

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(16)

2016 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 30.09.16.
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 200 экз.
Усл. печ. л. 17,25. Уч.-изд. л. 8,7.
Зак. 1408.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и экологии
человека»
ЛИ № 02330/619 от 3.01.2007 г.
Продлена до 03.01.2017

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веялкин (к.б.н.), В.В. Евсеенко (к.пс.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н.), А.Н. Лызикив (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Э.А. Надзыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н.)

Редакционный совет

В.И. Жарко (министр здравоохранения Республика Беларусь, Минск), А.В. Аклаев (д.м.н., профессор, Челябинск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), Ю.Е. Демидчик (д.м.н., член-корреспондент НАН РБ, Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Минск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Ф.И. Тодуа (д.м.н., академик НАН Грузии, Тбилиси), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции

246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2016

№ 2(16)

2016

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи

- О.А. Сердюкова, М.Г. Шитикова, О.В. Пархоменко, Е.В. Бредихина**
Современные аспекты патогенеза и клиники атопического дерматита 5
- Е.Н. Сницаренко, С.М. Яковец**
Клинические аспекты гипергомоцистеинемии 12
- Ю.И. Ярец**
Острый и хронический раневой процесс: патогенетические особенности 21

Медико-биологические проблемы

- Л.И. Ляско, Е.В. Воронцова, Ю.З. Артамонова**
Методы коррекции симптомов психической дезадаптации у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС в отдаленный период 35
- В.Н. Мартинков, Э.А. Надыров, А.Е. Силин**
Клинико-морфологические особенности рака молочной железы у пациенток с герминальными мутациями BRCA1, BRCA2 и CHEK2 40
- А.С. Портянко, К.Г. Рукша, П.А. Перевощиков, С.Н. Русак М.Ю. Малько, Ю.В. Горгун**
Экспрессия различных посттрансляционных модификаций С-концевой последовательности α -тубулина при хронических воспалительных заболеваниях кишечника 48
- А.Е. Силин, Д.К. Новик, В.Н. Мартинков, И.Б. Тропашко, А.А. Силина, С.М. Мартыненко, А.В. Воропаева**
Распространенность соматических мутаций генов JAK2 и CALR в группе пациентов с хроническими миелопролиферативными заболеваниями 56
- А.А. Чешик, И.В. Вейалкин, А.В. Рожко**
Заболеваемость лейкозами в Республике Беларусь 62

Клиническая медицина

- Л.С. Ковальчук, Л.П. Ковальчук**
Медицинский озон в восстановительном лечении пациентов с ишемической болезнью сердца 70

Reviews and problem articles

- O.A. Serdyukova, M.G. Shitikova, O.V. Parkhomenko, E.V. Bredikhina**
Modern aspects of the pathogenesis and clinics of atopic dermatitis
- E.N. Snitsarenko, S.M. Yakovets**
The clinical aspects of hyperhomocysteinemia
- Y. Yarets**
Acute and chronic wound healing: the peculiarities of pathogenesis

Medical-biological problems

- L. Lyasko, E. Vorontsova, Y. Artamonova**
Correction methods of mental dysadaptation symptoms within liquidators of Chernobyl accident in a long-term period
- V.N. Martinkov, E.A. Nadyrov, A.E. Silin**
Clinico-morphological features of breast cancer in patients with germline BRCA1, BRCA2 and CHEK2 mutations
- A. Portyanko, K. Ruksha, P. Peravoshchykay, S. Rusak, M. Malko, J. Gorgun**
Expression of different posttranslational modifications of the C-terminal sequence of α -tubulin in patients with inflammatory bowel diseases
- A. Silin, D. Novik, V. Martinkov, I. Tropashko, A. Silina, S. Martynenko, A. Voropaeva**
The prevalence of JAK2 and CALR somatic gene mutations within the group of patients with chronic myeloproliferative diseases
- A.A. Cheshik, I.V. Veyalkin, A.V. Razhko**
Leukemia incidence rates in the Republic of Belarus

Clinical medicine

- L.S. Kovalchuk, L.P. Kovalchuk**
Medical ozone in the rehabilitative treatment of patients with coronary heart disease

- О.В. Мурашко, О.К. Доронина, Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко**
Анализ показателей цитокинов при лечении кистозных доброкачественных опухолей яичников 78
- Н.А. Некрасова, Е.Л. Товажнянская, Г.В. Галиновская, А.Н. Цуканов**
Некоторые аспекты эндотелиальной дисфункции у пациентов молодого возраста со спондилогенной вертебрально-базиллярной недостаточностью 85
- Г.Д. Панасюк, М.Л. Лушик**
Узловая патология у детей Гомельской области по данным скрининга 91
- Н.П. Паштаев, Н.А. Поздеева, М.В. Синицын**
Трехлетний анализ клинико-функциональных результатов имплантаций интрастромальных колец MyoRing с применением фемтосекундного лазера у пациентов с кератоконусом 96
- И.Г. Савастеева, Ю.И. Ярец, В.Д. Селькина, М.Г. Русаленко**
Неалкогольная жировая болезнь печени и поджелудочной железы как дополнительные ранние маркеры развития метаболического синдрома 101
- А.В. Селицкий, О.П. Кезля, Д.И. Карпович, Н.Л. Курьян**
Современные возможности и перспективы диагностики сосудистых нарушений при сложных сегментарных и многооскольчатых диафизарных переломах большеберцовой кости 109

Обмен опытом

- О.В. Готько, Л.А. Державец**
Новые возможности лабораторной оценки риска прогрессирования опухолевого процесса при раке яичников 116
- Л.А. Квиткевич, М.А. Назарова, А.Н. Стожаров, А.Р. Аветисов**
Итоги работы и перспективы развития кафедры радиационной медицины и экологии. К 30-летию катастрофы на Чернобыльской АЭС 124

O.V. Murashko, O.K. Doronina, Y.I. Yarets, N.I. Shevchenko

The analysis of cytokine indices in the treatment of benign cystic ovarian tumors

N. Nekrasova, E. Tovazhnyanskaya, G. Galinovskaya, A. Tsukanov

Some aspects of endothelial dysfunction within the patients of young age with spondylogenic vertebrobasilar insufficiency

G.D. Panasyuk, M.L. Luschik

Nodular goiter in children Gomel region according to screening

N.P. Pashtayev, N.A. Pozdeyeva, M.V. Sinitsyn

The three-year analysis of clinical and functional results of intrastromal MyoRing implantation using femtosecond laser in patients with keratoconus

I.G. Savasteeva, Y.I. Yarets, V.D. Selkina, M.G. Rusalenko

Nonalcoholic fatty liver and pancreas disease as additional early markers of the development of the metabolic syndrome

A.V. Sialitski, O.P. Kezlja, D.I. Karpovich, N.L. Kuryan

Modern opportunities and prospects of diagnosis of vascular disorders of complex segmentary and irregular fractures of tibial bone

Experience exchange

O.V. Gotko, L.A. Derzhavets

New features of laboratory assessment of the risk of tumor progression in ovarian cancer

L.A. Kvitkevich, M.A. Nazarova, A.N. Stozharov, A.R. Avetisov

Work results and development prospects of the department of radiation medicine and ecology. On the 30th anniversary of the Chernobyl disaster

ЭКСПРЕССИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ С-КОНЦЕВОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ А-ТУБУЛИНА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА

¹ УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

² ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

Целью настоящего исследования явилось определение спектра изменений экспрессии тирозинированного (Тир-), детирозинированного (Глу-) и деглутаминированного (δ^2 -) тубулинов при хронических воспалительных заболеваниях кишечника (ХВЗК) и оценка их связи с морфологическими характеристиками слизистой оболочки толстой кишки. Исследование проведено на биопсийном материале 39 пациентов с ХВЗК, а также 23 пациентов из группы сравнения. Экспрессия исследуемых посттрансляционных модификаций α -тубулина оценивалась на срезах, окрашенных методами иммуногистохимии, а также двойной иммунофлуоресценции. Установлено, что болезнь Крона (БК) характеризуется повышением содержания Тир-тубулина преимущественно в эпителии крипт и строме, в то время как экспрессия Глу-тубулина достоверно не изменяется как при БК, так и при язвенном колите. Экспрессия δ^2 -тубулина в колоноцитах при ХВЗК не отличается от контрольной группы. Наибольшее влияние на экспрессию Тир-тубулина эпителиальным компонентом при ХВЗК оказывает наличие БК и гендерная принадлежность пациента, на экспрессию Глу-тубулина – снижение количества бокаловидных клеток.

Ключевые слова: микротрубочки, тубулин, цитоскелет, язвенный колит, болезнь Крона

Введение

На сегодняшний день основным направлением исследований по разработке новых лекарственных препаратов является выявление ключевых молекул патогенетического каскада и использование их в качестве мишеней для медикаментозного воздействия. На данный момент большую часть уже используемых в фармацевтической промышленности молекул составляют рецепторы, ферменты и гормоны [1]. Установление новых закономерностей изменений молекулярного состава клеток при патологических процессах, включая хроническое воспаление, представляется перспективным для расширения спектра молекул-мишеней и терапевтических возможностей.

Язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК) представляют собой классические хронические воспалительные заболевания

толстой кишки (ХВЗК). С морфологической точки зрения при них наблюдаются как альтеративные, так и репаративные изменения эпителия, что делает эти заболевания удобной моделью для изучения спектра молекулярных изменений в клетках эпителия при хроническом воспалении.

Основным компонентом цитоскелета клетки являются микротрубочки – цилиндрические органеллы, состоящие из 13 протофиламентов из гетеродимеров α - и β -тубулина. В свою очередь, α - и β -субъединицы могут подвергаться посттрансляционным модификациям, таким как тирозинирование, ацетилирование, полиглутаминирование, детирозинирование, фосфорилирование и др. Предположительно, такое разнообразие посттрансляционных модификаций связано с их влиянием на динамические и функ-

циональные свойства микротрубочек [2], обеспечивающих такие жизненно важные функции клетки, как внутриклеточный транспорт в интерфазу, формирование веретена деления и движение.

Гены практически всех α -тубулинов позвоночных, кроме α_{IV} изоформа, кодируют на С-конце молекулы тирозин (Тир-тубулин), который в цикле тирозинирования-детирозинирования может быть удален тубулин-карбоксипептидазой с образованием детирозинированного (Глу-) тубулина, содержащего глутамин в качестве С-концевой аминокислоты, а затем присоединен обратно тубулин-тирозин лигазой (ТТЛ) [3]. В свою очередь, Глу-тубулин в последующем может подвергаться деглутаминированию с образованием δ^2 -тубулина, реглутаминирование которого невозможно. Такая последовательность аминокислот обуславливает преимущественное соединение положительно заряженных концов микротрубочек с рядом белков, регулирующих функции микротрубочек. В частности, адаптерный белок CLIP-170, играющий ключевую роль в организации актиновых микрофиламентов, опосредованной ГТФазами Rac1 и Cdc42, значительно эффективнее присоединяется к Тир-тубулину, чем к Глу- [4]. С другой стороны, моторный белок Kinesin-1, обеспечивающий транспорт от минус-к плюсу-концу микротрубочки (как правило от центра клетки на периферию) связывается преимущественно с Глу-тубулином.

По современным научным представлениям Тир-тубулин преимущественно формирует лабильные микротрубочки (интерфазная сеть, метафазное веретено) [5], в то время как Глу-тубулин – стабильные (аксономы жгутиков и ресничек, центриоли, микротрубочки перинуклеарной зоны) [6]. В литературе есть единичные данные в пользу влияния этих посттрансляционных модификаций на агрессивность опухолей и их чувствительность к химиотерапии, однако каких-либо исследований данных молекул при хроническом воспалении воспалении не проводилось.

Таким образом, целью нашего исследования явилось установление спектра изменений экспрессии Тир-, Глу- и δ^2 -тубулинов при ХВЗК и оценка их связи с морфологическими изменениями слизистой оболочки толстой кишки.

Материал и методы исследования

Исследование экспрессии Тир-, Глу- и δ^2 -тубулинов в слизистой оболочке толстой кишки при ХВЗК было проведено на биопсийном материале из 76 сегментов толстой кишки от 39 пациентов с ХВЗК, из них 27 с диагнозом язвенный колит (14 мужчин и 13 женщин, средний возраст $35,4 \pm 5,3$ года) и 12 пациентов с болезнью Крона (8 мужчин и 4 женщины, средний возраст $42,7 \pm 11,0$ года). В качестве группы сравнения использовались биопсийные фрагменты слизистой оболочки толстой кишки 23 пациентов (9 мужчин и 14 женщин, средний возраст $49,7 \pm 6,6$ года) с исключенными ХВЗК и другими морфологическими изменениями слизистой оболочки толстой и терминального отдела подвздошной кишки, которым колоноскопия с биопсией проводилась в рамках диагностического алгоритма. Показаниями к проведению колоноскопии послужили следующие симптомы: хроническая диарея – 7 случаев, абдоминальная боль – 9 случаев, анемия – 5 случаев, хронический запор – 1 случай, лихорадка – 1 случай. В результате диагностического обследования были установлены диагнозы: функциональные заболевания кишечника – в 19 случаях, B_{12} -дефицитная анемия – в 2 случаях, целиакия – в 1 случае, другие, не связанные с кишечником, заболевания – 1 случай.

Биопсийный материал забирался в соответствии со стандартными диагностическими требованиями – не менее 2 фрагментов из каждого сегмента толстой кишки. Фрагменты ткани фиксировались в 10 % нейтральном забуференном формалине в течение 48 ч, после чего проводились по батаре спиртов восходящей концентрации и заключались в парафин. В исследование были включены биоптаты из двух наиболее изме-

ненных участков кишечника, мелкие малоинформативные биоптаты исключались.

Иммунофлуоресценция. Гистологические срезы окрашивались с применением метода двойной иммунофлуоресценции с антителами к цитокератину и Тир- или Глу- тубулину в соответствии с описанным ранее протоколом [7]. В качестве первичных использовались моноклональные мышинные антитела к Тир-тубулину (TUB-1A2, изотип IgG₃, разведение 1:800, Sigma-Aldrich, США) и к цитокератину (клон AE1/3, изотип IgG₁, разведение 1:400, DAKO, Дания) и поликлональные кроличьи антитела к Глу-тубулину (разведение 1:200, Merck Millipore, Германия). Для визуализации применялись вторичные гусиные антитела, конъюгированные с флуорохромом AlexaFluor® 488 и 555 (Molecular Probes, Invitrogen, США) в разведении 1:200.

Иммуногистохимия. Гистологические срезы для оценки экспрессии δ²- тубулина окрашивались иммуногистохимически с применением поликлональных кроличьих антител к δ²-тубулину (разведение 1:2000, Merck Millipore, Германия). ИГХ окрашивание в каждом срезе оценивалось как положительное или отрицательное в зависимости от наличия экспрессии δ²-тубулина.

Морфометрия. Съемка микрофотографий слизистой оболочки толстой кишки пациентов с ХВЗК и группы сравнения для морфометрического анализа проводилась аналогично описанному методу [7]. Для детекции флуоресценции DAPI (ядра) применялся куб флуоресцентных фильтров Leica A4, AlexaFluor® 488 (Тир- или Глу-тубулин) – L5, AlexaFluor® 555 (цитокератин) – Y3. Для исключения систематической ошибки выбора, связанной с влиянием видимой позитивной искомой реакции на решение исследователя, выбор поля зрения для съемки производился по каналу Y3 (цитокератин). Для обработки изображений использовался программный пакет eCognition Developer (Trimble, Германия).

Средняя интенсивность свечения региона ($I_{пер}$) определялась как отношение суммарной интенсивности пикселей реги-

она к его площади. Также измерялась интенсивность свечения нервных стволиков, служивших внутренним позитивным контролем ($I_{к+}$) и свечение эпителия и стромы в отрицательном контрольном препарате ($I_{эп.к-}$ и $I_{стр.к-}$ соответственно).

Нормализованный уровень экспрессии (НУЭ) вычислялся по формуле:

$$НУЭ = \frac{I_{рег} - I_{эп.к-}}{I_{к+} - I_{стр.к-}} \times 100$$

Статистический анализ производился с использованием пакета RStudio, v.0.98.1103 (RStudio, Inc., США). Сравнение групп выполняли при помощи двустороннего теста Манна-Уитни с поправкой Бонферрони ($p_{му}$). Определение связи между параметрами проводилось методом многофакторного линейного регрессионного анализа. Выявление достоверных различий между группами с разной частотой экспрессии δ²-тубулина осуществляли при помощи вычисления χ^2 Пирсона (p_{χ^2}). Нулевую гипотезу о равенстве выборок отвергали при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Экспрессия Тир-тубулина присутствовала во всех случаях, при этом в цитоплазме эпителиальных клеток отчетливо выявлялись микротрубочки в виде нитевидных структур, а также положительно окрашивались митотические веретена. В нормальной слизистой оболочке максимальная интенсивность свечения и, соответственно, наибольший нормализованный уровень Тир-тубулина наблюдался в эпителии крипт, а в строме – достоверно более низкий ($p_{му} = 0,003$). По содержанию этого белка поверхностный эпителий занимал промежуточное положение, но значимо не отличался от эпителия крипт ($p_{му} = 0,190$) и стромального компонента ($p_{му} = 1,0$). В биоптатах толстой кишки пациентов с БК наблюдалась достоверно более высокая экспрессия Тир-тубулина в эпителии крипт ($p = 0,008$) и в стромальном компартменте ($p = 0,001$), чем у пациентов группы сравнения (рисунки 1, 2).

Проведение многофакторного линейного регрессионного анализа выявило положительную ассоциацию наличия БК с экспрессией Тир-тубулина в эпителии крипт ($p = 0,006$), поверхностном эпителии ($p = 0,046$) и строме ($p = 0,013$), а также негативную ассоциацию НУЭ данного тубулина в эпителии крипт с мужским полом ($p = 0,013$).

Экспрессия Глу-тубулина была обнаружена во всех случаях, при этом в колоноцистах визуализировались нитевидные микротрубочки. В нормальной слизистой оболочке минимальная интенсивность свечения и, соответственно, наименьший нормализованный уровень Глу-тубулина наблюдался в поверхностном эпителии ($p_{\text{mu}} = 0,004$). Содержание в строме и криптах достоверно не различалась ($p_{\text{mu}} = 1,0$). В биоптатах толстой кишки пациентов с ХВЗК и группы сравнения не наблюдалось достоверных различий экспрессии данной посттрансляционной модификации (рисунки 3, 4).

Методом многофакторного линейного регрессионного анализа было выявлено отрицательное влияние снижения содержания муцина на экспрессию Глу-тубулина во всех компартаментах: эпителии крипт ($p = 0,003$), поверхностном эпителии ($p = 0,001$), эпителии стромы ($p = 0,020$).

В группе ХВЗК экспрессия δ^2 -тубулина присутствовала в 14/40 (35,0%), а в группе сравнения – в 5/23 (21,7%) случаях ($p_{\chi^2} > 0,05$). Также не было обнаружено какой-либо связи между наличием данного белка и ХВЗК-ассоциированными гистологическими изменениями.

Обсуждение

В настоящий момент в мире проведены единичные исследования, посвященные молекулярным изменениям цитоскелета при хроническом воспалении. Ранее нами было показано, что в эпителиальных клетках воспаленной слизистой оболочки толстой кишки наблюдается снижение содержания ацетилированного α -тубулина и эти изменения ассоциировались с морфологическими проявлениями активности процесса и дисрегуляторными изменениями [8].

Ряд особенностей экспрессии Тир- и Глу-тубулинов выявлен в экспериментах на клеточных культурах. Было установлено, что в процессе поляризации и формирования монослоя клеток увеличивается содержание Глу-тубулина, а в уже сформированном монослое содержание данной модификации тубулина падает [9]. Более того, искусственная индукция ТТЛ и, как

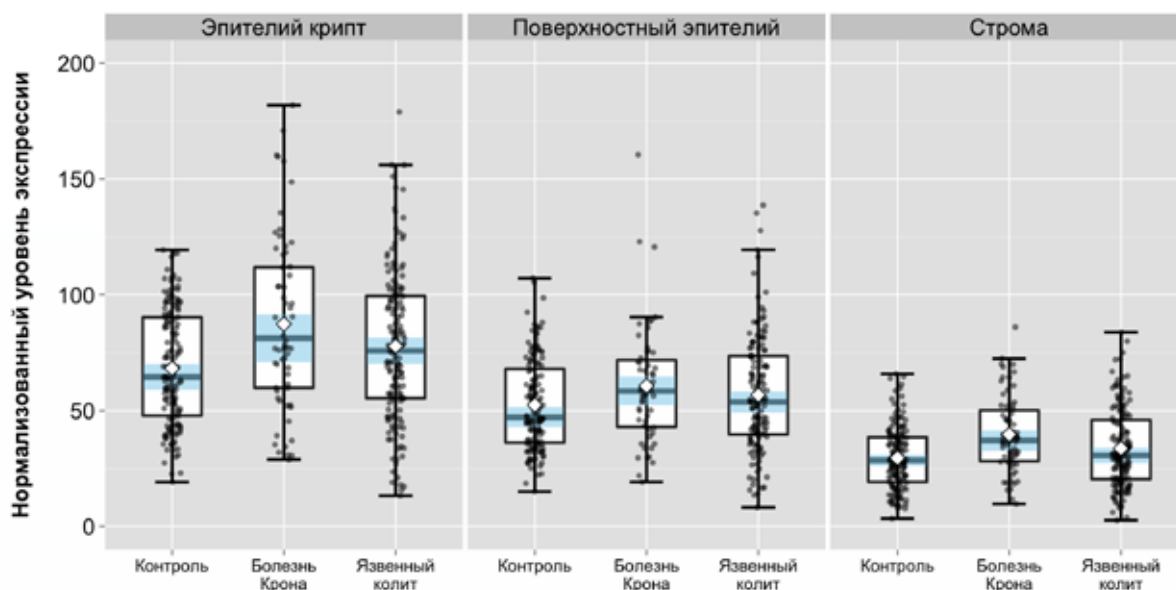


Рисунок 1 – Нормализованный уровень экспрессии Тир-тубулина в слизистой оболочке толстой кишки пациентов с БК, ЯК, а также группы сравнения (контроль)

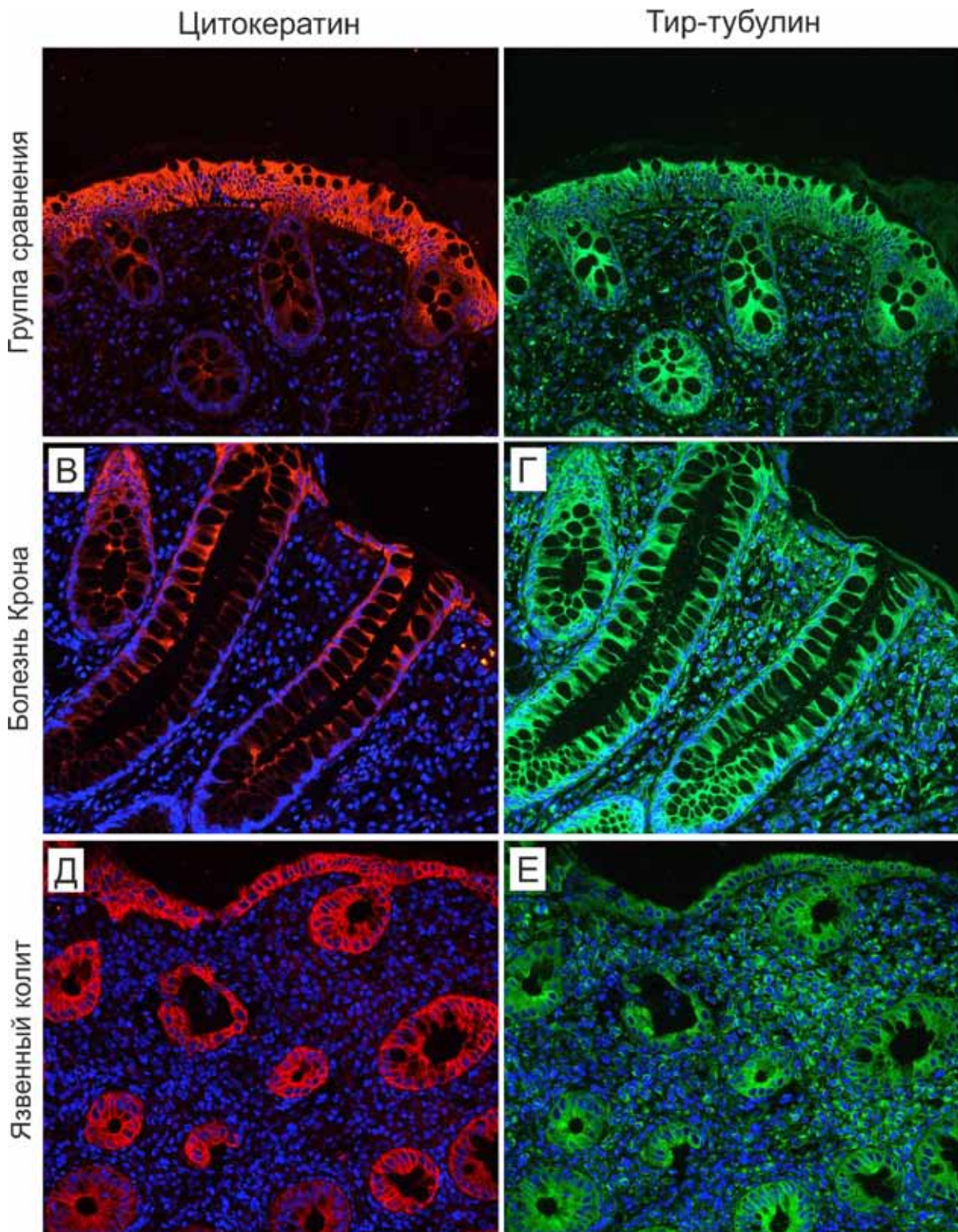


Рисунок 2 – ХВЗК и группа сравнения: двойная иммунофлуоресцентная окраска антителами к Тир-тубулину (Б, Г, Е) и к цитокератину (А, В, Д), $\times 200$

следствие, преобладание в клетке Тир-тубулина, не позволяет сформировать монослой клеток, поскольку приводит к образованию мелких островков, состоящих из преждевременно поляризованных клеток

[10]. Однако этот феномен описан на двухмерной культуре клеток, что не может быть однозначно экстраполировано на трехмерную культуру и, тем более, на ткань. В нашем исследовании в более зрелом по-

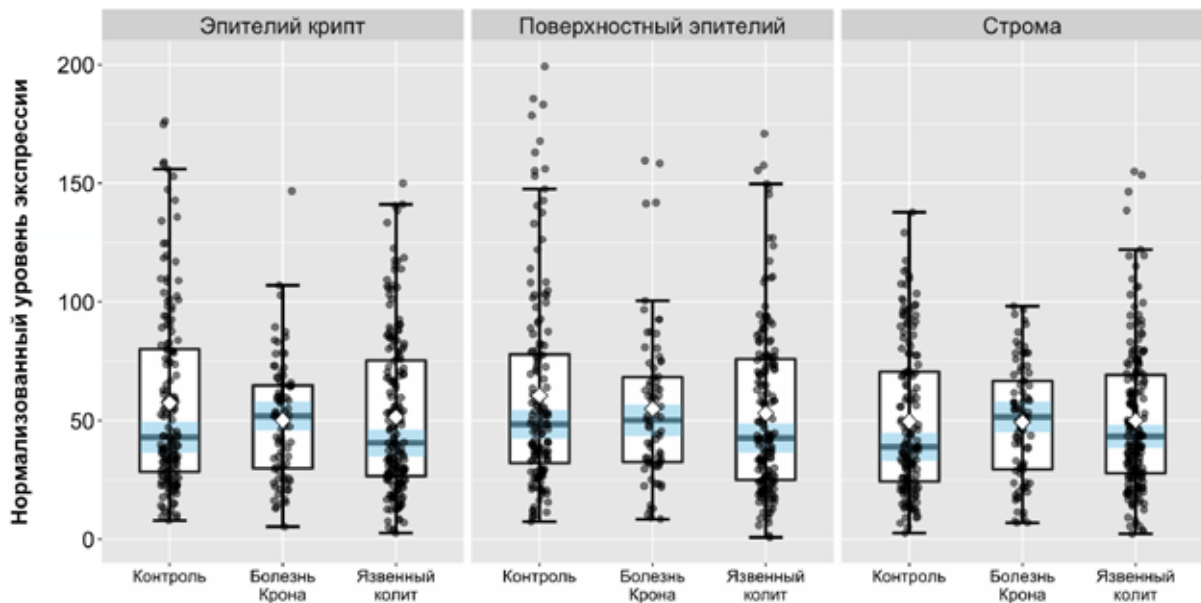


Рисунок 3 – Нормализованный уровень экспрессии Глу-тубулина в слизистой оболочке толстой кишки пациентов с БК, ЯК, а также группы сравнения (контроль)

верхностном эпителии слизистой оболочки толстой кишки отмечалась достоверно более низкая экспрессия как Тир-, так и Глу-тубулина по сравнению с эпителием крипт. С этих позиций нельзя утверждать, что какой-либо из указанных тубулинов имеет преимущественное значение в дифференцировке нормальных колоноцитов, если вообще имеет. С другой стороны, нами была выявлена отрицательная связь между снижением содержания бокаловидных клеток и уровнем Глу-тубулина в эпителии, то есть меньшее количество бокаловидных клеток ассоциировалось с меньшей экспрессией данного белка. Поскольку бокаловидные клетки являются высоко специализированными, можно считать, что в условиях воспаления снижение их содержания – проявление накопления в эпителии камбиальных низкодифференцированных эпителиальных клеток и аналог формирующегося монослоя в культуре. Таким образом, полученные данные противоречат опубликованным экспериментальным.

Ранее нами было показано, что экспрессия ацетилированного тубулина снижается при ХВЗК независимо от нозологической формы [8]. В данном исследовании было установлено, что для БК, в отли-

чие от ЯК, характерно повышение содержания Тир-тубулина в эпителии крипт и в стромальном компартменте. Данный факт может свидетельствовать о существовании различных механизмов повреждения или адаптации клетки при ЯК и БК.

Как уже указывалось выше, от С-концевого Глу-тубулина может быть отщеплен глутамин с образованием δ^2 -тубулина, однако обратное реглутаминирование с образованием Глу-тубулина невозможно. Таким образом, δ^2 -тубулин выбывает из цикла тирозинирования-детирозинирования и представляет собой своеобразную «типиковую ветвь» биохимической модификации α -тубулина. Данная посттрансляционная модификация тубулина описана в стабильных микротрубочках, а именно микротрубочках аксонов нейронов, аксоном жгутиков и ресничек. Согласно полученным данным, экспрессия δ^2 -тубулина не имела достоверных различий у пациентов при ХВЗК и в группе сравнения. Также не было обнаружено какой-либо связи между наличием данного белка и ХВЗК-ассоциированными гистологическими изменениями. Таким образом, экспрессия δ^2 -тубулина не может считаться феноменом, ассоциированным с хроническим воспалением.

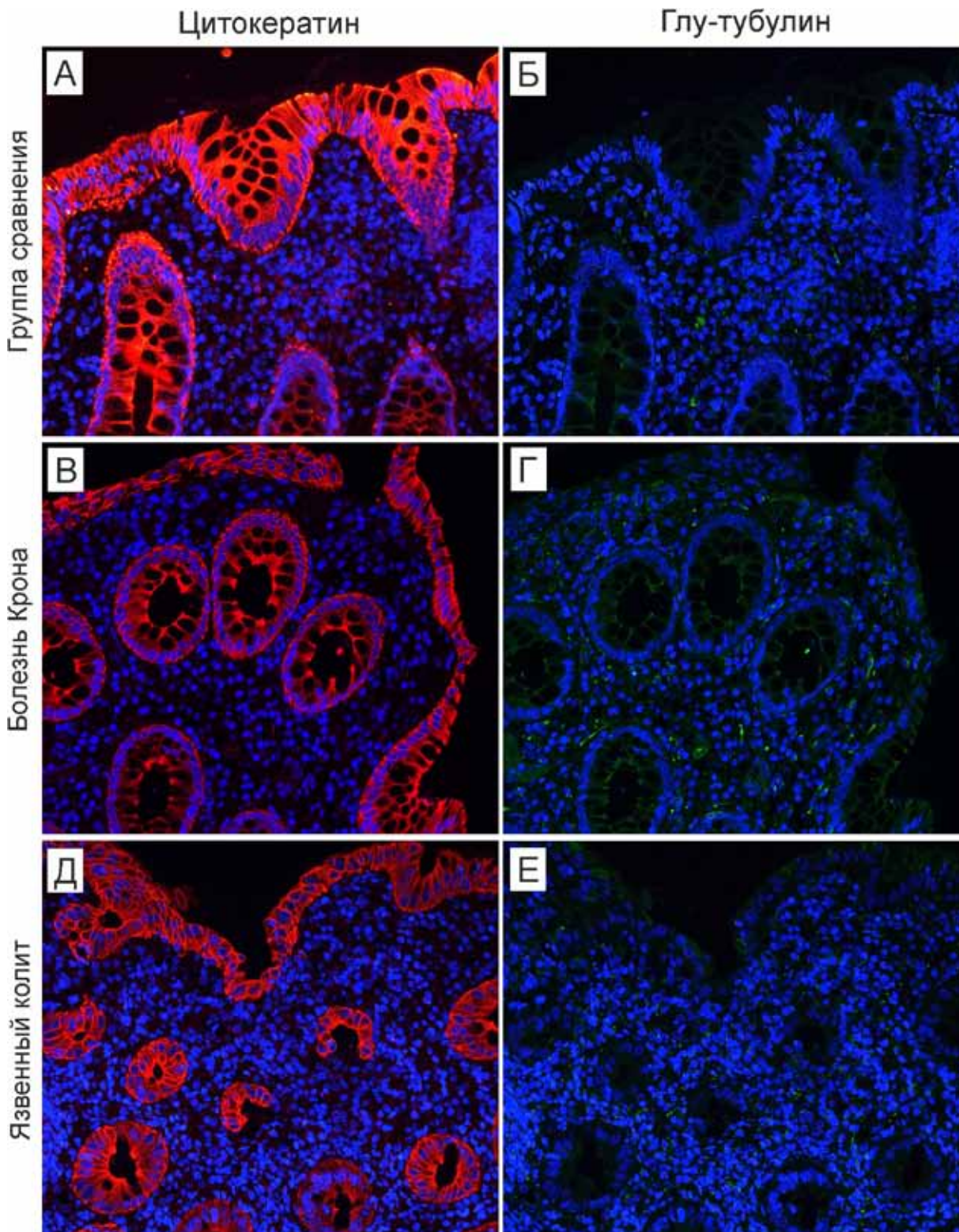


Рисунок 4 – ХВЗК и группа сравнения: двойная иммунофлуоресцентная окраска антителами к Глу-тубулину (Б, Г, Е) и к цитокератину (А, В, Д), $\times 200$

Заключение

В данном исследовании впервые были продемонстрированы закономерности изменений экспрессии Тир-, Глу- и δ^2 -тубулина

при ХВЗК. В частности, установлено, что для БК характерно повышение экспрессии Тир-тубулина в эпителии крипт и строме. Экспрессия Глу-тубулина достоверно не изменяется при ЯК и БК, однако ее сниже-

ние ассоциируется со снижением количества бокаловидных клеток. Предположительно, эти посттрансляционные модификации могут принимать участие в дисрегуляторных процессах в слизистой оболочке при хроническом воспалении, поэтому цикл тирозинирования-детирозинирования может представлять интерес с позиции терапевтического воздействия. Экспрессия δ^2 -тубулина не имеет различий у пациентов с ХВЗК и у пациентов группы сравнения, а также не ассоциируется с гистологическими изменениями, поэтому не может рассматриваться как фактор, связанный с хроническим воспалением.

Библиографический список

1. The Pharmacological Basis of Therapeutics / L.S. Goodman [et al.] – 9th ed. New York: McGraw-Hill. – 1996.
2. Flavin, M. Preferential action of a brain detyrosinolytic carboxypeptidase on polymerized tubulin / M. Flavin, N. Kumar // J. Biol. Chem. – 1981. – 256 (14). – P. 7678-7686.
3. Ludueña, R.F. The Post-Translational Modifications of Tubulin / R.F. Ludueña, A. Banerjee // Cancer Drug Discovery and Development: The Role of Microtubules in Cell Biology, Neurobiology, and Oncology / ed. T. Fojo. – Humana Press, 2008. – P. 105-121.
4. Rac1 and Cdc42 capture microtubules through IQGAP1 and CLIP-170 / M. Fukata [et al.] // Cell. – 2002. – Vol. 109. – № 7. – P. 873-885.
5. Kreis T.E. Microtubules containing detyrosinated tubulin are less dynamic // EMBO J. – 1987. – 6 (9) – P. 2597-2606.
6. Purification and characterization of basal apparatuses from a flagellate green alga / S. Geimer [et al.] // Cell Motil. Cytoskeleton. – 1997. – Vol. 37. – № 1. – P. 72-85.
7. Ацетилированный α -тубулин – потенциальный прогностический маркер течения колоректального рака / А.С. Портянко [и др.] // Здоровоохранение. – 2015. – № 2 (2). – С. 10-16
8. Экспрессия ацетилированного альфа-тубулина при хронических воспалительных заболеваниях и аденокарциноме толстой кишки / А.С. Портянко [и др.] // Лечебное дело. – 2016. – 48(2). – С. 39-46.
9. The posttranslational modification of tubulin undergoes a switch from detyrosination to acetylation as epithelial cells become polarized. / G.B. Quinones [et al.] // Mol. Biol. Cell. – 2011. – Vol. 22. – № 7. – P. 1045-1057.
10. Tubulin detyrosination promotes monolayer formation and apical trafficking in epithelial cells. / S. Zink [et al.] // J. Cell Sci. – 2012. – Vol. 125. – P. 5998-6008.

A. Portyanko, K. Ruksha, P. Peravoshchikay, S. Rusak, M. Malko, J. Gorgun

EXPRESSION OF DIFFERENT POSTTRANSLATIONAL MODIFICATIONS OF THE C-TERMINAL SEQUENCE OF α -TUBULIN IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

The aim of the research was to establish the spectrum of expression changes of tyrosinated (Tyr-), detyrosinated (Glu-) and deglutaminated (δ^2 -) tubulins in patients with inflammatory bowel diseases (IBD) and to assess its connection with the morphology of tumors. The study was performed on biopsy fragments from 39 patients with IBD and 23 patients of control group. Expression was assessed in slides stained by immunohistochemistry as well as double immunofluorescence. Crohn's disease (CD) is characterized by increase in Tyr-tubulin in the crypt epithelial cells and in the stroma while the level of Glu-tubulin doesn't change significantly both in CD and in ulcerative colitis (UC). Expression of δ^2 -tubulin in IBD didn't differ from the control group. Presence of CD and patients' gender has the greatest impact on Tyr-tubulin expression in epithelium as well as mucin depletion is connected with a level of Glu-tubulin.

Key words: microtubules, tubulin, cytoskeleton, ulcerative colitis, Crohn's disease

Поступила: 24.06.16