофиламентов необходим постоянный приток энергии, а ограничение синтеза АТФ вызывает обратимое разрушение этих пучков. Косвенно это давнее положение поддерживается и по следующим мотивам. Есть данные, что малые АТФазы – члены семейства белков Rho – участвуют в регуляции сборки актинового цитоскелета и мультибелковых комплексов, которые содержат интегрины и опосредуют межклеточную адгезию. Те же АТФазы значимы и в онкогенезе [33]. Очевидно, при дефиците АТФ функция упомянутых АТФаз окажется исполненной в недостаточном объеме, а энергозависимые процессы сборки цитоскелета и межклеточных контактных структур – фактически не реализованными.

Не исключено, что к механизму разрушения цитоскелета в стимулированной к пролиферации клетке имеет отношение новое семейство протеинкиназ MARK. Как отмечают авторы исследования [34], эти энзимы фосфорилируют соединенные с микротрубочками белки ¶, MAP2 и MAP4, приводя к диссоциации комплекса и запуску распада микротрубочек. Два MARK-белка крысы, кодируемые разными генами, оказались Ser/Thr-киназами с мол. м. 81 и 88 кД. Такие белки широко распространены, а гомологичные им гены обнаружены и у человека. Каталитическая активность MARK-белков зависит, в свою очередь, от фосфорилирования двух аминокислотных остатков в одном из субдоменов. Данную функцию выполняет, по-видимому, какая-то «митогенная» протеинкиназа и, может быть, даже одна из изоформ протеинкиназы С (PKC). В этой связи уместно вспомнить о другой работе [35], в которой показано, что активация изофермента PKC-3 сопровождалась деполимеризацией микрофиламентов, нарушением их связи с плазматической мембраной.

Здесь важно опять отметить сведения в работах Кулика [7, 8] о том, что при деполимеризации актиновых микрофиламентов подвижность митохондрий, время и скорость их движения увеличиваются. Связь этих двух, казалось бы, несущественных событий в действительности может иметь достаточно глубокий, прежде всего, биоэнергетический смысл. Он, на наш взгляд, состоит в следующем. Распад микрофиламентов под влиянием, скорее всего, митогенных факторов ведет к нарушению как связи с ними митохондрий, так и транспортных путей от плазматической мембраны до мест стыковки филаментов с микротрубочками. Это расстраивает нормальную доставку O_2 (O_2-депонирующих соединений и/или микропузырьков из O_2) к свободным митохондриям и его утилизации ими. В данной ситуации митохондрии, связанные с целостными микротрубочками, тоже испытывают недостаток в получении O_2, поступившего в клетку. Все это вместе заметно повышает внутриклеточное pO_2, а дисбаланс Δ(ПО-АО) возрастает до уровня ΔП(ПО-АО), необходимого для пролиферации нормальной клетки. Чтобы выйти из состояния пролиферации, надо стимулировать полимеризацию актина. Это восстановит транспортные пути на участке «плазматическая мембрана – микротрубочки» и соответственно ускорит потребление O_2 митохондриями, снизит pO2 и дисбаланс ΔП(ПО-АО). Таким образом, нами постулируется существование в норме специального регуляторного канала «актиновые микрофиламенты – митохондрии», с помощью которого за счет указанных изменений в нем в норме достигаются необходимый для окислительного митогенеза уровень дисбаланса ΔП(ПО-АО) или, наоборот, выход из этого диапазона в сторону снижения.

Кстати, нарушение транспортных коммуникаций затрудняет доставку к митохондриям и всех других компонентов, необходимых для их нормального функционирования и биогенеза. Это ослабляет общую мощность митохондриальной базы и тоже способствует поддержанию несколько повышенного уровня окислительного стресса, в частности «пролиферативного» дисбаланса ΔП(ПО-АО). При переходе же нормальной клетки из состояния пролиферации к дифференцировке количество митохондрий, как известно, постепенно возрастает. Поэтому потребление ими O_2 заметно усиливается, а значение pO_2 и дисбаланс Δ(ПО-АО) в клетке падают до уровня ниже, чем необходимо для окислительного митогенеза [18].

Зависимость интенсивности митохондриального дыхания и, следовательно, связанных между собой уровней pO_2, АФК и зависимых от них процессов в клетке от состояния цитоскелета (микротрубочек) достаточно четко просматривается в разных исследованиях с использованием паклитаксела. Последний является представителем группы дитерпеновых таксанов и известен под фирменным наименованием таксол. Его извлекают из коры тихоокеанского тиса Taxus brevifolia. Взаимодействие таксола с основным компонентом микротрубочек β-тубулином способствует полимеризации последнего, блокиру-

ет разборку микротрубочек и инициацию синтеза ДНК колхицином. Число сторонников установившегося мнения о таксоле, как антипролиферативном агенте, постоянно растет [36, 37, 38, 39 и др.]. Паклитаксел (таксол) останавливал рост культивируемых миоцитов артериальной стенки человека, и этот эффект сохранялся при воздействии митогенов или при совместном культивировании миоцитов с эндотелиальными клетками артериальной стенки. По данным иммуно-гистохимического анализа, антипролиферативный ответ миоцитов – результат изменений в них, в основном, микротубулярной сети цитоскелета [36].

Небезынтересно, что таксол селективно ингибирует пролиферацию уже на уровне простейших внутриклеточных паразитов, например Leishmanio donovati – возбудителей висцерального лейшманиоза из рода жгутиконосцев, приводя в опытах in vitro к дозозависимой сборке и стабилизации их микротрубочек [40]. Эпотилоны – новый класс стабилизирующих микротрубочки агентов – обладает сходным с таксолом механизмом действия в отношении индукции полимеризации тубулина. Они вызывают остановку клеточного цикла на границе G2-M [41]. Таксол при воздействии, например, на стареющие нейтрофильные гранулоциты подавлял генерацию супероксида, а колхицин, разрушающий микротрубочки, наоборот, усиливал эту генерацию [42]. Стабилизируя микротрубочки, таксол обспечивает, по-видимому, нормальное исполнение ими своих транспортных функций. Митохондрии, имея теперь точное место своей «прописки», адресно и бесперебойно снабжаются O_2, что способствует эффективной его утилизации и, следовательно, установлению относительно низких уровней внутриклеточного pO_2 и дисбаланса Δ(ПО – АО).

Интересной нам представляется информация о способности фермента гликолиза пируваткиназы подавлять полимеризацию тубулина и вызывать частичную разборку стабилизированных таксолом микротрубочек с образованием большого количества нитчатых тубулиновых олигомеров [43] и тем самым влиять, скажем, на развитие эффекта Кребтри. Со свойством пируваткиназы и некоторых других соединений дестабилизировать микротрубочки мы связываем опять-таки нарушение внутри клеток транспортных путей, следствием которого должны быть дезорганизованность в локализации и функционировании митохондрий, пероксисом и других органелл, ранее прикрепленных к микротрубочкам, и все другие неоднократно упоминавшиеся выше негативные эффекты. В опухолевых клетках эти изменения с участием пируваткиназы происходят, вероятно, легче, так как у них цитоскелет частично уже дестабилизирован (см. ниже).

Сформулированные нами положения будут, естественно, корректироваться с учетом противоречащих им фактов. К числу последних мы относим данные о том, что при целостном цитоскелете дыхательная функция митохондрий ограничена, так как они организованы в крупные скопления – ассоциаты и находятся в естественном структурно-функциональном взаимодействии с ретикулумом [44]. Напротив, разукрупнение указанных ассоциатов, происходящее, очевидно, при дезорганизации цитоскелета, – фактор, усиливающий дыхание [45].

3. ЦИТОСКЕЛЕТ И КИСЛОРОДНО-ПЕРЕКИСНЫЙ МЕХАНИЗМ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Рассмотрим теперь возможную связь канцерогенеза с нарушением цитоскелета с учетом давних и относительно новых фактов о том, что злокачественно трансформированные клетки характеризуются деструктивными изменениями элементов цитоскелета. Свиткина и Каверина [46], изучая нарушение актинового цитоскелета в неопластически трансформированных эпи-телиальных клетках, отмечали как изменение спектра актинов и ассоциированных с актино-вым цитоскелетом белков, так и нарушение отдельных структур этого цитоскелета. Неодно-кратно показано уменьшение количества и размера пучков актиновых микрофиламентов. Су-щественным изменениям при трансформации подвергается и эндоплазматический пласт микрофиламентов. Степень нарушения актинового цитоскелета коррелирует с такими изменения-ми морфологии, как разрушение межклеточных контактов, ухудшение распластанности клеток неоплазмы.

В связи с указанными данными вновь обратимся к информации о том, что деструкция ак-тиновых микрофиламентов увеличивает подвижность митохондрий в клетках [7, 8]. С этих стартовых проявлений начинаются, как неоднократно отмечалось выше, нарушение транс-портных путей в системе микрофиламетов и дезорганизация в доставке O_2-депонирующих соединений и микропузырьков из O_2 к теперь уже несвязанным с филаментами митохондриям. В результате из-за ограниченного потребления ими O_2 значение pO_2 и соответственно уровень дисбаланса Δ(ПО-АО) в клетке несколько возрастают. Однако только этих изменений, вероятно, недостаточно для того, чтобы усилить в клетке окислительный стресс до значений, необходимых для злокачественной трансформации клетки. Реально переход к более высокому «канцерогенезному» уровню дисбаланса ΔК(ПО-АО) и его поддержание достигаются при дестаби-лизации еще и микротрубочек. А механизм в принципе все тот же: нарушение транспортных путей уже в системе микротрубочек, недостаточное обеспечение кислородом теперь не связан-ных с ними митохондрий, дополнительное повышение в клетке pO_2 и дисбаланса Δ (ПО-АО).

К настоящему времени известны многие факты о деструкции микротрубочек в активно растущих опухолевых клетках и о снижении или даже подавлении опухолевого роста при стабилизации ми-

кротрубочек различными соединениями. Сошлемся здесь на некоторые из таких фактов.

В клетках гепатомы, индуцированной у взрослых крыс диэтилнитрозамином, нити цитос-келета были повреждены, деполимеризованы и агрегированы. Однако после обработки шини-фолином – препаратом из китайских трав система цитоскелета опухолевых клеток явно вос-станавливалась и становилась подобной цитоскелету нормальных гепатоцитов [47]. Микро-трубочки в недифференцированных клетках рака прямой кишки человека представляли ати-пичную организацию, в них по сравнению с дифференцированными отсутствовали некоторые структурные и моторные белки или содержание их было низким [48]. Клетки астроцитомы (линия SWO-38), в отличие от нормальных астроцитов, содержали значительно меньше микротрубочек, а большинство микрофиламентов формировали зерно- или корнеобразные актино-вые тельца. Кроме того, микротрубочки и микрофиламенты имели тенденцию к сжатию [49].

Изменения цитоскелета, подобные указанным, зафиксированы имму-нофлуоресцентным методом в эпителиальных клетках человека HBL-100 в период опухолевой прогрессии [50]. Эти клетки до 30 пассажей не являются опухолевыми, но приобретают свойства таковых при дальнейшем пассировании. Показано, что в нормальных клетках HBL-100 имелись как актино-вые филаменты, так и микротрубочки, сконцентрированные около клеточного ядра. По мере же увеличения числа пассажей актиновые филаменты выглядели все более фрагментированными. После 70 пассажей указанные филаменты в клетках HBL-100 оказывались полностью дезорганизованными. Аналогичная картина наблюдалась и в клетках T12, полученных из опу-холи, которая была индуцирована введением бестимусным мышам пассированных более 70 раз клеток HBL-100.

Паклитаксел в концентрации до 10 нМ значительно уменьшал рост плоскоклеточной кар-циномы гортани человека, индуцировал в комбинации с облучением (дозы до 3 Гр) мультиядерные клетки [39], и это, очевидно, происходит не без участия восстанавливаемого пакли-такселем цитоскелета. Обработка клеток указанным агентом не приводила к их радиосенсиби-лизации, что также понятно: действия паклитаксела не направлены на повышение pO_2, влия-ющего на радиочувствительность клеток, а также уровней перекисного окисления липидов (ПОЛ) и зависимого от них окислительного митогенеза. Элеутеробин – природный продукт, выделенный из морского коралла, вызывает в клетках карцином толстой кишки человека морфологические изменения, не отличимые от таковых при действии паклитаксела. Как и послед-ний, элеутеробин индуцирует полимеризацию тубулина in vitro и гомогенную популяцию длинных, регидных микротрубочек, увеличивает число микроядер, останавливает митоз [51].

Говоря о паклитакселе как противоопухолевом агенте следует иметь в виду, что какая-то часть его может подвергаться метаболизму в системе микросом, и тогда антинеопластический эффект паклитаксела окажется, естественно, сниженным. Метаболизм паклитаксела обнаружен, например, при его инкубации с микросомами печени крысы и человека. Преобладающим метаболитом являлся 6α-гидрокси-паклитаксел, причем фенольные антиоксиданты, особенно ресвератрол, эффективно ингибировали метаболизм паклитаксела. В этом видят возможность обусловленного антиоксидантами пролонгирования противоопухолевого действия паклитак-села [52]. Обобщенные данные о механизме действия лекарств, нацеленных на полимеризацию микротрубочек и актиновых нитей, на динамику этих процессов представлены в обзоре [53], где, в частности, обсужден и вопрос: каким образом препараты, действуя на состояние микро-трубочек, ингибируют пролиферацию клеток – блокируют митоз при переходе метафаза/анафаза и индуцируют апоптоз.

Достаточно полная информация о действии антитубулиновых лекарств приведена и в работе [54]. Сообщается, в частности, об их активности против лейкозов и солидных опухолей. Механизм действия противоопухолевых агентов связывают с влиянием их на микротубулиновую динамику: рост и укорочение трубочек в низких дозах и агрегация или диссоциация микротрубочек при больших концентрациях. Тубулин имеет дополнительные сайтымишени для противоопухолевых средств, которые влияют на связывание и функцию белков, ассоциирующихся с микротрубочками и взаимодействующих с моторными белками (кинезином и др.). Многие из этих протеинов имеют необходимые для их нормальной функции АТФ-связывающие сайты.

Значение целостности цитоскелета для клеточной трансформации было рассмотрено и ра-нее в работе [55]. Автор ее считает, что изменения в строении цитоскелета, ведущие к нарушению связи ядра с плазматической мембраной, определяют некоторую функциональную авто-номию ядра, и в этом усматривает причину трансформации клетки. В качестве препарата для лечения рака он же предлагает использовать циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), содержание которого в самих опухолевых клетках, как известно [23, п.2.3], низкое. С одной сто-роны, цАМФ стимулирует образование микротрубочек в различных типах клеток, содействуя фосфорилированию тубулина цАМФ-зависимой протеинкиназой. Такое фосфорилирование необходимо как для полимеризации, так и для функционирования микротрубочек. С другой стороны, давно известна цАМФ-зависимая активация митохондриального дыхания. Современные факты на этот счет обобщены в обзоре [56]. Основное внимание в нем обращено роли зависимой от цАМФ протеинкиназы митохондриального матрикса в фосфорилирова-

нии ком-плекса I дыхательной цепи митохондрий. Данная киназа фосфорилирует, в частности, регуля-торную субъединицу 18 кДа комплекса I и тем самым способствует повышению активности этого комплекса и дыхательной цепи митохондрий в целом. В опухолевых клетках такое дей-ствие протеинкиназы А должно вести к снижению уровней рО2, АФК, АФА и дисбаланса ΔК(ПО-АО).

Здесь хотелось бы еще раз обратить внимание на простую, логически обоснованную и принципиально важную аргументацию наших положений. При указанных выше дефектах ци-тоскелета нарушаются направленное перемещение внутриклеточного материала вдоль микрофиламентов и микротрубочек и взаимодействие между ранее ассоциированными с ними кле-точными органеллами в пространстве. Это не может не отразиться на характере и качестве функционирования этих органелл, на ядерно-цитоплазматических взаимоотношениях. Расстройство упорядоченных внутриклеточной локализации и движения органелл, а также транс-порта веществ может служить немаловажным дополнительным фактором, способствующим сужению набора специальных функций, включая специальные белковые синтезы, и тем самым развитию канцерогенеза. Кстати, указанные негативные эффекты могут вызываться не только нарушением самой сети микрофиламентов и микротрубочек, но и изменением функции ассоциированных с ними двигательных белков. В частности, в работе [54] указывается, что агенты, взаимодействующие с моторным белком кинезином, выходят даже на клинические испытания.

Особенно неблагоприятным при нарушении транспортных коммуникаций представляется возможное образование «сопутствующего» пути поддержания в клетках неоплазмы гиперок-сии, повышенных уровней АФК, АФА и неферментативного перекисного окисления липидов и белков. Искусственно созданное ограничение в доставке O_2, поступившего в клетку, к митохондриям, микросомам и пероксисомам создает в опухолевых клетках дополнительные затруд-нения (к уже имеющимся в них из-за частичной дефектности этих органелл [23, п.2.1]) в утили-зации O_2. Напротив, стабилизация микротрубочек может снизить «канцерогенезный» уровень дисбаланса ΔК(ПО – АО) до апоптозного ΔА1(ПО – АО) или даже до ΔП(ПО – АО) в норме, умерив бесконтрольное размножение опухолевых клеток или создав необходимые «кислород-но-перекисные» условия для их суицида. (см. ниже). Об этом свидетельствуют многие факты противоопухолевого действия паклитаксела и доцетаксела в эксперименте и клинике [57, 58, 59, 60]. Среди данных такого рода интересной для нас представляется работа [61]. Авторы ее цитотоксический эффект паклитаксела тоже ассоциируют со связыванием/стабилизацией мик-ротрубочек. В модельной системе клеток HL-60 паклитаксел ингибировал их рост дозо- и вре-ме-зависимым образом. При этом происходило резкое накопление клеток в G2/M фазе

Если наши представления о влиянии таксанов на уровень окислительного стресса через микротрубочково-митохондриальный комплекс верны, то становится возможным понять еще один интересный феномен. Речь идет о том, что паклитаксел, поглощаемый клетками эндотелия, оказывает выраженное антиангиогенное действие (показано в эксперименте in vitro и у больных распространенным раком). Это действие усиливается при комбинации паклитаксела с ингибитором циклооксигеназы-2 [62]. Такой результат обусловлен, по нашему мнению, тем, что паклитаксел снижает в эндотелиальных клетках дисбаланс ΔП (ПО-АО), необходимый в норме для пролиферации этих клеток и ангиогенеза; ингибитор же циклооксигеназы-2, подавляя ее активность, действует в том же направлении, уменьшает образование АФК и перекис-ных продуктов в ходе метаболизма арахидоновой кислоты с участием циклооксигеназы-2.

С рассматриваемых нами позиций логичной представляется и следующая важная информация, полученная при изучении биогенеза микротрубочек в клетках остеосаркомы человека линии 143В и клетках из печени крысы RL-34. Деполимеризация микротрубочек нокодазолом или колхицином ингибировала увеличение массы митохондрий и репликацию митохондриальной ДНК. Обработка же клеток таксолом приводила к увеличению массы митохондрий, при этом были выявлены две категории митохондрий – с высоким и низким мембранным потенциалом. Указанное увеличение снималось при совместной обработке клеток таксолом и но-кодазолом или таксолом и колхицином [63]. Здесь нам приходится повторить сказанное ранее, что при дестабилизации микротрубочек естественным должны быть нарушение адресного транспорта к митохондриям компонентов, необходимых для их синтеза и функционирования, и, соответственно, ослабление митохондриальной базы. Напротив, целостные цитоскелет и, в частности, система микротрубочек создают нормальные в указанном смысле условия для био-генеза митохондрий.

Противоречивое мнение сложилось у нас о работе [64], в которой по сумме полученных фактов отмечается, что расстройство микротрубочек в клетках остеосаркомы человека 143В, индуцированное окислительным стрессом, является одним из молекулярных событий, участвующих в анормальной пролиферации митохондрий и увеличении митохондриальной массы. Некоторые из приведенных здесь данных не согласуются с развиваемыми нами представлени-ями. Сомнения касаются последовательности и логики развития событий, приводящих к расстройству микротрубочек и возрастанию митохондриальной массы при обработке клеток 143В H_2O_2. Не будет лишним, наверное, если выскажем по данному вопросу наше альтернативное мнение. Суть его вкратце такова. Воздействию H_2O_2 подвергаются,

прежде всего, весьма чувствительные к окислительному повреждению митохондрии и особенно их внутренняя мембрана, содержащая легкоокисляемый фосфолипид кардиолипин и липид-зависимые дыхательные ферменты. В результате исходные недостаточности митохондриального дыхания и синтеза АТФ в опухолевых клетках усугубляются. Это должно негативно отразиться на АТФ-зависимом процессе полимеризации микротрубочек. Иными словами, деполимеризация мик-ротрубочек не индуцируется непосредственно окислительным стрессом, но является в основном косвенным результатом высокой степени дисфункции митохондрий. Эта же дисфункция, а также неупорядоченная доставка необходимых материалов для биогенеза митохондрий нарушает их способность в норме «правильно» размножаться, чтобы нейтрализовать токсическое действие избыточного O_2. Это и приводит к анормальной пролиферации и накоплению массы дефектных, по-видимому, митохондрий.

Для онкологии, теоретической, прежде всего, принципиальными представляются данные о нормализации цитоскелетных структур и морфологии трансформированных клеток in vitro. Как отмечают Бершадский и Ставровская [65], «в ходе опухолевой прогрессии в результате тех или иных воздействий в популяциях малигнизированных клеток могут появляться варианты с нормализованным фенотипом. Нормализация происходит по ряду параметров: прививаемости, росту в полужидкой среде, скорости размножения, морфологии. Механизмы нормализации опухолевых клеток остаются неясными. Ряд наблюдений свидетельствует о том, что ревертанты, полученные в ходе разных процедур отбора, нередко отличаются от исходных клеток уве-личением размеров». С целью проверки подобных фактов эти авторы с помощью методов кле-точной инженерии увеличили размеры исходных трансформированных клеток. При этом оказалось, что такие существенные качественные проявления, как распластывание клеток на субстрате и организация актинового скелета, неизменно возвращаются к близкому к норме состоянию. По итогам исследований они выдвинули гипотезу: одним из важных механизмов нормализации опухолевых клеток является восстановление их цитоскелета и контактов с субстра-том в связи с увеличением размеров и изменением количественных соотношений между ком-понентами поверхности и цитоплазмы клеток.

Рассматриваемый феномен есть, очевидно, следствием увеличения не просто объема малигнизированных клеток, но и содержания определенных внутриклеточных соединений и образований, от функционирования которых прямо или косвенно зависит формирование цитос-келета, контактных и иных структур. Прежде всего, к числу возрастающих по количеству и размерам органелл относятся, по-видимому, все те же митохондрии. При нормализации цитос-келета (микротрубочек) как транспортной системы, участника организованных локализации и движения митохондрий (см. выше), и повышении энергетической мощности интенсифицируются потребление O_2 и синтез АТФ, снижаются внутриклеточное pO_2, уровень ПОЛ и связан-ные с ними негативные эффекты.

Наконец, несомненна значимость элементов цитоскелета в обеспечении взаимоотношений цитоплазмы и ядра, в том числе в опухолевых клетках, а по аналогии с цитоскелетом роль помощника в сборке сложных комплексов и регулятора ферментативных процессов может играть и ядерный скелет [4]. В связи с рассмотрением с позиций биоэнергетики проблемы клеточной дифференцировки и пролиферации нами обсуждено положение о том, что цитоскелет и ядерный матрикс переходят в состояние дестабилизации по триггерному принципу [23, п. 3.6.4]. Тогда целостному цитоскелету должна соответствовать слабо выраженная скелетная структура ядра, а высокоразвитому ядерному матриксу – деструктурированный цитоскелет [66].

4. СОСТОЯНИЯ СЕТИ МИКРОТРУБОЧЕК И АПОПТОЗ НЕОПУХОЛЕВЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

По признанию некоторых исследователей [67], причина апоптотических событий, индуцированных определенными агентами при их взаимодействии с микротрубочками пока не понятны. Согласно кислородно-перекисной концепции, нарушение микротрубочек в нормальных (неопухолевых) пролиферирующих клетках может в принципе привести их к апоптозу А1 вследствие некоторого усиления окислительного стресса и возрастания дисбаланса ΔП до ΔА1. Примером такого рода можно, вероятно, считать активацию апоптоза культивируемых гепатоцитов крыс антагонистами микротрубочек винбластином или колхицином [68].

Наглядный эффект продемонстрирован и на клетках СНО, стабильно трансфицированных кДНК рецепторов гормона роста крыс. Обработка этих клеток гормоном роста человека в течение 30 мин значительно стимулировала полимеризацию всех 4 изоформ тубулина (особенно β- и γ-тубулинов), причем такая стимуляция не сопровождалась возрастанием общего уровня тубулина. В то же время гормон роста тормозил деполи-меризацию микротрубочек, стабилизировал их сеть и защищал клетки от апоптоза, которые индуцировались колхицином [69]. Разборка микротрубочек и дефосфорилирование стабилизирующего их τ-белка на ранней стадии апоптоза показаны также в другой работе [70]. Здесь при обосновании связанности этих эффектов были использованы таксол или окадаевая кислота для ингибирования разборки микротрубочек или дефосфорилирования белка ¶ соответственно.

Что касается опухолевых клеток, то их апоптоз может индуцироваться как при деполимеризации,

так и при полимеризации микротрубочек. Примером первого из этих двух, казалось бы, парадоксальных вариантов может служить такой. Компоненты S-аллилмеркаптоцитин и диаллилдисульфид, полученные из чеснока, приводили к апоптозу раковые клетки кишки человека SW80 путем индуцирования деполимеризации микротрубочек. Эти вещества непосредственно связывались с тубулином, нарушая сборку микротрубочек и запуская опосредованные митохондриями сигнальные пути, ведущие к апоптозу [71], который, по нашим представлениям, относится к типу А2.

Более часто в литературе приводятся факты запуска апоптоза опухолевых клеток агентами, восстанавливающими сеть микротрубочек, в частности таксанами. Они, по нашей логике, индуцируют апоптоз А1 путем непрямого снижения уровней pO_2, АФК и АФА, а также дисбаланса ΔК до ΔА1 даже при известной отчасти дефектной дыхательной цепи в митохондриях этих клеток. Так, на линиях клеток лимфомы Jurkat, лимфом BJAB и Raji с помощью микроскопии, проточной цитометрии и гель-электрофореза ДНК показано, что таксол ингибирует рост и индуцирует апоптоз опухолевых клеток всех трех линий [72].

К такого же рода апоптозу относится, по-видимому, и индуцированный в опытах in vivo на мышах nude. Здесь таксол (10 мг/кг, 1 раз в день, в/б, в течение 10 дней) достоверно подавлял рост клеток гепатомы человека SMMC-7721, уменьшал на 11-й день объем опухолей более, чем на 90 %, с остановкой митоза и апоптозом клеток [73]. По данным работы [74], при действии паклитаксела на интактные клетки нейробластомы человека SK-N-SH непосредственное влияние его на митохондрии приводило к повышению ими продукции АФК, причем высвобождение цитохрома с происходило раньше, чем активация каспаз. Но нам думается, что здесь все же не обходится без прямого воздействия таксола на состояние связи цитоскелета с митохондриями. Именно поэтому таксол способствует каспазонезависимому изменению (усилению) действия этих органелл по утилизации O_2 в сторону индукции апоптоза А1 на ранних его стадиях, до активации каспаз.

В экспериментах на клеточной линии чешуйчато-клеточной карциномы рта человека HSC-3 доцетаксел также индуцировал апоптоз, способствуя образованию АФК в митохондриях, снижению в них мембранного потенциала и высвобождению цитохрома с в цитозоль; преинкубация же клеток с антиоксидантами N-ацетил-цистеином и дитиокарбамат-пирролидином защищала их от опосредованного доцетакселем апоптоза [60]. Обработка паклитакселем клеток рака молочной железы MGA-MB-435 ассоциировалась с образованием АФК, падением трансмембранного потенциала и активацией каспазы-3. Антиоксидант глутатион противодействовал проявлению этих эффектов [75]. Такие же примерно данные приведены в отношении клеток рака мочевого пузыря, обработанных доцетакселем [67].

В приведенных выше примерах [60, 67, 74, 75] важно, на наш взгляд, понять принципиальный момент: почему, несмотря на образование АФК в ходе функционирования дыхательной цепи митохондрий, дисбаланс ΔК(ПО-АО) в опухолевой клетке снижается до апоптозного диапазона ΔА1(ПО-АО)? Сразу ответить на этот вопрос затруднительно. По-видимому, эти «митохондриальные» АФК, если в указанных работах речь идет о них, по своей количественной значимости заметно уступают эффекту снижения в клетке уровней pO2 и соответственно АФК, вызванного налаживанием доставки O2 к митохондриям вследствие стабилизации микротрубочек паклитакселем.

В системе лейкозных клеток HL-60 апоптозный потенциал паклитаксела авторы работы [61] объясняют также непосредственным влиянием его на митохондрии. При этом доля апоптозных клеток возрастала до 37-41% против 2% в норме. Кроме того, изменялась экспрессия 277 генов, из них 121 ген с позитивной и 156 с негативной регуляцией. По всей видимости, при переходе дисбаланса ΔК в «специализированный» апоптозный диапазон ΔА1(ПО-АО) активируются адаптированные именно к этому диапазону АФК- и АФА-зависимые факторы транскрипции и ферментные системы. Они существенным образом изменяют спектр экспрессируемых генов, тем самым направляя регуляторные и синтетические процессы в клетке в данном случае в сторону апоптоза А1. В свете изложенных выше фактов понятным становится и запатентованный метод лечения рака с помощью паклитаксела в комбинации и β-лапахоном [76]. Комбинация этих препаратов оказывала аддитивный эффект в снижении размеров опухолей по сравнению с введением их по отдельности. Синергизм в действиях указанных препаратов объясняется, с нашей точки зрения, тем, что они оба снижают в опухолевых клетках дисбаланс ΔК(ПО-АО), причем β-лапахон делает это непосредственно, как антиоксидант.

Реальными представляются также варианты проапоптозного действия таксанов в зависимости от степени деградации сети микротрубочек в опухолевых клетках и от того, к какой границе в них дисбаланс приближен – нижней или верхней в пределах диапазона ΔК(ПО-АО). Если микротрубочки дестабилизированы незначительно и значение дисбаланса сдвинуто к нижней границе «канцерогенезного» диапазона ΔК, то для улучшения состояния системы микротрубочек и осуществления перехода ΔА1←ΔК достаточно будет низких концентраций таксанов. Если же сеть микротрубочек повреждена более серьезно, а дисбаланс в диапазоне ΔК(ПО-АО) приближен к верхней его границе, то соответственно потребуются уже высокие концентрации таксанов, чтобы восстановить нарушенную сеть микротрубочек и реализовать тот же переход ΔА1← ΔК. Не ис-

ключено, что по этому или близкому к нему сценарию происходят процессы, определившие результат работы [77]. Здесь апоптоз чувствительных клеток рака молочной железы человека MDA-MB-435 индуцировали низкие концентрации паклитаксела и доцетаксела. Резистентные же клетки рака молочной железы человека NCI-ADR-RES подвергались апоптозу высокими концентрациями указанных таксанов. В обоих случаях происходила активация каспазы-3 и каспазы-9, но высвобождение цитохрома с происходило только в клетках NCI-ADR-RES.

Не менее вероятен и вариант с апоптозом А2: стабилизация микротрубочек в клетках в гипероксических условиях in vitro по тем же причинам ограничивает верхний уровень дисбаланса ΔК(ПО – АО), предотвращая тем самым возрастание его с ΔК сразу до значений окислительного цитолиза ΔЦ, однако возможность более умеренного повышения с ΔК до ΔА2(ПО-АО) в этих условиях сохраняется. С точки зрения приведенных аргументов, индукция таксолом апоптозов А1 или А2 клеток различных раковых линий, в том числе клеток раков пищевода [78] и желудка человека [79], Т- и В-клеточных лимфом линий Jurkat, BJAB и Raji [72], в принципе понятна. Привлекательными представляются также данные о высокой противоопухолевой активности NTI-286 – синтетического аналога природного продукта гемиастерлина. В отличие от стабилизации микротрубочек паклитакселем, NTI-286 и гемиастерлин в микромолярных концентрациях деполимеризуют эти структуры [80]. В таком случае, согласно нашим представлениям, в опухолевой клетке должно иметь место возрастание дисбаланса ΔК до уроня ΔА2 или даже до ΔЦ.

«Микротрубочковый» вариант индукции и/или поддержания апоптоза по кислородно-перекисному механизму нашел определенное подтверждение и в следующем исследовании. Фрагментация ДНК в клетках мегакариобластного лейкоза (линия СМК-7) при апоптозе, индуцированном актиномицином D, ускоряется в присутствии колцемида и цитохалазина – ингибиторов полимеризации соответственно тубулина и актина. Снижение трансмембранного потенциала в митохондриях, выход из них цитохрома с в цитозоль и появление вследствие этого активной формы каспазы-3 более выражены в клетках, обработанных актиномицином D с добавлением колцемида и цитохалазина, чем в клетках после воздействия только одного актиномицина. Это означает, что разрушение цитоскелета стимулирует повреждение мембран митохондрий и выход в цитозоль цитохрома с, причем изменения цитоскелета, как полагают авторы работы [81], оказывают решающее действие на ранние биохимические и поздние морфологические процессы при апоптозе, индуцированном актиномицином D.

Таким образом, апоптоз нормальных ростстимулированных клеток чаще всего индуцируется при повышении ΔП до ΔА1, а опухолевых клеток как при снижении ΔК до ΔА1, так и при возрастании ΔК до ΔА2. Признание этого принципиально важного положения позволяет понять, казалось бы, парадоксальные факты, когда в одних случаях опухолевые клетки подвергаются апоптозу при воздействии антиоксидантов, снижающих окислительный стресс, а в других – наоборот, при усилении этого стресса прооксидантами. [23, п.7.1; 24]. А рассмотренные в данном разделе парадоксальные тоже материалы о том, что как стабилизирующие, так и дезорганизующие микротрубочки агенты являются апоптогенными, фактически отражают неявную причастность этих агентов к окислительному стрессу на уровне дисбалансов ΔА1 и ΔА2. Последние, а точнее соответствующие им уровни АФК и АФА, выполняющих функцию сигнальных молекул, прямо или косвенно запускают комплекс ферментативных, в основном протеолитических, процессов, которые быстро осуществляют «демонтаж» клетки, но многие тонкости этого феномена остаются пока неясными. Особенно важным представляется установление различия в механизмах реализации апоптозов А1 и А2. Предположительно, различные АФК, АФА и пероксиды, действующие в пределах дисбалансов ΔА1 и ΔА2, приводят к активации или инактивации сходных наборов про- и антиапоптозных онкобелков, каспаз, протеинкиназ и еще каких-то исполнительных звеньев, но различающихся изоформами и их соотношением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1) Из ряда известных структурно-функциональных назначений целостного цитоскелета в данной работе основное внимание уделено связывающим и транспортным функциям ее элементов. При расстройстве микрофиламентов и микротрубочек, прикрепленные к ним митохондрии, являясь главными потребителями O_2, испытывают трудности в адресной доставке и утилизации O_2. В итоге создаются условия для возникновения и/или усиления в клетке окислительного стресса разного уровня и реализации связанных с ним фундаментальных биохимических процессов, включая негативные. Это принципиально важное с нашей точки зрения положение логически увязывается со способностью митохондрий фактически выполнять защитную антикислородную функцию, поддерживая в клетке низкие, но достаточные для энергообеспечения концентрации O_2. Это обстоятельство мудрая природа использовала для решения и другой не менее важной внутриклеточной задачи – регуляторной. Она опять-таки логически вытекает из возможности прямо или опосредованно влиять на очевидную четко выраженную способность митохондрий определять (устанавливать) в клетке определенные значения pO_2 и соответствующие ему уровни окислительного стресса. В одном случае это достигается непосредственным воздействием на активность

(интенсивность) дыхательной цепи в митохондриях, в во втором – косвенно на транспорт по элементам цитоскелета O_2 и компонентов, необходимых для нормального функционирования и биогенеза митохондрий.

2) Для достижения в клетке умеренно повышенного уровня дисбаланса ΔП (ПО-АО), необходимого для пролиферации (окислительного митогенеза) нормальных клеток, достаточно, по-видимому, незначительного ослабления митохондриального дыхания и/или деполимеризации актиновых микрофиламентов на участке от плазматической мембраны до мест стыковки их с микротрубочками. Все другие «специализированные» дисбалансы Δ (ПО-АО), превышающие значения ΔП (ПО-АО), отнесены нами к разряду патологических. Исключение составляют дисбалансы ΔА1 (ПО-АО) и ΔА2 (ПО-АО), которые адаптированы эволюцией для выполнения в целом позитивных функций – поддержания тканевого гомеостаза путем устранения дефектных и ставших ненужными клеток. Для получения высоких уровней дисбаланса Δ (ПО-АО) необходимы более серьезные нарушения в митохондриях, вплоть до снижения общей мощности митохондриальной базы, и/или дополнительно дестабилизация сети микротрубочек.

3) Сам по себе факт дезорганизации микротрубочек не является непосредственной первопричиной возникновения в клетках патологических дисбалансов Δ(ПО-АО). Первичные негативные изменения происходят прежде всего в митохондриях, влияя отчасти и на расстройство сети микротрубочек. Дезорганизация последних в этом случае создает лишь положительную обратную связь по устойчивому поддержанию уже действующих в опухолевых и апоптозных клетках соответствующих уровней дисбалансов Δ (ПО-АО). Однако при искусственной (принудительной) деполимеризации микротрубочек экзогенными соединениями возникающие дисбалансы вполне могут быть первопричиной для злокачественной трансформации и апоптоза клеток. Но такие факты нам пока неизвестны в отличие от данных, по которым восстановление сети микротрубочек определенными препаратами оказывает противоопухолевый и антиапоптозный эффекты. При рассмотрении связи клеточных патологий с нарушениями цитоскелета мы ограничились пока канцерогенезом, хотя имеются приемлемые факты и по некоторым другим патологиям. В стороне остались также покоящиеся клетки ввиду недостаточной разработанности применительно к ним затронутой нами проблемы.

4) В настоящее время, однако, независимо от выяснения первичных причин, приводящих к окислительному стрессу (что само по себе важно), более насущной задачей исследований представляется установление конкретных исполнительных звеньев, действие которых так или иначе определяется кислородно-перекисной ситуацией в клетке. Различные АФК, АФА и некоторые перекисные продукты, действующие в пределах соответствующих дисбалансов в качестве сигнальных молекул, прямо или косвенно влияют на активность определенных факторов транскрипции, изменяют спектр экспрессируемых белков и направленность синтетических и регуляторных процессов. Эффекты одних исполнительных звеньев непосредственно определяются уровнями указанных сигнальных молекул, а другие, наоборот, сами влияют на эти уровни. Различия в исполнительных звеньях при апоптозах А1 и А2 пока неизвестны. Скорее всего, дисбалансы ΔА1 (ПО-АО) и ΔА2 (ПО-АО) приводят к активации или инактивации сходных наборов про (Bax, Bak, Bid и др.)- и антиапоптозных (Bcl-2. Bcl-XL, Mcl-1 и др.) онкобелков, но различающихся изоформами и их соотношением. Это касается и каспаз, и участвующих на промежуточных этапах апоптоза различных протеинкиназ. При этом некоторые из исполнительных звеньев, в частности онкобелки и каспазы, могут прямо или косвенно активироваться или инактивироваться, по-видимому, только в диапазоне дисбалансов ΔА1(ПО-АО) или ΔА2(ПО-АО) действующими в этих пределах уровнями АФК, АФА и перекисей липидов и белков.

5) При изложении материалов данной статьи важно было учитывать логическую компоненту в протекании сложных взаимосвязанных процессов в клетке. Такого методического подхода к исследованиям придерживаются, например, и авторы статьи [82]. Живая клетка как информационная система рассматривается ими как с позиций физико-химической реализации, так и логической ее организации. Логический подход к организации системы требует определенного уровня абстракции от физико-химической ее структуры, чего в большинстве современных исследований нет, даже в работах, посвященных процессам регуляции. Мы всегда старались учитывать этот момент в своих работах. И это способствовало получению новых синтетических знаний приоритетного характера [23]. Можно думать, что и происходящие в системе цитоскелет – митохондрии – окислительный стресс регуляторные процессы, причастные к важнейшим как позитивным, так и негативным внутриклеточным эффектам, организованы природой логически безупречно, а исследователям остается только все это понять и по возможности доказать.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Vale R. D. (2003) Cell, 112, 467-480.
2. Pilling A.D., Horiuchi D., Lively C.M., Saxton W.M. (2006). Mol. Biol. Cell. 17, 2057-2068.
3. Ligon L. A., Steward O. (2000) J. Compar. Neurol, 427, 351-361.
4. Поглазов Б. Ф. Биохимия, - 1996, - 61, - С.1941-1947.
5. Gennerich A., Schild D. Phys. Biol.. 2006, 3(1), 45-53.
6. Anesti V., Scorrano L. (2006). Biochim. Biophys. Acta, 1757, 692-699.
7. Кулик А.В.. Автореф. дис. на соис. уч. степ. канд. физ.-мат. наук. Долгопрудный. Моск. физ.-тех. ин-т. - 2006, – 23 с.
8. Кулик А.В., Некрасова О.Е., Минин А.А. Биол. мембраны, - 2006. - 23, - С.42-51.
9. Walker P. R., Whitfield J. F. (1985) J. Biol. Chem., 260, 765-770.
10. Васильев А. Е (1996). Журн. общей биологии, 57(3), 293-325.
11. Hales K.D. (2004) Mitochondrion, 4(4), 285-308.
12. Hollenbeck P.J., Saxton W.M. (2005) J. Cell Sci. 118, 5411-5419.
13. Torres, M., Coates, Th. D. (1999) J. Immunol. Meth., 232(1-2), 89-109.
14. Lohi O., Poussu A., Mao Y., Quiocho F., Lehto V.-P. (2002). FEBS Lett. 513(1), 19-23.
15. Olson A.L., Trumbly A. R., Gibson G.V. (2001). J. Biol. Chem. 276, 10706-10714.
16. Mundy D.I., Machleidt Th., Ying Y.-S., Anderson R.G.W., Bloom G.S. (2002) J. Cell Sci. 115, 4327-4339.
17 Appaix F., Kuznetsov A. V., Usson Y., Kay L., Andrienko T., Olivares J., Kaambre T., Sikk P., Margreiter R., Saks V. (2003) Exp. Physiol., 88(1), 175-190.
18. Лю Б.Н., Лю М.Б., Исмаилов Б.И.. Успехи современной биол. - 2006, - 126, - С. 388-398.
19. Турпаев К. Т. Биохимия. – 2002. – 67. - С.339-352.
20. Allen R. G., Tresini M. (2000) Free Radic. Biol. and Med., 28, 463-499.
21. Klaunig J. E., Kamendulis L. M. (2004) Annual Review of Pharmacology and Toxicology. Palo Alto (Calif.), 44, pp. 239-267.
22. Лю Б. Н. Успехи современной биологии. - 2001. - 121, - С.488-501.
23. Лю Б. Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концеп-ция). - 2003. - Алматы, Деуир, - 808 с.
24. Лю Б.Н., Лю М.Б. Успехи современной биол. - 2005.-125, С. 567-578.
25. Kunz W. S. (2003). Exp. Physiol., 88(1), 149-154.
26. Shen N., Datta D., Schaffer C.B., LeDuc P., Ingber D.E., E. (2005). Mech. Chem. Biosyst. 2(1), 17-25.
27. Абдрахманова А.Ф., Бачурина А.С. Материалы Международной конференции студентов и аспирантов по фундаментальным наукам «Ломоносов». -1983. - М., - 2000. - Вып. 4, 7.
28. Епифанова О. И., Терских В. В., Полуновский В. А. Покоящиеся клетки. - М., Наука., - 176 с.
29. Bershadsky A., Chausovsky A., Becker E. (1995) Curr. Biol., 6, 1279-1289.
30. Panda D., Ananthnarayan V., Larson G., Shin Ch., Jordan M. A., Wilson L. (2000). Biochemistry, 39, 14121-14127.
31. Надеждина Е. С., Зиновкина Л. А. Успехи биол. химии, - 1999. - 39, - С.187-224.
32. Mistry S. J., Atweh G. F. (2002) Mount Sinai J. Med., 69, 299-304.
33. Hotehin N. A., Hall A. (1996). Cell Signall. - Cold Spring Harbor, N. Y., pp. 311-322.
34. Drewes G., Ebneth A., Preuss U., Mandelkow E. M., Mandelkow E. (1997) Cell,. 89, 297-308.
35. Jaken S., Leach K., Klauck T. (1989) J. Cell. Biol., 109, 697-704.
36. Axel D. I., Kunert W., Göggelmann Ch., Oberhoff M., Herbeg Ch., Kűttner A., Wild D. H., Berhm B. R., Riessen R., Koverker G., Rasch K. R. (1997) Circulation, 96, 636-645.
37. Giannakakou P., Sackett D. L., Kang Y.-K., Zhan Z., Buters J. T. M., Fojo T., Poruchynky M. S. (1997) J. Biol. Chem. 272, 17118-17125.
38. Mullins D. W., Koci M. D., Burger C. J., Elgert K. D. (1998) Immunopharmacol. and Immuotoxi-col., 20, 473-492.
39. Preseisler V. K., Stopper H., Schindler D., Friedel R., Pfreund-Stopper H., Hoppe F., Hagen R. (1998). Acta oto-laryngol., 118, 600-605.
40. Kapoor P., Sachdeva M., Madhubata R. (1999). FEMS Microbiol. Lett.,176, 429-435.
41. Bollag D. M., McQueney P. A., Zhu Jian Koupa L., Liesch J., Goetz M., Lazarides E., Woods C. M. (1995) Cancer Res. 55, 2325-2333.
42. Piazzolla G., Tortorella C., Serrone M., Jirillo E., Antonaci S. (1998) Immunopharmacol. and Im-munotoxicol. 20(2), 251-266.
43. Vértessy B. G., Bánkfalvi D., Kovács J., Lőw P., Lehotzky A., Ovadi J. (1999) Biochem. and Bio-phys. Res. Commun., 254, 430-435.
44. Gasnier F., Ardail D., Febvay G., Simonot C., Lerme F., Guillaud J., Louisot P., Gateau-Roesch O. (1993) Biochem. Biophys. Res. Commun. 195, 1365-1370.
45. Кондрашова М. Н., Сирота Т. В., Темнов А. В., Белоусова Ж. В., Петруняка В. В. Биохимия. - 1997, - 62, - С.154-163.

46. Свиткина Т. М., Каверина И. Н. Цитология, -1989. - 31, - С. 1441-1447.
47. Wu J., Zhang Y., Bai J. (1996) Beijing zhongyiyao daxue xuebao = J. Beijing Univ. tradit. Chin. Med., 19(Suppl.), 38-39.
48. Chazaud B., Muriel M.-P., Aubery M., Cassio D. (1998) C.r. Acad. Sci. Ser. 3, 321(1), 11-18.
49. Yang C.-H., Luo Sh.-Q. (2001) Gi-yi junyi daxue xuebao = J. First Mil. Med. Univ. 21(5), 336-337.
50. Decloitre F., Cassingena R., Estarde S., Martin M. (1989) Cytotechnology, 2(Suppl.), 14.
51. Long B. H., Carboni J. M., Wasserman A. J., Cornell L. A., Casazza A. M., Jensen P. R., Lindel Th., Fenical W., Fairchild C. R. (1998) Cancer Res., 58, 1111-1115.
52. Vaclavikova R., Ozgova S., Stiborova M., Gut I. (2001) Toxicol. Lett., 123, прил. 1, 85.
53. Jordan M. A., Wilson L. (1998) Curr. Opinion Cell Biol., 10 (1), 123-130.
54. Pellegrini F., Budman D.R. (2005). Cancer Invest. 23, 264-273.
55. Scott J. A. (1984) J. Theor. Biol., 106, 183-188.
56. Papa S., Scacco S., Sardanelli A. M., Petruzzella V., Vergan R., Signorile A., Technikova-Dobrova Z. (2002) Biosci. Repts., 22, 3-16.
57. Boruta D. M., Fowle W. C., Gehrig P. A., Boggess J. F., Walton L. A., Van Le L. (2003) Cancer Invest., 21, 675-681.
58. Miglietta A., Bocca C., Gabriel L. (2002). Chem. Biol. Interact. 139(3), 283-299.
59. Juan O., Albert A., Villarroya T., Zanchez R., Casan R., Caranana V., Campos J. M., Alberola V. (2003) Neoplasma, 50(3), 204-209.
60. Taniguchi T., Takahashi M., Shinohara F., Sato T., Echigo S., Rikiishi H. (2005). Int. J. Mol. Med. 15, 667-673.
61. Wan Yun-Feng, Guo Xue-Ging. Wang Zheng-Hua, Ying K., Yao Ming-Hui. (2004). Acta pharma-col. Sin. 25, 378-384.
62. Merchan J.R., Jayaram D.R., Supko J.G., He X., Bubley G.J., Sukhatme V.P. (2005). Int. J. Cancer 113, 490-498.
63. Karbowski M., Spodnik J. N., Teranishi M., Wozniak M., Nishizawa Y., Usukura J., Wakabayashi T. (2001) J. Cell Sci., 114, 281-292.
64. Lee C.F., Liu C.Y., Hsieh R.H., Wei Y.H. (2005). Ann. N. Y. Acad. Sci. 1042, 246-254.
65. Бершадский А. Д., Ставровская А. А. Цитология, - 1988. - №30, - С.1123-1126.
66. Збарский И.Б. Организация клеточного ядра, -1988. - М., Медицина, - 358 с.
67. Fabbri F., Carloni S., Brigliadori G., Zoli W., Lapalombella R., Marini M. (2006). BMC Cell Biol. 7, 6.
68. Tsukidate K., Yamamoto K., Shyder J. W., Farber J. L (1993) Amer. J. Pathol., 146, 918-925.
69. Goh E. L. K., Pircher T. J., Lobie P. E. (1998) Endocrinology, 139, 4364-4373.
70. Mills J. C., Lee V. M.-Y., Pittman R. N. (1998) Amer. J. Physiol., 111, 625-636.
71. Xiao D., Pinto J.T., Gundersen G.G., Weinstein I.B. (2005). Mol. Cancer Ther. 4, 1388-1398.
72. Zhou X., Zhang T., He K., Xu L., Li X., Zhu W., Lin A. (1999) Chin. J. Cancer Res. 11(2), 105-110.
73. Yuan J.-H., Zhang R. P., Zhang R. G., Guo L. X., Wang X. W., Luo D., Xie Y., Xie H. (2000) J. Gastroenterol., 6(2), 210-215.
74. Andre N. Carre M., Brasseur G., Pourroy B., Kovacic H., Briand C., Braguer D. (2002) FEBS Lett. 532, 256-260.
75. Fawcett H., Mader J.S., Robichaud M., Hoskin D.W. (2005). Int. J. Oncol. 27, 1717-1726.
76. Pardee A.B., Chiang J., Li Y. Патент 6875745 США, МПК7 A61K 31/70, A61K 31/519; Dana Farber Cancer Inst. Inc. – № 10/683199; Заявл. 09.10.03; Опубл. 05.04.05; НПК 514/25.
77. Kovar J., Koc M., Ehrlichova M., Truska J., Nad'ova Z. (2005). Cell Proliferat. 38(5), 323.
78. Peng W.-D., Zhang J., Cao Y.-X., Hui H.-X., Lin M., Wang Ch.-J. (1998) Zhongguo yaolixue tongbao = Chin. Pharmacol. Bull., 14, 402-406.
79. Lin H.-L., Chang Y.-F., Liu T.-Y., Wu C.-W., Chi C.-W. (1998) Anticancer Res. 18, 3443-3449.
80. Krishnamurthy G., Cheng W., Lo M.-C., Aulabaugh A., Razinkov V., Ding W.-D., Loganzo F., Zask A., Ellestad G. (2003) Biochemistry, 42, 13484-13495.
81. Yamazaki Y., Tsugura M., Zhou D., Fujita Y., Shang X., Dang Y., Kawasaki K., Oka S. (2000) Exp. Cell Res., 259, 64-78.
82. Тарасов Д.С., Акберова Н.И. Учен. Зап. Казан. гос. ун-та, - 2005.- №147(ч.2), - С.180-195.

REFERENCES

1. Vale R. D. (2003) Cell, 112, 467-480.
2. Pilling A.D., Horiuchi D., Lively C.M., Saxton W.M. (2006). Mol. Biol. Cell. 17, 2057-2068.
3. Ligon L. A., Steward O. (2000) J. Compar. Neurol, 427, 351-361.
4. Poglazov B. F. Biohimiya, - 1996, - 61, - S.1941-1947.
5. Gennerich A., Schild D. Phys. Biol.. 2006, 3(1), 45-53.
6. Anesti V., Scorrano L. (2006). Biochim. Biophys. Acta, 1757, 692-699.
7. Kulik A.V.. Avtoref. dis. na sois. uch. step. kand. fiz.-mat. nauk. Dolgoprudnyiy. Mosk. fiz.-teh. in-t. - 2006, – 23 s.
8. Kulik A.V., Nekrasova O.E., Minin A.A. Biol. membranyi, - 2006. - 23, - S.42-51.
9. Walker P. R., Whitfield J. F. (1985) J. Biol. Chem., 260, 765-770.

10. Vasilyev A. E (1996). Zhurn. obshchey biologii. 57(3). 293-325.
11. Hales K.D. (2004) Mitochondrion, 4(4), 285-308.
12. Hollenbeck P.J., Saxton W.M. (2005) J. Cell Sci. 118, 5411-5419.
13. Torres, M., Coates, Th. D. (1999) J. Immunol. Meth., 232(1-2), 89-109.
14. Lohi O., Poussu A., Mao Y., Quiocho F., Lehto V.-P. (2002). FEBS Lett. 513(1), 19-23.
15. Olson A.L., Trumbly A. R., Gibson G.V. (2001). J. Biol. Chem. 276, 10706-10714.
16. Mundy D.I., Machleidt Th., Ying Y.-S., Anderson R.G.W., Bloom G.S. (2002) J. Cell Sci. 115, 4327-4339.
17. Appaix F., Kuznetsov A. V., Usson Y., Kay L., Andrienko T., Olivares J., Kaambre T., Sikk P., Margreiter R., Saks V. (2003) Exp. Physiol., 88(1), 175-190.
18. Lyu B.N. Lyu M.B. Ismailov B.I. Uspekhi sovremennoy biol. - 2006. - 126. - S. 388-398.
19. Turpayev K. T. Biokhimiya. – 2002. – 67. - S.339-352.
20. Allen R. G., Tresini M. (2000) Free Radic. Biol. and Med., 28, 463-499.
21. Klaunig J. E., Kamendulis L. M. (2004) Annual Review of Pharmacology and Toxicology. Palo Alto (Calif.), 44, pp. 239-267.
22. Lyu B. N. Uspehi sovremennoy biologii. - 2001. - 121, - S.488-501.
23. Lyu B. N. Starenie, vozrastnyie patologii i kantserogenez (kislorodno-perekisnaya kontsep-tsiya). - 2003. - Almatyi, Deuir, - 808 c.
24. Lyu B.N., Lyu M.B. Uspehi sovremennoy biol. - 2005.-125, S. 567-578.
25. Kunz W. S. (2003). Exp. Physiol., 88(1), 149-154.
26. Shen N., Datta D., Schaffer C.B., LeDuc P., Ingber D.E., E. (2005). Mech. Chem. Biosyst. 2(1), 17-25.
27. Abdrahmanova A.F., Bachurina A.S. Materialyi Mezhdunarodnoy konferentsii studentov i aspirantov po fundamentalnyim naukam «Lomonosov». -1983. - M., - 2000. - Vyip. 4, 7.
28. Epifanova O. I., Terskih V. V., Polunovskiy V. A. Pokoyaschiesya kletki. - M., Nauka., - 176 s.
29. Bershadsky A., Chausovsky A., Becker E. (1995) Curr. Biol., 6, 1279-1289.
30. Panda D., Ananthnarayan V., Larson G., Shin Ch., Jordan M. A., Wilson L. (2000). Biochemistry, 39, 14121-14127.
31. Nadezhdina E. S., Zinovkina L. A. Uspehi biol. himii, - 1999. - 39, - S.187-224
32. Mistry S. J., Atweh G. F. (2002) Mount Sinai J. Med., 69, 299-304.
33. Hotehin N. A., Hall A. (1996). Cell Signall. - Cold Spring Harbor, N. Y., pp. 311-322.
34. Drewes G., Ebneth A., Preuss U., Mandelkow E. M., Mandelkow E. (1997) Cell,. 89, 297-308.
35. Jaken S., Leach K., Klauck T. (1989) J. Cell. Biol., 109, 697-704.
36. Axel D. I., Kunert W., Göggelmann Ch., Oberhoff M., Herbeg Ch., Kűttner A., Wild D. H., Berhm B. R., Riessen R., Koverker G., Rasch K. R. (1997) Circulation, 96, 636-645.
37. Giannakakou P., Sackett D. L., Kang Y.-K., Zhan Z., Buters J. T. M., Fojo T., Poruchynky M. S. (1997) J. Biol. Chem. 272, 17118-17125.
38. Mullins D. W., Koci M. D., Burger C. J., Elgert K. D. (1998) Immunopharmacol. and Immuotoxicol., 20, 473-492.
39. Preseisler V. K., Stopper H., Schindler D., Friedel R., Pfreund-Stopper H., Hoppe F., Hagen R. (1998). Acta oto-laryngol., 118, 600-605.
40. Kapoor P., Sachdeva M., Madhubata R. (1999). FEMS Microbiol. Lett.,176, 429-435.
41. Bollag D. M., McQueney P. A., Zhu Jian Koupa L., Liesch J., Goetz M., Lazarides E., Woods C. M. (1995) Cancer Res. 55, 2325-2333.
42. Piazzolla G., Tortorella C., Serrone M., Jirillo E., Antonaci S. (1998) Immunopharmacol. and Immunotoxicol. 20(2), 251-266.
43. Vértessy B. G., Bánkfalvi D., Kovács J., Lőw P., Lehotzky A., Ovadi J. (1999) Biochem. and Biophys. Res. Commun., 254, 430-435.
44. Gasnier F., Ardail D., Febvay G., Simonot C., Lerme F., Guillaud J., Louisot P., Gateau-Roesch O. (1993) Biochem. Biophys. Res. Commun. 195, 1365-1370.
45. Kondrashova M. N., Sirota T. V., Temnov A. V., Belousova Zh. V., Petrunyaka V. V. Biohimiya. - 1997, - 62, - S.154-163.
46. Svitkina T. M., Kaverina I. N. Tsitologiya, -1989. - 31, - S. 1441-1447.

47. Wu J., Zhang Y., Bai J. (1996) Beijing zhongyiyao daxue xuebao = J. Beijing Univ. tradit. Chin. Med., 19(Suppl.), 38-39.
48. Chazaud B., Muriel M.-P., Aubery M., Cassio D. (1998) C.r. Acad. Sci. Ser. 3, 321(1), 11-18.
49. Yang C.-H., Luo Sh.-Q. (2001) Gi-yi junyi daxue xuebao = J. First Mil. Med. Univ. 21(5), 336-337.
50. Decloitre F., Cassingena R., Estarde S., Martin M. (1989) Cytotechnology, 2(Suppl.), 14.
51. Long B. H., Carboni J. M., Wasserman A. J., Cornell L. A., Casazza A. M., Jensen P. R., Lindel Th., Fenical W., Fairchild C. R. (1998) Cancer Res., 58, 1111-1115.
52. Vaclavikova R., Ozgova S., Stiborova M., Gut I. (2001) Toxicol. Lett., 123, прил. 1, 85.
53. Jordan M. A., Wilson L. (1998) Curr. Opinion Cell Biol., 10 (1), 123-130.
54. Pellegrini F., Budman D.R. (2005). Cancer Invest. 23, 264-273.
55. Scott J. A. (1984) J. Theor. Biol., 106, 183-188.

56. Papa S., Scacco S., Sardanelli A. M., Petruzzella V., Vergan R., Signorile A., Technikova-Dobrova Z. (2002) Biosci. Repts., 22, 3-16.
57. Boruta D. M., Fowle W. C., Gehrig P. A., Boggess J. F., Walton L. A., Van Le L. (2003) Cancer Invest., 21, 675-681.
58. Miglietta A., Bocca C., Gabriel L. (2002). Chem. Biol. Interact. 139(3), 283-299.
59. Juan O., Albert A., Villarroya T., Zanchez R., Casan R., Caranana V., Campos J. M., Alberola V. (2003) Neoplasma, 50(3), 204-209.
60. Taniguchi T., Takahashi M., Shinohara F., Sato T., Echigo S., Rikiishi H. (2005). Int. J. Mol. Med. 15, 667-673.
61. Wan Yun-Feng, Guo Xue-Ging. Wang Zheng-Hua, Ying K., Yao Ming-Hui. (2004). Acta pharmacol. Sin. 25, 378-384.
62. Merchan J.R., Jayaram D.R., Supko J.G., He X., Bubley G.J., Sukhatme V.P. (2005). Int. J. Cancer 113, 490-498.
63. Karbowski M., Spodnik J. N., Teranishi M., Wozniak M., Nishizawa Y., Usukura J., Wakabayashi T. (2001) J. Cell Sci., 114, 281-292.
64. Lee C.F., Liu C.Y., Hsieh R.H., Wei Y.H. (2005). Ann. N. Y. Acad. Sci. 1042, 246-254.
65. Bershadskiy A. D., Stavrovskaya A. A. Tsitologiya, - 1988. - #30, - S.1123-1126.
66. Zbarskiy I.B. Organizatsiya kletochnogo yadra, -1988. - M., Meditsina, - 358 s.
67. Fabbri F., Carloni S., Brigliadori G., Zoli W., Lapalombella R., Marini M. (2006). BMC Cell Biol. 7, 6.
68. Tsukidate K., Yamamoto K., Shyder J. W., Farber J. L (1993) Amer. J. Pathol., 146, 918-925.
69. Goh E. L. K., Pircher T. J., Lobie P. E. (1998) Endocrinology, 139, 4364-4373.
70. Mills J. C., Lee V. M.-Y., Pittman R. N. (1998) Amer. J. Physiol., 111, 625-636.
71. Xiao D., Pinto J.T., Gundersen G.G., Weinstein I.B. (2005). Mol. Cancer Ther. 4, 1388-1398.
72. Zhou X., Zhang T., He K., Xu L., Li X., Zhu W., Lin A. (1999) Chin. J. Cancer Res. 11(2), 105-110.
73. Yuan J.-H., Zhang R. P., Zhang R. G., Guo L. X., Wang X. W., Luo D., Xie Y., Xie H. (2000) J. Gastroenterol., 6(2), 210-215.
74. Andre N. Carre M., Brasseur G., Pourroy B., Kovacic H., Briand C., Braguer D. (2002) FEBS Lett. 532, 256-260.
75. Fawcett H., Mader J.S., Robichaud M., Hoskin D.W. (2005). Int. J. Oncol. 27, 1717-1726.
76. Pardee A.B., Chiang J., Li Y. Патент 6875745 США, МПК7 A61K 31/70, A61K 31/519; Dana Farber Cancer Inst. Inc. – № 10/683199; Заявл. 09.10.03; Опубл. 05.04.05; НПК 514/25.
77. Kovar J., Koc M., Ehrlichova M., Truska J., Nad'ova Z. (2005). Cell Proliferat. 38(5), 323.
78. Peng W.-D., Zhang J., Cao Y.-X., Hui H.-X., Lin M., Wang Ch.-J. (1998) Zhongguo yaolixue tongbao = Chin. Pharmacol. Bull., 14, 402-406.
79. Lin H.-L., Chang Y.-F., Liu T.-Y., Wu C.-W., Chi C.-W. (1998) Anticancer Res. 18, 3443-3449.
80. Krishnamurthy G., Cheng W., Lo M.-C., Aulabaugh A., Razinkov V., Ding W.-D., Loganzo F., Zask A., Ellestad G. (2003) Biochemistry, 42, 13484-13495.
81. Yamazaki Y., Tsugura M., Zhou D., Fujita Y., Shang X., Dang Y., Kawasaki K., Oka S. (2000) Exp. Cell Res., 259, 64-78.
82. Tarasov D.S., Akberova N.I. Uchen. Zap. Kazan. gos. un-ta, - 2005.- #147(ch.2), - S.180-195.

SUMMARY

B.I. Ismailov[1,2] S.B. Ismailov[1,2]

ITHE STATE OF CYTOSKELETON AND ITS LINCS "OXYGEN-PEROXIDE" EFFECTS IN SOME PATHOLOGIES AND APOPTOSIS

1. Kazakh Scientific Research Institute of Oncology and Radiology
2. Scientific Center of Anti-Infective Drugs
Kazakhstan, Almaty

The cytoskeleton elements, especially the system of the microtubules, are responsible for produc-tion of cell backbone system, creation the global spatial ordered organization for efficient transport processes. Microtubules are involved into transportation of mitochondria, peroxisomes, microsomes, lyzosomes, Golgi apparatus, vesicular structures, some enzymes, adhesion molecules and, possibly, O2-depoting compounds. During disorganization of microtubules, mitochondria (principal consumers of intracellular O2), lose lose uninterrupted "address" delivery, oxidizing substrates and O2. This may be one of the important factors underlying mitochondrial dysfunctions accompanied by a rise and\or in-tensification in cells hyperoxia and oxidative stress.These impairments are obviously responsible for oxygen-peroxide effects in aging, age-related patholgies, carcinogenesis and apoptosis. The agents. both stabilizing and disorganizating Microtubules appear to be apoptogenic for the tumors cells.

Key words: *cytoskeleton, microtubules, mitochondria, oxidative stress, proliferation, carcinogenesis, apoptosis.*

ТҮЙІНДЕМЕ

Б.И.ИСМАИЛОВ[1,2] С. Б. ИСМАИЛОВ[1,2]

МИТОХОНДИОЛОГИЯҒА ЖӘНЕ МИТОХОНДРИАЛЬДЫ МЕДИЦИНАҒА КІРІСПЕ: ЦИТОҚАҢҚА ЖАҒДАЙЫНЫҢ ҚАЛЫПТЫ ЖАҒДАЙДАҒЫ, ЖАСУШАЛЫҚ ПАТОЛОГИЯЛАРДАҒЫ ЖӘНЕ АПОПТОЗ КЕЗІНДЕГІ ОТТЕГІ-АСҚЫН ТОТЫҒУ ӘСЕРЛЕРІМЕН БАЙЛАНЫСЫ

[1]Қазақ онкология және радиология ғылыми-зерттеу институты
[2]Инфекциялық емес препараттардың ғылыми орталығы
Қазақстан, Алматы

Цитоқаңқаның элементтері, әсіресе микротүтікшелер жүйесі жасушаның тірек жүйесін түзу, жаһандық кеңістіктік ұйымдастыру және ондағы тәртіпті құру үшін, соның ішінде тасымалдау үрдістерінің тиімділігі үшін жауапты. Микротүтікшелердің бойымен оларға тіркелген митохондриялар, пероксисомалар, микросомалар, лизосомалар, Гольджи аппараты, «көпіршікті» құрылымдар, кейбір ферменттер, адгезивтік молекулалар және, болжамды түрде, O2- депонирлеуші қосылыстар жылжиды. Микрофиламенттер мен микротүтікшелердің қандай да бір себептермен ұйымдастырылуы бұзылған жағдайда, митохондриялар, жасушаішілік O2 негізгі тұтынушылары ретінде, оларға тотығу субстраттары мен O2, сондай-ақ олардың биогенезіне қажетті құрамдас бөлшектерді үздіксіз «мекен-жайлық» жеткізуден айрылады, бұл митохондриялық тыныс алудың жеткіліксіздігінің, жасушаларда гипероксия және тотығу күйзелісінің пайда болуының және/немесе күшеюінің маңызды факторларының бірі болуы мүмкін. Олармен қалыпты жасушаларының тотығу митогенезі кезіндегі, кейбір жасушалық патологиялардағы, жекелеп айтқанда канцерогенез кезіндегі, сонымен қатар апоптоз кезіндегі оттегі-тотығу әсерлері байланысты болады. Микротүтікшелерді тұрақтандырушы агенттер және ұйымдастырылуын бұзушы агенттер ісік жасушалары үшін апоптогенді болып табылады. Соңғылары, аталған жасушаларда тотығу күйзелісінің екі түрлі апоптоздық деңгейлеріне әкелетін антиоксидантты және прооксидантты факторларға қарағанда, осындай «парадоксальды» көрініске тек жанама түрде, цитоқаңқа құрылымының және, сәйкесінше, митохондриялардың O2 кәдеге жаратуы жылдамдығының өзгерісі арқылы қатысты болуы мүмкін.

Түйін сөздер: *цитоқаңқа, микротүтікшелер, митохондриялар, тотығу күйзелісі, пролиферация, канцерогенез, апоптоз.*

Об авторах:

Б.И. Исмаилов – д-р мед.наук, проф.

С.Б. Исмаилов – канд.мед.наук
Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии
050008, Казахстан, г. Алматы, ул. Абая 91, +7-7272-92-10-64
Научный центр противоинфекционных препаратов
050008, Казахстан, г. Алматы, ул. Ауэзова 84 Тел. +7-7272-469571, факс +7-7272-700869; sanzhar73@mail.ru

МРНТИ 76.03.33

Н.Р.Аблаев

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ КАНЦЕРОГЕНЕЗА И ОНКОТЕРАПИИ

КазНМУ им. С.Д.Асфендиярова
Казахстан, Алматы

"Невероятно, но исследования показывают, что если бы каждый человек имел оптимальные уровни витамина D, то скорость рака снизилась бы на целых 70 % почти сразу!"

М. Холик, эксперт по витамину D

АННОТАЦИЯ

В работе авторов анализируются данные о том, что медленно, но верно меняется парадигма в онкологии. В частности утверждается, что ведущую роль в развитии рака играют раковые стволовые клетки, берущие начало не от дифференцированных клеток, а от нормальных стволовых клеток. В таком перерождении имеют значение гипоксия, индуцибельные факторы, стимулирующие процессы пролиферации. По мнению авторов, основанном на многочисленных научных фактах, незаменимое противодействие формированию опухолей в организме человека оказывают природные соединения, как например, дипептид карнозин, а также витамины D и $B_{17,}$ используемые, к сожалению, крайне недостаточно в современной медицине.

Ключевые слова: *раковые стволовые клетки, гипоксия индуцибельный фактор (ГИФ-1), D_3, лаэтрил.*

РАКОВЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ (РСК)

Несмотря на то, что исследования в области онкологии ведутся во многих странах мира и них задействованы тысячи научных групп, но до сих пор нет единого мнения о том, откуда берется рак. Возникает всё больше сомнений относительно утверждения официальной онкологии, что онкоклетки получаются из обычных клеток в результате определенных генетических сбоев в них (мутаций). Новые исследования дают основание считать, что тайна онкогенеза заложена в стволовых клетках. Раковые стволовые клетки происходят из региональных (зрелых) стволовых клеток, которые представляют собой соматические плюрипотентные стволовые клетки различных органов, способные к дифференцировке в клетки "своего" органа и трансдифференцировке. Региональные стволовые клетки не разбросаны по ткани хаотически, а формируют ниши и находятся под строгим контролем, осуществляемым их окружением. Понятие "ниши" в настоящее время, определяется как "ограниченное специализированное микроокружение, которое интегрирует и осуществляет межклеточные сигналы для регуляции и поддержании гомеостаза принадлежащим ей стволовым клеткам". Переход нормальных стволовых клеток в раковые стволовые клетки еще не до конца изучен, но возрастает уверенность в том, что решающую роль при этом играют онкогенные мутации. Эти мутации обусловливают возможность увеличения популяции раковых стволовых клеток и числа их аномальных потомков.

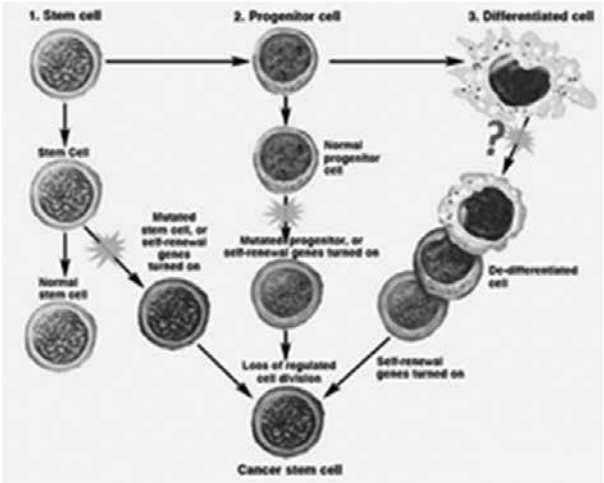

Рисунок 1 – Пути возникновения раковых стволовых клеток (по Charles A. Goldthwaite, Jr., PhD. Are Stem Cells Involved in Cancer? © 2009 Terese Winslow)

Онкогенные мутации в раковых стволовых клетках порождают изменения, в результате которых эти клетки не могут адаптироваться к новой нише. Другими словами, раковые стволовые клетки, в отличие от нормальных стволовых клеток, предрасположены к злокачественному перерождению, в них могут возникнуть новые мутации, вследствие которых утрачивается контроль над ними. Оба типа стволовых клеток способны неограниченно делиться, мигрировать на большие расстояния, находиться в чужом микроокружении и т. д., принципиально отличающие их от других дифференцированных клеток организма.

Нормальная стволовая клетка выполняет нужную работу в нужное время и в нужном месте, потому что служит целому организму, она воспринимает сигналы, отражающие нужды организма и подчиняется им. Раковая клетка являясь частью целого организма, игнорирует его правила и нужды, служа лишь только себе самой, стремясь безудержно делиться и размножаться. Такую раковую стволовую клетку можно назвать «клетка-диссидент».

Возникает вопрос, почему и как появляется раковая стволовая клетка в организме и почему и как организм допускает существование раковой стволовой клетки, игнорирующей законы дифференцировки и всецело поглощенной пролиферацией. Раковые стволовые клетки (РСК) могут возникнуть под влиянием события, вызывающим мутацию в стволовой клетке, нарушая её способности регулировать деление клеток. Существуют несколько гипотез о том, как может возникнуть РСК: (1) стволовая клетка претерпевает мутацию, (2) клетки-предшественники претерпевают две или более мутаций, или (3) полностью дифференцированная клетка проходит несколько мутаций, которые заставляют ее вернуться(?) к стволовой клетке. Во всех 3 случаях, в результате РСК утрачивает способность регулировать своё собственное деление.

Одним из фактов, подтверждающих теорию раковых стволовых клеток, является частое возникновение рака в местах хронических воспалительных процессов или повреждений, в которых идет наиболее интенсивное размножение стволовых клеток для восстановления поврежденного органа. Работа с перегрузкой может привести к сбою в генетическом аппарате стволовой клетки. В такой ситуации стволовая клетка превращается в раковую стволовую клетку, а регенерация органа — видоизменяется в рост опухоли.

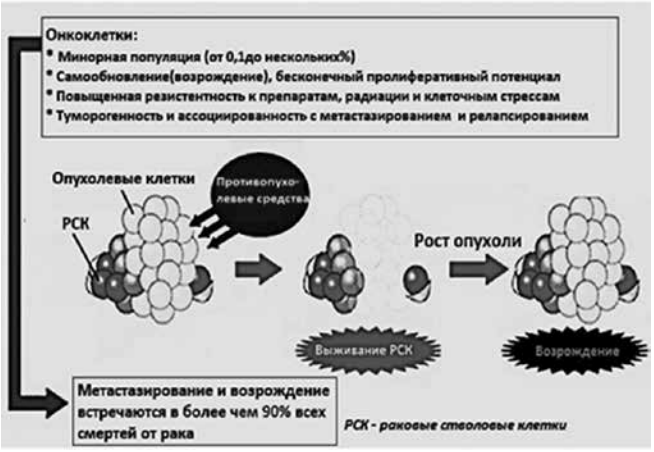

Рисунок 2 – Характеристики раковых стволовых клеток

По современным представлениям, ниша стволовых клеток – это связующее звено контроля и регуляции между клеткой и целостным организмом. Она обеспечивает стволовую клетку факторами, необходимыми для её жизнедеятельности, благодаря её анатомическим особенностям способствует взаимному контролю и обмену информацией между клетками, координирует их действия, обеспечивает координацию между различными популяциями клеток, регулируя их ориентацию и местоположение в ткани, и, следовательно, регулирует морфогенез и функции тканей.

Особенность стволовых клеток состоит в том, что они могут делиться неограниченно. Созревание стволовых клеток происходит в несколько стадий. Поэтому в организме встречается ряд популяций стволовых клеток различной степени зрелости. В нормальном состоянии, чем более зрелой клетка является, тем меньше вероятность того, что она сможет превратиться в клетку другого типа, т.е. в опухолевую. Но все же (в определенной степени, отдавая дань прежним представлениям в онкологии) допускается такое явление благодаря феномену трансдифференциации (transdifferentiation). При каждом делении часть теломеров, защитников целостности и функциональности хромосом, утрачивается (лимит Хейфлика или биочасы).

В стволовых, половых и опухолевых клетках работает теломеразная

активность (обратная транскриптаза), благодаря которой утраченные части теломеров, т.е. концы хромосом надстраиваются, и, таким образом, эти клетки способны проходить бесконечное количество клеточных делений. Они становятся бессмертными (иммортальными). Стволовых клеток в организме человека очень мало: у эмбриона – 1 клетка на 10 тысяч, у человека в 60–80 лет 1 клетка на 5–8 миллионов.

По-прежнему очень плохо понимается то, как опухолевые клетки инициируют общение с окружающей их средой. Некоторые авторы предлагают несколько возможных сценариев:

1. Раковые стволовые клетки, возможно, создают свои собственные ниши (первичный или метастатической сайт, или они делают это косвенно (с помощью стимуляции клеток костного мозга);
2. Раковые стволовые клетки могут занять су-

ществующие ниши нормальных стволовых клеток непосредственно, вытесняя нормальные стволовые клетки.

3. Раковые стволовые клетки захватывают и изменяют нормальные клеточные ниши, и делают их ненормальными.

4. Трансформация клеток ниши является основным событием, а развитие раковых стволовых клеток от нормальных клеток, проживающих в этой нише, является вторичным.

Именно такие раковые клетки, составляющие <1% от всех раковых клеток, являются особенно стойкими к химиотерапии. Если раковые стволовые клетки не убрать, они спровоцируют повторное возникновение рака. Считается, что нормальные и раковые стволовые клетки защищают себя от химиотерапии при помощи одинакового механизма: они постоянно продуцируют информационное биологически активное вещество интерлейкин-4, которое блокирует программу самоуничтожения клеток, т.е. апоптоз, заложенную во всех нормальных клетках организма. При блокировании действия интерлейкина-4 клетки снова становятся чувствительными к воздействию медикаментов: активируется программа апоптоза, и опухолевые клетки могут быть уничтожены.

Из сказанного становится понятно, что очень важно проследить и понять, в какой момент на пути к окончательной специализации стволовая клетка была сломана: от этого может зависеть вид опухоли, степень злокачественности – скорость роста и возникновение метастаз. По-видимому, опухоль каждый раз начинается с единичной стволовой клетки, лежащей в основании любого онкологического заболевания, существование которой трудно предположить, наблюдая за искаженным ее потомством – раковыми клетками. В местах хронического процесса, например, воспаления, регулярно происходит усиленная регенерация, поэтому стволовые клетки работают с перегрузками. Но рано или поздно может наступить момент, когда генетическая программа стволовых клеток даёт сбой. Тогда вместо того, чтобы производить спасательные работы на благо организма, стволовая клетка превращается в клетку-диссидента, становясь раковой и бесконтрольно делясь. А процесс регенерации органа превращается в рост опухоли.

ГИПОКСИЯ И ОНКОГЕНЕЗ

По современным данным, наиболее серьезным фактором превращения нормальной стволовой клетки в раковую стволовую клетку является хроническая гипоксия. Показано, что в очаге ткани, испытывающем тяжелое кислородное голодание, происходит формирование белковых факторов транскрипции генов, продукты которых, на разных уровнях и направлениях, позволяют клеткам/ткани выживать.

В настоящее время известны несколько таких гипоксияиндуцибельных факторов (ГИФ = HIF). Наиболее изучен ГИФ-1. Этот транкрипционный фактор впервые был идентифицирован Грегом Семензой с сотрудниками из университета Джона Хопкинса в Балтиморе в 1992 году как регулятор экспрессии эритропоэтина (EPO). HIF-1 активируются не только гипоксией, но может такой эффект происходить также в условиях нормоксии инсулином и IGF-2. HIF считается ведущим транскрипционным регулятором генов млекопитающих, ответственных за реакцию на недостаток кислорода, а также раковое перерождение. Он активируется в физиологически активных участках регуляции использования кислорода, обеспечивая эффективные ответы на хроническую гипоксию, включает гены выживания: регуляция процесс ангиогенеза,

СТРУКТУРА, ЛОКАЛИЗАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ HIF-1

Комплекс HIF является гетеродимером, состоящим из одной альфа-субъединицы (HIF-1a) и одной бета-субъединицы (HIF-1b). Существуют и другие изоформы (HIF-2 и HIF-3) с различными биологическими свойствами. Бета-субъединица названа транслокатором ядерного рецептора арилкарбонов (ARNT/ HIF-1b) и локализируется в клеточном ядре. Субъединица HIF-1a является кислород – чувствительной, она имеет специфическую функцию в стимулированной гипоксией генной регуляции и является мишенью для кислород-чувствительных сигнальных путей. Обе HIF-1alpha и HIF- 2 alpha субъединицы подвергаются быстрой гипоксической белковой стабилизации и соединяются с ДНК – ответственными элементами.

Способность кислорода влиять на состояние HIF осуществляется на нескольких важных стадиях: включая регулируемый синтез, процессинг и стабилизацию HIF-1, ядерную локализацию, процесс димеризации и взаимодействие с коактиваторами транскрипции. В нормоксических условиях субъединицы HIF-1a постоянно присутствуют в цитоплазме клетки, но имеют короткий период полураспада. Их концентрация поддерживается на низком уровне благодаря двум независимым процессам: пролил- и аспарагин- гидроксилированию. ГИФ-1a постоянно создается и деградируется с помощью фактора von Hippel--Lindau (VHL). В данном белке остаток пролина – 402 и 564 может быть гидроксилированным пролилгидроксилазой, при этом на ГИФ-1a как бы ставится метка для уничтожения (или данный белок списывается за ненадобностью). Гидроксилирование пролина в составе ГИФ-1a вызывает связывание с супрессором опухоли VHL. А такое связывание приводит к убиквитин-протеасомной деградации ГИФ-1a. Тогда, понятно, что напрасно ждет его ГИФ-1b в ядре клетки. Без ГИФ-1a ядерный компонент не способен запустить процесс активации каких-либо генов. Пролилгидроксилаза зависит от кислорода (гидроксилирование в принципе не может проис-

ходить при отсутствии кислорода). Кроме O2, для активации пролилгидроксилазы необходимы и другие факторы, как например, Fe2+, а-кетоглутарат и аскорбиновая кислота. При отсутствии кислорода или при ничтожно малых концентрациях его пролилгидроксилаза активироваться не может, поэтому ГИФ-1а аккумулируется в цитоплазме и поступает в ядро. В ядре же ГИФ-1а и ГИФ-1бета взаимодействуют друг с другом, формируя активный ГИФ-1. Последний связывается с ко-активаторами CBP/p300, в результате чего он становится готовым к действию. На схеме ниже показаны процессы гидроксилирования ГИФ-1а при нормоксии:

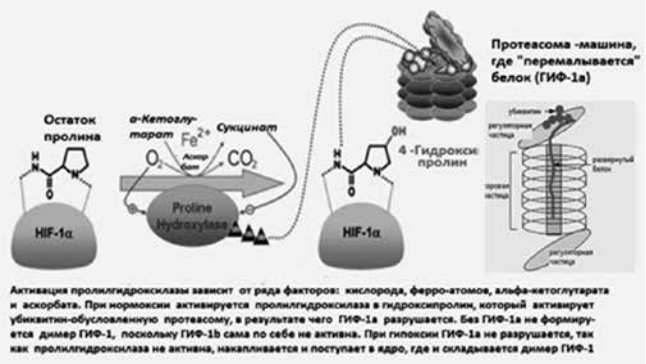

Рисунок 3 – Гидроксилирование и деградация ГИФ-1а протеасомой

В условиях гипоксии PHD и FIH (аспарагин-гидроксилаза, названная FIH-1, factor-inhibiting HIF-1) ферменты инактивируются, и отсутствие гидроксилирования ведет к стабилизации HIF -1 а и активации ряда факторов, которые способствуют формированию ДНК-связывающего гетеродимера с постоянно присутствующей HIF-1b субъединицей и усиливать ко-активатор p300/CBP. Иными словами, недостаток кислорода инактивирует PHD и FIH ферменты, что ведет к активации HIF, который, в свою очередь, запускает экспрессию гипоксия-зависимых генов, таких как эритропоэтин (EPO) и сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и многие другие.

Итак, как же ГИФ-1 выполняет отведенные ему роли? Если кратко, то он помогает нормальным тканям, а также опухолям выживать в условиях гипоксии. Предполагается, что ГИФ-1 стимулирует экспрессию большого числа генов (от 40 до150), продукты которых способствуют выживанию клеток/ткани в условиях хронической тяжелой гипоксии.

По мере понимания роли ГИФ в организме стали вырисовываться факты, говорящие о том, что гипоксия может служить стимулятором превращения нормальных стволовых клеток в раковые стволовые клетки, т.е. она может иметь отношение к онкогенезу. Для подтверждения сказанного можно привести следующее: хроническая гипоксия вызывает индукцию фактора транскрипции (ГИФ-1), который способствует экспрессию генов, кодирующих эндотелиальный фактор роста сосудов (ЭФРС), транспортера глюкозы (ГЛУТ-1), ферменты гликолиза и т.д. Уже показано, что ЭФРС (VEGF) активируется при нескольких раковых заболеваниях человека, включая рак легких, молочной железы, желудочно-кишечного тракта, почек, мочевого пузыря, яичников, эндометрия, глиобластомы и капиллярные гемангиобластомы. Усиление уровня и действия ЭФРС связано с васкуляризацией опухоли, в результате чего увеличивается внутриопухолевая плотность микрососудов (J. Kim, I. Tchernyshyov, G.L. Semenza, C.V. Dang). Когда активность ЭФРС подавляется, ангиогенез опухоли и рост опухоли значительно снижаются.

Подобно ангиогенезу в неопухолевых тканях, ЭФРС – опосредованный ангиогенез опухоли зависит от гипоксии. Центральный некротический участок тканей внутри опухоли имеет низкую напряженность кислорода и на первый план выходят клетки, в которых отсутствуют апоптоз сигналы, устойчивые к разрушающему воздействию гипоксии (J. Kim, I. Tchernyshyov, G.L. Semenza, C.V. Dang). Видимо от них берет начало будущая опухоль.

Опухоли имеют выраженную тенденцию к производству лактата с использованием анаэробного гликолитического пути, даже при наличии достаточного количества кислорода, а не окислительного фосфорилирования, как это происходит в большинстве нормальных (неопухолевых) клеток. Онкоклетки поглощают в 15 раз больше глюкозы, чем не опухолевые клетки. Высокие уровни лактата свидетельствуют о метастазах рецидива опухоли, а также о плохом прогнозе у некоторых больных раком. В молекулярном механизме данного феномена, особенно при клиническом приложении его, лежит стремление опухолевых клеток избегать иммунного ответа организма: высокая секреция лактата из опухолевых клеток ингибирует его экспорт из нормальных клеток, в том числе и Т- клеток (очевидно, что при этом накопление лактата внутри клеток неминуемо будет приводить к гибели таких клеток вследствие закисления среды), тем самым нарушая их метаболизм и функции.

Другими словами, полученные из опухоли молекулы молочной кислоты влияют на воспаление и иммунодефицит опухолевых клеток, т.е. лактат позиционирует себя как внутренний воспалительный медиатор, который увеличивает производство интерлейкинов (IL), в результате чего развивается хроническое воспаление в микроокружении опухоли. Лактат ингибирует также активацию дендритных клеток. Кроме того, производство лактата способствует радиорезистентности опухолей в связи с его антиоксидантными свойствами. Снижение внеклеточного pH, обусловленное накоплением молочной кислоты, является, таким образом, основным признаком опухолевой ткани. Оно происходит с участием транспортеров и насосов, способствующих секреции H +, например, Na + / H + обменником, H + /лактат совмещенным переносчиком, монокарбок-

силат транспортерами и протонными насосами (Н + -АТФазы). Эти же факторы связаны с метастазированием опухоли.

Транспортеры монокарбоксилата – это трансмембранные белки, которые переносят соединения, содержащие одну карбоксильную группу, как лактат, пируват, оксо-кислоты с разветвленной цепью, получающиеся из лейцина, валина и изолейцина, а также кетоновые тела (ацетоуксусная кислота, бета-гидроксибутират и ацетат) в зависимости от ткани и метаболического статуса. Они кодируются геном SLC16A1. Мутации в этом гене, например, в эритроцитах связаны с дефектом переносчика лактата, главного метаболита красных кровяных клеток. Кислая внеклеточная среда не только активирует лизосомальные ферменты, которые имеют оптимум pH в кислотном диапазоне, но индуцирует также экспрессию определенных генов про-метастатических факторов через внутриклеточный сигнальный каскад, отличающийся от ГИФ-1 - механизма.

Некоторыми авторами (Michael P. Lisanti) установлено, что раковые клетки ускоряют старение клеток окружающих их соединительных тканей, вызывая в них воспаление и окислительный стресс, а также блокирование выхода из них лактата, т.е. обрекают нормальные окружающие клетки на гибель, обеспечивая себя «топливом», необходимым для быстрого роста и метастазирования онкоклеток, обладающих свойствами фагов - пожирателей. Авторам удалось также показать, что по мере старения организм становится более восприимчивым к механизмам изменения накопления лактата и извлечения его из соседних неопухолевых клеток, что объясняет повышение риска развития опухолей в пожилом возрасте. Возникает вопрос: как получается, что кислая среда способствует выживанию расцвету онкоклеток и вызывает неминуемую гибель нормальных клеток? Причем компоненты умирающих клеток служат пищей для опухолевых клеток. При запуске лактатного «челнока» клетки одного типа питаются за счет клеток другого типа. Исследователи утверждают, что в данном случае у опухолевых клеток развивается зависимость от лактата, для активизации производства которого они запускают в клетках соединительной ткани процессы старения и воспаления.

(Результаты проведенного авторами исследования опубликованы в июньском номере журнала Cell Cycle в статьях: Molecular profiling of a lethal tumor microenvironment, as defined by stromal caveolin-1 status in breast cancers, Evidence for a stromal-epithelial "lactate shuttle" in human tumors: MCT4 is a marker of oxidative stress in cancer-associated fibroblasts и Cytokine production and inflammation drive autophagy in the tumor microenvironment: Role of stromal caveolin-1 as a key regulator).

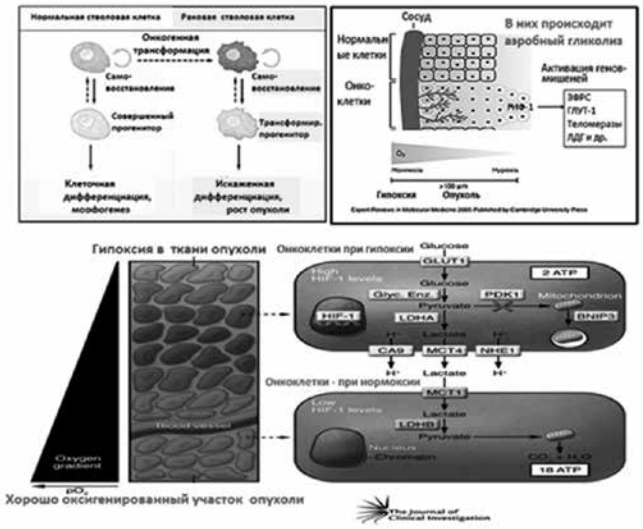

Рисунок 4 – Некоторые характеристики раковых стволовых клеток

Кроме того, гипоксия может способствовать выживанию клеток, которые индуцируют продукцию ЭФРС и ангиогенез, чтобы усилить в них использование глюкозы для удовлетворения метаболических потребностей (см рис 4).

Микросреда и системные факторы оказывают модифицирующие влияние на развитие раковых клеток. Дисбаланс кислотно-щелочного равновесия (особенно сдвиг в кислую сторону) модулирует молекулярную активность глюкокортикоидов, инсулиноподобный фактор роста (IGF-1), а также сигнализацию адипокинов (цитокинов), способствующих дизрегуляции клеточного метаболизма. Короче говоря, диетоиндуцированный ацидоз или метаболический лактоацидоз могут влиять на молекулярную деятельность на клеточном уровне, которые способствуют прогрессии канцерогенеза и росту опухоли.

Таким образом, гипоксия индуцибельный фактор и связанные с ним ЭФРС и лактадегидрогеназа (ЛДГ), а также повышение активности теломеразы могут быть использованы в качестве ранних онкомаркеров, когда ещё не совсем понятны происхождение и локализация самой опухоли.

Опухоль любит кислую среду и боится щелочной среды.

КАРНОЗИН И ЕГО ПРОТИВОПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА

Когда в ткани достаточен уровень дипептида карнозина, онкогенез блокируется, так как карнозин связывает лактат, главный продукт анаэробного гликолиза, превалирующего пути метаболизма в опухолевых клетках/тканях, не позволяя развиться ацидозу (лактоацидозу). Известно, что онкоклетки более интенсивно растут и размножаются в кислой среде.

Карнозин – дипептид, состоящий из остатков обычной аминокислоты гистидина и необычной аминокислоты – бета-аланина, которая получается в клетках из аспарагиновой кислоты путём ее декарбоксилирования, – в ней аминогруппа располагается в бета-положении. Карнозин синтезируется ферментом карнозинсинтетазой и может гидролизоваться ферментом карнозиназой, очевидно, не вырабатываемой микрофлорой кишечника, а обычные дипептидазы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека не способны расщепить этот особый дипептид. Поэтому значительная часть экзогенного карнозина, поступающего с продуктами животного происхождения, сохраняется в ЖКТ человека и может частично всасываться и действовать так же, как и эндогенный карнозин. С возрастом скорость синтеза карнозина в организме существенно падает, и, следовательно, организму всё труднее заглушать лактоацидоз. Тогда возникает необходимость в дополнительном приёме карнозина с БАДами, или с продуктами животного происхождения, особенно мясных.

Карнозин был впервые выделен из мышц (мяса) ученым из МГУ В.Гулевичем в 1900 году. Многие биологические свойства данного дипептида были изучены учениками и последователями Гулевича (Северин С.Е., Болдырев А.А. и др.). Сейчас хорошо известно, что карнозин обладает множеством незаменимых свойств, благодаря которым он поддерживается в органах и тканях человека, особенно в возбудимых тканях (мышцы, мозг), в значительных концентрациях: в мышцах около 20 ммоль/л, в мозгу – около 5 ммоль/л, т.е. уровень карнозина существенно выше, чем содержание в тканях глюкозы. Это, безусловно, является большой загадкой.

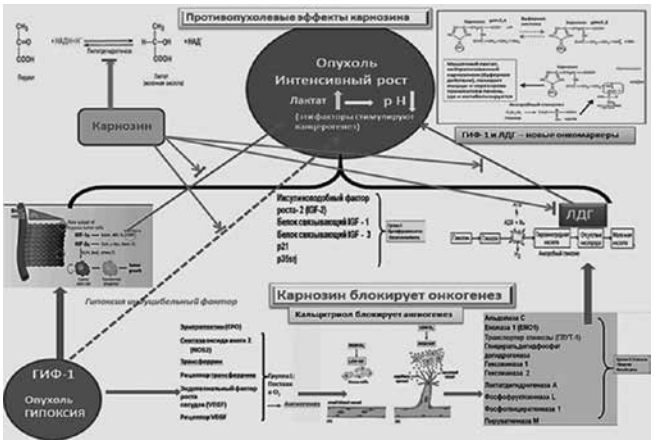

Рисунок 5 – Роль карнозина в торможении онкогенеза.

Карнозин блокирует многие онкогенные стимулы, но наиболее заметным является своевременное удаление молочной кислоты, благодаря чему не изменяется кислотность микроокружения онкоклеток, тормозится работа монокарбоксилат транспортеров и т.д. Итальянский онколог Туллио Симончини (Tullio Simoncini) показал, что кислая среда является благотворной для раковых клеток, а нейтральная среда губительна для них. По его мнению, рак – это грибковое заболевание, которое успешно лечится бикарбонатом натрия.

ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛ И ЕГО ПРОТИВОПУХОЛЕВЫЕ ЭФФЕКТЫ

Другим мощным противопухолевым веществом является витамин D_3. Витамин D_3 (холекальциферол) – производное холестерина. Он начинает синтезироваться в коже (7-дегидрохолестерин), но формируется полностью только под влиянием УФЛ. Попадая в кровь, D_3 прикрепляется к витамин D-связывающему белку (VDP), захватывается и гидроксилируется в 25- ом положении, превращаясь в 25(OH)$Д_3$ (альфакальцидиол). Это еще неактивное соединение, оно активируется значительно сильнее в почках и других типах клеток, в которых присоединяется ещё одна гидроксильная группа в 1 –ом положении, с получением 1,25(OH)2$Д_3$. Эту реакцию, протекающую в митохондриях, катализирует 1а-гидроксилаза. В результате получается полноценный гормон стероидной природы, но называемый секостероидом, так как у него разорвано В-кольцо. Называется такой гормон кальцитриол. Долгое время считалось, что кальцитриол вырабатывается только в почках, однако, сейчас у специалистов и экспертов по витамину D нет сомнения, что многие типы клеток обладают всем набором ферментов и механизмов для собственного производства кальцитриола в нужном количестве. По мере старения или отсутствие в нем необходимости, кальцитриол в самих же клетках инактивируется, превращаясь в кальцитроевую кислоту. По существу, когда говорят о том или ином действии витамина D, на самом деле имеются в виду эффекты гормона кальцитриола. Очень хорошо известно, как он запускает образование Са-переносящего белка в тонком кишечнике, в костной ткани стимулирует образование остеокальцина, необходимого для нормальной минерализации костей. По современным данным, кальцитриол контролирует более 200 генов, продукты которых регулируют пролиферацию (тормозят), дифференцировку и апоптоз. Исходя из сказанного, что для охвата своим влиянием всех подопечных генов требуется значительное количество молекул кальцитриола. Плачевным фактом является то, что абсолютное большинство человечества испытывает недопустимый дефицит витамина D (меньше 20нг/мл 25(OH)Д, т.е. многие кальцитриол-зависимые гены не работают. И это обстоятельство связано с бесконтрольной активацией пролиферации (онкогенез) и заглушенной дифференцировки клеток при их делении.

Витамин D (кальцитриол) регулирует до 3000 ге-

нов, которые влияют на рост и дифференциацию клеток и которые ведут таким путем к снижению степени регенерации опухоли (Holick, 2008). Кальцитриол индуцирует апоптоз раковых стволовых клеток, подавляет их пролиферацию. Чтобы эти функции витамина D действительно работали, уровень его в плазме крови должен достигать, по крайней мере, 100 нмоль/л, 40нг/мл (Binkley et al, 2008). По словам доктора Гарланд, "существует обратная зависимость доза-реакция между 25(OH) D и риском рака молочной железы, толстой кишки и рака яичников в сыворотке крови. До 50% случаев рака толстой кишки можно предотвратить путем пожизненного содержания сыворотки 25(OH) D уровень>35нг / мл (1500 МЕ / день), не допустить 50% заболеваемости раком молочной железы путем обеспечения >55нг / мл (3500 МЕ / день. До 80% витамина D3 синтезируются в неприкрытой и не защищённой кремом коже, а 20% поступает вместе с продуктами питания животного происхождения.

например, торможение пролиферации и стимулирование дифференцировки клеток и другие механизмы, указанные на отмеченной схеме. По мнению авторитетного эксперта по витамину D американского эндокринолога Майкла Холика (M.Holick), во многих странах мирах до 80% населения страдает от дефицита витамина D (уровень кальдиола ниже 30 нг/мл). А это приводит к многочисленным заболеваниям, как, например, к остеопорозу, сахарному диабету, разным формам опухолей, гипертензии, анемии и др.

В последние годы стали связывать антиопухолевую роль витамина D с блокированием ангиотропного действия фактора роста эндотелиальных клеток сосудов. Гормон кальцитриол, который образуется из витамина D, блокирует формирование новых сосудов в опухолевой ткани. Он также тормозит пролиферацию клеток, обеспечивает дифференцировку клеток. Если ингибировать ангиогенез в опу-

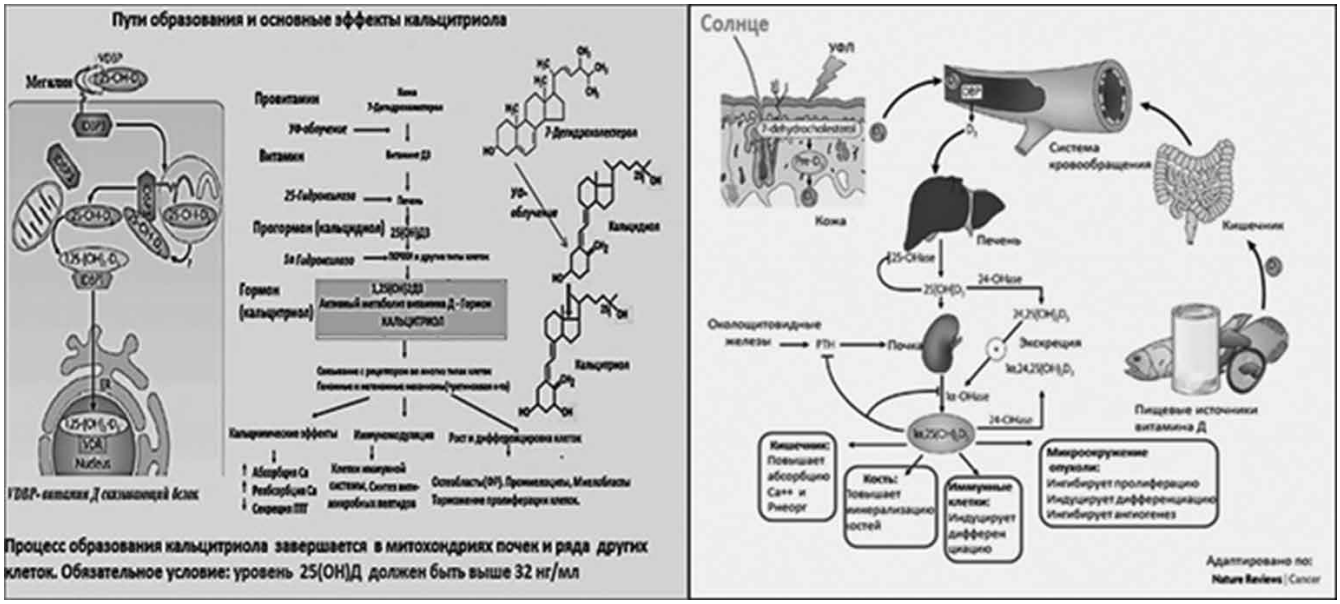

Рисунок 6 – Образование и основные эффекты кальцитриола

Важную роль в возможности формирования кальцитриола играет мегалин – рецептор 25(OH) D3, который представляет собой белок; у человека он кодируется геном LRP2. Он очень сходен с рецептором для липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), но может связывать несколько разных лигандов. Кальцитриол, как и другие стероидные гормоны, в цитоплазме клеток-мишеней образует активный комплекс кальцитриол-рецептор (VDR). Этот комплекс далее проникает в ядро, взаимодействует с другой парой ретиноевая кислота – рецептор (RXR). В большинстве случаев только такой тандем реагирует с соответствующим участком ДНК с последующей стимуляцией гена (генов) и синтеза и белка (специфических белков). Результатом описанной череды процессов могут быть активация или ингибирование большого числа фундаментальных механизмов,

холи, то обычно резко замедляется ее рост, и тогда с помощью других средств и методов можно легче бороться со злокачественной прогрессией опухоли.

Возникает законный вопрос, если витамин D обладает таким замечательным антиопухолевым свойством, то почему они практически не применяются в современной онкологии? Причин много. Одна из них – низкие неэффективные рекомендуемые официальной медициной дозы витаминов вообще. Они сформировались еще в середине прошлого века. Эти недостаточные суточные дозы витаминов не показали противоопухолевых характеристик ни в экспериментах на лабораторных животных, ни в клинических испытаниях. Антиопухолевые эффекты витамина D обнаруживаются лишь при использовании в несколько раз более высоких доз (до 4-5 тысяч МЕ). Исследование концентрации витамина

D производится методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Рисунок 7 – Ингибирование кальцитриолом ангиогенеза в опухолях.

В специальном исследовании было обнаружено, что смерть от рака снижается на 33% за каждые 12 нг / мл (30nmol / л) повышения 25 (OH) **D Большинство людей имеют недостаток витамина D и даже не знают об этом.**

АМИГДАЛИН ИЛИ ЛАЭТРИЛ – ПРОТИВОПУХОЛЕВЫЙ ВИТАМИН А17

Лаэтрил, или амигдалин, витамин В17, состоит из четырех компонентов, т.е. двух молекул обыкновенной глюкозы, остатков бензальдегида и синильной кислоты. В такой сборке это вещество не активно, не токсично. Оно становится токсичным под влиянием фермента бета- глюкозидазы, потому что раскрывается с высвобождением уже на самом деле токсичных бензальдегида и синильной кислоты, от которых опухолевые клетки умирают. В нормальных, неопухолевых клетках указанный фермент не действует, поэтому в них не высвобождаются ядовитые вещества бензальдегид и синильная кислота, т.е. амигдалин здоровым клеткам и тканям ничем не грозит. Если же бензальдегид из погибающих клеток поступает в нормальные клетки, он окисляется в бензойную кислоту, обладающую противовоспалительным и обезболивающим эффектами. А синильная кислота ферментом роданезой и HS- содержащими соединениями превращается в тиоционат, понижающий артериальное давление. Таким образом, снижение АД при приеме амигдалина может указывать на наличие его эффектов. Амигдалин оказался намного эффективнее в терапии разных форм рака.

Несмотря на такую понятную картину, ортодоксальная онкология к лаэтрилу относится не совсем доброжелательно.

Вместо заключения: в многострадальной онкологии, к радости и надежде онкобольных, намечается новый, более эффективный путь выхода из тупика.

Таблица 1

Стадии рака	Терапия витамином B_{17}	Ортодоксальная терапия
Поздние стадии	15%	0,001%
Ранние стадии	80%	15%
Отсутствие опухоли (профилактика рака)	100%	84%
По: www.videoscience.ru	В основе – терапия амигдалином	Разные типы опухолей

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Griffin Edward - World without cancer. Archer S, Bache-Wiig B: Lactic acidosis B associated with solid tumours. Minn Med 69: 511–514, 1986*
2. *Ausserer W. A., Bourrat&Floeck B., Green C. J., Laderoute K. R., Sut& herland R. M. Regulation of c-jun expression during hypoxic and low-glucose stress // Mol Cell Biol. — 1994. — V.14 (8). — P. 5032–5042.*
3. *Brahimi H. C, Berra E, Pouyssegur J. Hypoxia: the tumor's gateway to progression along the angiogenic p1.*
4. *Brivet F, Fouqueray B, Rain B, Benatter C: Lactic acidosis in breast cancer. Intensive Care Med 10: 110–111, 1 athway// Trends Cell Biol. — 2001 — V. 11. — P. 32–36.*
5. *Bruick, R. K. and McKnight, S. L. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF // Science*
6. *Bromley, Jonathan; Brett GM Hughes, David CS Leong, Nicholas A Buckley (2005). «Life-Threatening Interaction Between Complementary Medicines: Cyanide Toxicity Following Ingestion of Amygdalin and Vitamin C». The Annals of Pharmacotherapy 39(9): 1566 -1569. DOI:10.1345/aph.1E634*
7. *Bunn PA, Ridgway EC: Paraneoplastic syndromes. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds) Cancer: Principles and Practice of Oncology. JB Lippincott, Philadelphia, 1989, p1931 2001. — V. 294 — P. 1337–1340.*

8. Caspar CB, Oelz O: Lactic acidosis in malignant lymphoma. Am J Med 91: 197–198, 1991.
9. Sculier JP, Nicaise C, Klastersky J: Lactic acidosis: a metabolic complication of extensive metastatic cancer. Eur J Cancer Clin Oncol 19: 597–601, 1983
10. Chavez J. C., Agani F., Pichiule P. and LaManna J. C. 2000 Expression of hypoxia-inducible factor-1 in the brain of rats during chronic hypoxia // J. Appl. Physiol. — 2000. — V.89. — P. 1937–1942
11. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. Nat Rev Cancer2007; 7: 684-700
12. Folsom AR. Relation of calcium, vitamin D, and dairy food intake to incidence of colon cancer among older women. The Iowa Women's Health Study. Am J Epidemiol 1993; 137: 1302-1317
13. Garland CF, Garland FC, Gorham ED, et al. The role of vitamin D in cancer prevention. Am J Public Health 2006; 96: 252-61.
14. Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB, et al. Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. J Natl Cancer Inst 2006; 98: 451-459.
15. Giovannucci E, Liu Y, Stampfer MJ, Willett WC. A prospective study of calcium intake and incident nd fatal prostate cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006; 15: 203-10.
16. Giovannucci E. Vitamin D and cancer incidence in the Harvard cohorts. Ann Epidemiol 2009; 19: 84-88
17. Grant WB. An ecologic study of dietary and solar ultraviolet-B links to breast carcinoma mortality rates. Cancer. 2002; 94(1): 272–281.
18. Kim J, Teheryshyoy I., Semenza Gl., Dang C.V. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia - Cell metabolism, 2006 – Elsevier
19. Kilkkinen A, Knekt P, Heliovaara M, et al. Vitamin D status and the risk of lung cancer: a cohort study in Finland. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008; 17: 3274-8.
20. Lefkowitz ES, Garland CF. Sunlight, vitamin D, and ovarian cancer mortality rates in US women. Int J Epidemiol. 1994; 23(6):1133–1136
21. Ng K, Meyerhardt JA, Wu K, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin d levels and survival in patients with colorectal cancer. J Clin Oncol 2008; 26: 2984-91.
22. Nightingale SL (1984). «Laetrile: the regulatory challenge of an unproven remedy». Public Health Rep 99 (4): 333–8.
23. White JH. Vitamin D metabolism and signaling in the immune system. Rev Endocr Metab Disord. 2011 Aug. 16 11
24. Shim, Soon-Mi; Hoonjeong Kwon (2010-12). «Metabolites of amygdalin under simulated human digestive fluids». International Journal of Food Sciences and Nutrition 61 (8): 770-779.
25. Simoncini T. Cancer is a Fungus: A Revolution in Tumor Therapy Perfect Paperback – September 1, 2007 26. Sutton AL, MacDonald PN. Vitamin D: more than a "bone-a-fide" hormone. Mol Endocrinol 2003; 17: 777-91.

SUMMARY

N.R. Ablaev

NEW INFORMATION ON MECHANISMS OF CARCINOGENESIS AND ONCOTHERAPY

KazNMU them. S.D. Asfendiyarov
Kazakhstan, Almaty

In the authors' work, data are analyzed that the paradigm in oncology is slowly but surely changing. In particular, it is argued that the leading role in cancer development is played by cancer stem cells, which originate not from differentiated cells, but from normal stem cells. In such a degeneration, hypoxia, inducible factors that stimulate proliferation processes are important. According to the authors, based on numerous scientific facts, natural compounds, such as dipeptide carnosine, as well as vitamins D and B_{17}, are indispensable for countering the formation of tumors in the human body, unfortunately, they are extremely inadequate in modern medicine.

Key words: *cancer stem cells, hypoxia inducible factor (GIF-1), D_3, laetril.*

ТҮЙІНДЕМЕ

Н.Р. Аблаев

КАНЦЕРОГЕНЕЗ МЕХАНИЗМДЕРІ ЖӘНЕ ОНКОТЕРАПИЯ ТУРАЛЫ ЖАҢА МӘЛІМЕТТЕР

ҚазҰМУ
Қазақстан, Алматы

Авторлардың жұмысында онкологиядағы парадигма баяу болса да, толық өзгеруде екендігі туралы деректер талданады. Жекелеп айтқанда, обыр ауруының дамуында дифференцияланған жасушалардан емес, қалыпты бағаналық жасушалардан бастау алатын обыр бағаналық жасушалары жетекші рөл атқаратыны мәлімденеді. Осындай азғындауда пролиферация үрдістерін ынталандыратын гипоксия-индуцибельдік факторлар маңызды болады. Авторлардың көптеген ғылыми фактілерге негізделген пікірінше, адам ағзасында ісіктердің қалыптасуына ауыстырғысыз қарсылықты табиғи қосылыстар, мысалы карнозин дипептиді, сонымен қатар заманауи медицинада жеткіліксіз қолданылатын D и B_{17} дәрумендері көрсетеді.

Түйін сөздер: *обыр бағаналық жасушалары, гипоксия-индуцибельдік фактор (ГИФ -1), D_3, лаэтрил.*

Верное направление.

MedExpert

МедЭксперт предлагает своим клиентам широкий спектр услуг в области лицензирования медицинской и фармацевтической деятельности, регистрации и сертификации лекарственных средств, медицинской техники и изделий медицинского назначения, переводов специализированных фармацевтических и медицинских текстов, их нотариального заверения и апостилирования, регистрации торговых знаков и знаков обслуживания, получения разрешенияна ввоз и таможенной очистки медицинской и фармацевтической продукции.

Команда наших специалистов уже 13 лет обеспечивает вас стабильной поддержкой для уверенного и успешного роста в бурно развивающемся медицинском рынке Казахстана и Центральной Азии.

Казахстан | Россия | Киргизия | Узбекистан | Таджикистан
Туркменистан | Армения | Азербайджан | Грузия
Украина | Беларусь | UAE

ТОО «МедЭксперт»
Республика Казахстан, 050012
г. Алматы, ул. Байтурсынова, 79
Тел: +7 (727) 250 00 11
Моб: +7 (776) 250 00 11
info@medexpert.kz
www.medexpert.kz

www.medexpert.kz

CERT NO.: 12 100 52746 TMS
ISO 9001:2015

©2017 ТОО «МедЭксперт Казахстан», ТОО «МедЭксперт», ТОО «МедТранслейт», ТОО «МедМедиа Казахстан» и ТОО «МедЛоджистикс». Все права защищены.

4 (17) 2018

ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА

корешок