

**КЛЕТОЧНЫЕ ПАТОЛОГИИ,
СВЯЗАННЫЕ С АКТИВНОСТЬЮ
ШАПЕРОНОВ
ВО ВНЕЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ
КОМПАРТМЕНТАХ**

**Смирнова М.С., Осипенкова О.В.,
Шибяева А.В., Белякова А.В.,
Кузнецова Т.В., Казеева Т.Н.,
Вагин К.Н., Волкова Т.О.,
Гилязова З.Р., Белоусова Ж.В.,
Валиуллин Л.Ф., Валеева А.Р.,
Сафина Р.А., Гусева М.А.,
Елагина Е.М.**

*Институт полиомиелита и вирусных
энцефалитов им. М.П. Чумакова
РАМН, Москва, Россия
Курский государственный
университет, Курск, Россия
Московская государственная
академия ветеринарной медицины и
биотехнологии им. К.И. Скрябина,
Москва, Россия
ФГУ «Федеральный центр
токсикологической и радиационной
безопасности животных»,
Казань, Татарстан, Россия
Набережночелнинский
государственный педагогический
институт, Набережные Челны,
Татарстан, Россия
Смоленский государственный
университет, Смоленск, Россия*

Особое значение в современной медицине имеет изучение патологии на уровне клеток. При различных видах патологий (аутоиммунные и инфекционные заболевания, ишемическая болезнь сердца, интоксикации и др.) разнообразные сигнальные каскады могут индуцировать активацию свободнорадикального окисления в биологических мембранах, цитоплазматических и внецитоплазматических компартментах клетки. В зависимости от разнообразных причин активация свободных радикалов может вызывать как позитивный, так и негативный результат течения болезни. В промежутке между повреждением клеток и развитием патологии развивается стрессовая дезадаптация как универсальный механизм формирования специфической защитной реакции организма.

Абиогические стрессы, такие как чрезмерно интенсивный свет, резкое изменение рН, дефицит воды, засоление, экстремальные температуры являются неизменными спутниками роста и развития клеток любого организма. В ответ на стресс возникают различные ответные реакции,

одним наиболее типичных среди которых является индукция синтеза белков-шаперонов. Эти белки связываются с денатурированными и агрегированными полипептидами, вызывая их ускоренную деградацию, или же помогая им вернуться в нативную конформацию. Однако, существуют и другие классы белков, участвующих в реабилитации поврежденной клетки. Роль нешаперонных белков-«спасателей» показана во многих экспериментах, в частности факторов запуска и защиты от окислительного стресса.

Вопрос о соотношении роли шаперонового и нешаперонового ответа на стрессы и судьбы этого соотношения для индивидуальной клетки до настоящего времени остается невыясненным. Кроме того, в ряде работ показано, что многие защитные белки локализованы в клетке в виде фокусов, ассоциированных с различными компартментами. Таким образом, можно подозревать существование нескольких субпопуляций одного и того же защитного фактора в пределах одной клетки. Эти субпопуляции могут иметь различное назначение, что существенно осложняет вопрос об их взаимодействии с другими клеточными механизмами.

В настоящее время основным объектом для изучения адаптации к стрессам остаются клетки животных, что обусловлено важным медицинским значением этой проблемы (прежде всего, актуальностью борьбы с последствиями ишемической болезни сердца). Однако, интенсивность стрессовых воздействий среды на другие организмы даже неизмеримо выше, чем на клетки человека и высших позвоночных, в норме находящихся в организме в условиях гомеостаза и, соответственно, степень их адаптивности к таким воздействиям пропорционально увеличена. Кроме того, с использованием широкого спектра модельных организмов, находящихся на разных ступенях эволюции, таких как (свободно живущие микроорганизмы и растения) выявление молекулярных основ патологии клеток зачастую приобретает более распространенный характер. Так, полностью секвенированные геномы модельных объектов этих видов организмов позволяют проводить уникальные исследования стрессовых адаптаций клеток во внецитоплазматических компартментах *in vitro* и *in vivo*, что может быть использовано для разработки новых методов защиты клеток животных и человека от патологий.

Главное направление исследования было основано на оптимизации интегративной системы анализа белков и экспрессии генов белков стресса с помощью ПЦР в реальном времени и создании на основе маркеров трансформационных форм со свойствами повышенной устойчивости к изменению состояния окружающей среды. Исследование проводили на нескольких так-

сономически неродственных друг другу объектах, поскольку явление стресса, требуя стремительной реакции со стороны организма, запускает в организме ряд быстрых и, нередко, разнонаправленных процессов. На первом этапе реализации проекта были разработаны лабораторные модели абиотического стресса, выполненные впервые на клетках дикого типа и мутантов ячменя и *Arabidopsis thaliana* L. (высшие растения) и *Yarrowia lipolytica* (диморфные экстремофильные дрожжи). Так, в результате сопоставления результатов оценки уровня синтеза массовых стрессовых белков в растении дикого типа и мутантах в условиях светового стресса при воздействии гербицида и без него удалось построить модель передачи сигнала, запускающего синтез массовых защитных белков стресса. На втором этапе, были разработаны методы неспецифической визуализации ответа на стресс в растительных и дрожжевых клетках на основе анализа протеома методом двумерного электрофореза и идентификации стресс-индуцируемых белков современным методом анализа протеома высокого разрешения — MALDI-TOF. На третьем этапе проекта были разработаны методы специфической визуализации ответа на стресс в клетках с стресс-патологиями с помощью ВЭЖХ. На четвертом этапе, количественная характеристика стрессового ответа у растений и дрожжей на уровне белков стресса позволила изучить механизм регуляции экспрессии генов стрессовых белков сигнальными системами клетки при различных абиотических стрессах и создать новые методы защиты клеток от стрессовых патологий в условиях образования токсичных радикалов на биотехнологическом уровне. На пятом этапе проекта, получение ДНК-конструкций, содержащих гены стресс-индуцибельных белков растений и грибов, является непосредственной предпосылкой к биотехнологическому получению устойчивых к патологиям клеток.

Резюмируя вышеизложенное, следует заключить, что настоящее исследование способствовало изучению клеточных патологий, связанных с активностью шаперонов в внецитоплазматических компартментах. Полученные данные расширяют и углубляют представления о механизмах устойчивости клеток к абиотиче-

ским стрессам, способствуя созданию резистентных форм к неблагоприятным факторам окружающей среды генотипов и генетической элиты популяции клеток. Независимо от специфики воздействия иницирующих факторов стресса в динамике развития патологии могут присоединяться неспецифические механизмы. Таким образом, становится очевидным, что окислительный стресс является типовым процессом дезинтеграции клеток при различных формах патологии. Учитывая высокую чувствительность к стрессам клеток большинства существующих организмов, возникает необходимость создания адаптогенов для их защиты в экстремальных условиях. Результаты нашей работы позволяют найти подходы к решению этой проблемы.

Настоящая работа выполнена при поддержке Государственных контрактов № 14.740.11.0184, №П807, №П1253, №П1263, № 16.740.11.0027, №14.740.11.0123, № 14.740.11.0122; проектов в рамках мероприятия 1.2.2 шифры заявок (2010-1.2.2-203-002-038, 2010-1.2.2-207-003-082, 2010-1.2.2-141-022-040, 2010-1.2.2-141-022-018); мероприятия 1.3.1 шифры заявок (2010-1.3.1-207-003-043, 2010-1.3.1-203-002-017, 2010-1.3.1-203-002-018, 2010-1.3.1-220-006-021; 2010-1.3.1-141-022-028); проектов № 2.1.1/2468, № 2.1.1/4510, № 2.1.1/2516 ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Смолянинова С.В., Малолетков В.А.

*Волгоградский государственный
технический университет
Волгоград, Россия*

На основе опыта приема пациентов была создана база данных и проведен ее анализ. База данных создавалась на основе записей из журналов приема больных гинекологической клиники.

Вид базы данных представлен в таблице 1.

Таблица 1

Заголовок таблицы базы данных

Название поля	Формат значения	Возможные значения
1	2	3
Номер по списку	Целое число	1, 2, 3, ...
Дата посещения	Дата	Случайно