



**К. Я. БУЛАНОВА  
Л. М. ЛОБАНОК  
Е. Ф. КОНОПЛЯ**

**РАДІАЦІЯ І ЧЕРНОБЫЛЬ:  
КАРДИОМИОЦЫТЫ  
І РЕГУЛЯЦІЯ ІХ ФУНКЦІІ**

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
Институт радиобиологии

К. Я. Буланова, Л. М. Лобанок, Е. Ф. Конопля

# РАДИАЦИЯ И ЧЕРНОБЫЛЬ: КАРДИОМИОЦИТЫ И РЕГУЛЯЦИЯ ИХ ФУНКЦИИ



Минск  
«Белорусская наука»  
2008

УДК 614.876.084+612.66

**Буланова, К. Я. Радиация и Чернобыль: Кардиомициты и регуляция их функции / К. Я. Буланова, Л. М. Лобанок, Е. Ф. Конопля. — Минск : Белорус. наука, 2008. — 279 с. — 200 экз. — ISBN 978-985-08-0936-0.**

В книге уделено значительное внимание возрастным перестройкам функции аденилатциклазной системы, структурным изменениям мембран кардиомиоцитов. Показано, что пролонгированное облучение имеет сходные нейрогормональные механизмы реализации со старением организма и гипокинезией, а последствия острого облучения — со стрессом. Впервые к проблемам действия низкоинтенсивного излучения на организм применен системно-кибернетический подход и с позиций информационного обмена проанализированы эффекты малых доз на организм и аденилатциклазную систему кардиомиоцитов.

Для преподавателей, научных сотрудников, аспирантов, интересующихся проблемами геронтологии, радиобиологии, биокибрнетики, экологии, физиологии сердечно-сосудистой системы, биохимии миокарда и молекулярной эндокринологии.

Табл. 28. Ил. 59. Библиогр.: 498 назв.

**Р е ц е н з е н т ы:**

доктор биологических наук профессор И. В. Ролевич,  
доктор биологических наук А. Б. Чешевич

**ISBN 978-985-08-0936-0**

© Буланова К. Я.,  
Лобанок Л. М.,  
Конопля Е. Ф., 2008  
© Оформление. РУП  
«Издательский дом  
«Белорусская наука», 2008

## ВВЕДЕНИЕ

Однозначным критерием отнесения действующего на организм фактора к категории факторов риска является сокращение индивидуальной и видовой продолжительности жизни. Стрессы, малоподвижный образ жизни являются общепризнанными факторами риска для человека на современном этапе развития общества, вступившего на путь автоматизации и компьютеризации производства и быта. Проблема оценки эффектов низкоинтенсивного воздействия радиации на организм возникла в связи с закономерностями развития в XX в. атомных технологий. Особую значимость она приобрела после аварии на ЧАЭС, поскольку значительная часть населения, животный и растительный мир на больших территориях оказались в условиях постоянно действующего низкоинтенсивного внешнего и внутреннего облучений.

Исследования показали, что ионизирующие излучения в малых дозах также можно отнести к факторам риска, входящим в общий комплекс вероятностных неблагоприятных воздействий на живой организм, поскольку радиационный синдром ускоренного старения является одним из наиболее выраженных последствий действия ионизирующей радиации на организм. Однако причиной роста смертности среди населения, подвергнутого воздействию ионизирующих излучений в малых дозах, оказалось, явилась не лучевая болезнь, а повышение уровня общих соматических заболеваний.

Статистические данные свидетельствуют, что на первом месте среди причин смертности стоят заболевания

сердечно-сосудистой системы [1]. Имеется ряд клинических данных, подтверждающих высокую вероятность развития нарушений сердечно-сосудистой системы у пациентов, подвергнутых воздействию ионизирующей радиации в терапевтических целях [1]. Результаты обследования свидетельствуют, что частота сердечно-сосудистых заболеваний у ликвидаторов Чернобыльской катастрофы значительно выше, чем у остального населения [1, 2]. Не отрицая возможной триггерной роли ионизирующих излучений в возникновении сердечно-сосудистых заболеваний, следует отметить, что тем не менее не обнаружено прямо пропорциональной зависимости между уровнем радионуклидного загрязнения территории и частотой выявления заболеваний сердечно-сосудистой системы у проживающего на ней населения. В связи с этим важно установить, не является ли старение (физиологическое или ускоренное действием факторов риска) основой для повышения вероятности развития сердечно-сосудистых заболеваний. Таким образом, представляются актуальными проведение сравнительного анализа механизмов физиологического и ускоренного старения, индуцированного действием радиации, малоподвижным образом жизни, стрессовыми ситуациями, а также установление роли этих факторов риска в инициации сердечно-сосудистых заболеваний.

Анализ имеющихся данных о характере постлучевых эффектов показал, что низкоинтенсивная ионизирующая радиация не оказывает выраженного повреждающего действия на сердечно-сосудистую систему. Основную роль при этом играют неспецифические компенсаторно-приспособительные изменения, вариабельность которых зависит не столько от величины дозы, сколько от физиологического состояния организма, имеющего широкий спектр индивидуальной и видовой изменчивости. Физиологическое состояние организма и его адаптационные возможности в первую очередь определяются эндокринным статусом. В связи с этим представляет интерес изучение модифицирующих влияний возраста, эндокринного статуса на ответные реакции организма при действии ионизирующих излучений.

Среди населения, проживающего на территориях пострадавших от аварии на ЧАЭС районов, из-за выброса в атмосферу значительного количества радиоактивных изотопов I-125, I-131 и избирательного поглощения их клетками щитовидной железы значительно возросла частота нарушений тиреоидного статуса организма. Сердце относится к тиреоидзависимым органам и патологические изменения в нем возникают как при гипо-, так и гиперфункции щитовидной железы. В загрязненных радионуклидами районах отмечается рост сердечно-сосудистых заболеваний не только у пожилых людей, но и среди взрослого населения, детей и подростков [3, 4]. Исследования механизмов трансформации приспособительных изменений в патогенетические, адаптации — в дезадаптацию при различных физиологических состояниях организма и у людей разного возраста составляют в настоящее время одну из важнейших проблем радиобиологии.

Ведущее значение в постлучевой трансформации адаптивных процессов в патогенетические приобретают изменения механизмов нейрогуморальной регуляции [5, 6]. В связи с этим актуальны сравнительные исследования мембранных и молекулярных механизмов регуляции функции клеток миокарда при действии на организм факторов риска радиационной и нерадиационной природы (гипокинезии, стресса), значительно сокращающих продолжительность жизни. Значимость молекулярных исследований постлучевых эффектов определяется необходимостью установления причин роста сердечно-сосудистых заболеваний среди разных возрастных групп населения, в том числе имеющих нарушения функции щитовидной железы, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами.

Среди молекулярных систем регуляции функции кардиомиоцитов аденилатциклазная система занимает одно из ведущих положений, поскольку опосредует проведение нейрональных, гормональных и гуморальных влияний на клетки. Изменения ее функций в миокарде при гипокинезии и стрессе практически не изучены. Исследова-

ния механизмов действия на аденилатциклазную систему миокарда ионизирующей радиации в малых дозах и низкой интенсивности также являются весьма не полными. Это определяется в некоторой степени тем, что любая дисциплина, при помощи которой осуществляется анализ явлений природы и создается система знаний об изучаемом природном явлении, ограничена возможностями применяемых исследовательских методов.

Использование комплексных методов и междисциплинарных подходов может позволить получить интегральные знания, отражающие в большей мере сущность любого природного явления. Так, для исследования функционального состояния аденилатциклазной системы кардиомиоцитов применялись как биохимические, так и биофизические методы. Для интерпретации механизмов действия ионизирующих излучений низкой интенсивности на организм и его системы применен междисциплинарный принцип, объединяющий биохимический и кибернетический подходы. На формирование теоретических представлений о механизмах действия ионизирующей радиации в малых дозах и низкой интенсивности значительное влияние оказала концепция самоуправления, разработанная У. Р. Эшби (1956 г.), полагающая, что части могут быть познаны лишь на основе знания о целом. Это потребовало установления в первую очередь закономерностей воздействия низкоинтенсивных ионизирующих излучений на целостный организм, а во вторую — особенностей проявлений постлучевых эффектов в конкретной биохимической системе организма — аденилатциклазной системе кардиомиоцитов левого желудочка сердца.

Авторы выражают особую признательность кандидату биологических наук Е. С. Комар за большой вклад в проведение радиобиологических экспериментов.

### **НЕЙРОГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИИ КАРДИОМИОЦИТОВ**

Важнейшая роль в реализации ответа клеток на экзо- и эндогенные факторы принадлежит плазматическим мембранам, в которых одним из наиболее важных элементов восприятия и трансляции сигналов является аденيلاتциклазная система (АЦС). На уровне этого комплекса связываются в единое целое все существующие в организме типы регуляции. Доказано участие данной системы в ответных реакциях организма на воздействие факторов внутренней и внешней среды [7,8], в патогенезе заболеваний, вызванных разными причинами [9]. Поскольку мембраносвязанная АЦС кардиомиоцитов является важнейшей регуляторной системой, то изучение изменений ее функции при действии факторов риска на организм может позволить установить закономерности трансформации приспособительных процессов в патогенетические.

В сердечно-сосудистой системе АЦС является важным регуляторным звеном, влияющим на метаболические процессы клеток в ходе циклов сокращения-расслабления, а также модифицирующим хроно-, ино-, батмо-, дромотропную функции миокарда [9]. Обращает на себя внимание способность АЦС проявлять определенную пластичность в осуществлении ответных реакций на специфическую стимуляцию в зависимости от нейрональной активности, гормонального статуса организма и функционального состояния клеток.

АЦС является типичной системой передачи сигнала и включает в себя три основных компонента: рецептор,

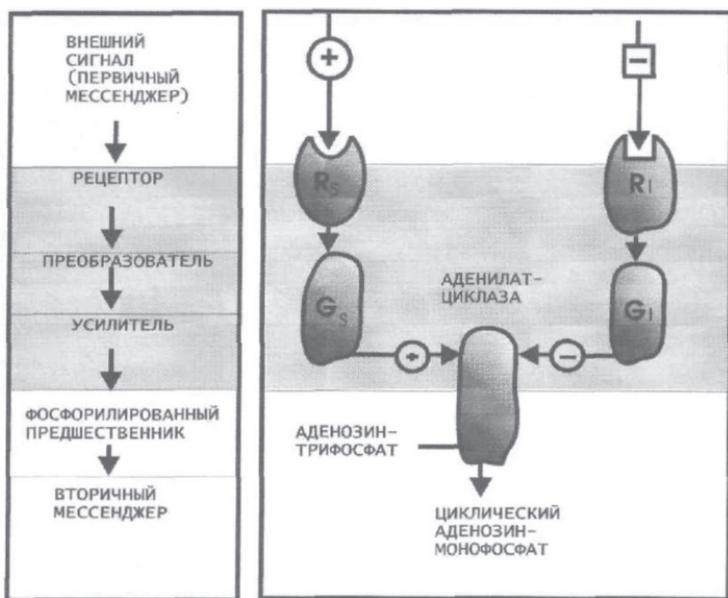


Рис. 1.1. Схема трансмембранной передачи сигнала через аденилатциклазную систему:  $R_s$ ,  $R_i$  — соответственно стимулирующие и ингибирующие рецепторы;  $G_s$ ,  $G_i$  — соответственно стимуляторные и ингибиторные ГТФ-зависимые белки

трансдуктор и эффектор (рис. 1.1). Рецептор представлен белком, распознающим сигнальную молекулу и специфически взаимодействующим с ней. Трансдуктором сигнала в АЦ является гетеротримерный ГТФ-связывающий белок (G-белок). Эффектор, воспринимающий и усиливающий сигнал, представлен ферментом аденилатциклазой (АЦ, КФ 4.6.1.6), превращающей Mg-АТФ в цАМФ [10].

**Рецепторы.** С позиций современной молекулярной биологии рецепторы являются генетически детерминированными макромолекулярными сенсорами, относящимися либо к простым белкам, либо к их модифицированным формам — глико- и липопротеинам, локализованным как в плазматической мембране, так и внутри клетки — в цитозоле, ядре. В кардиомиоцитах рецепторы, сопряженные с АЦ, располагаются исключительно в плазматической мембране.

Рецепторы специфически взаимодействуют с физиологически значимыми сигналами химической и физической природы, осуществляют трансформацию и передачу информации на пострецепторные структуры. Это приводит к инициации каскада биохимических и/или физико-химических процессов, формированию конкретного клеточного ответа клетки-мишени на раздражитель [11].

Ряд лигандов, взаимодействуя со своими специфическими рецепторами ( $R_s$ ), вызывает активацию АЦ ( $\beta$ -адренергические агонисты, глюкагон, АКТГ, лютропин, фоллитропин, гистамин и др.). Действия иных эффекторов, опосредуемых через мускариновые, аденозиновые,  $\alpha_2$ -адренергические, опиоидные и другие рецепторы ( $R_i$ ), подавляют активность этого фермента.

В сарколемме миокарда существуют также участки — акцепторы, обладающие способностью связывать гормоны, но лишенные возможности передавать сигнал в клетку, для идентификации которых существуют специальные критерии [12].

Рецепторы плазматической мембраны клеток подразделяются на три суперсемейства: 7-сегментные трансмембранные рецепторы (7-transmembrane segment receptors — 7-TMS), односегментные трансмембранные каталитические рецепторы (1-TMS) и рецепторы, связанные с ионными каналами.

С аденилатциклазой в миокардиальных клетках сопрягаются в основном 7-TMS-рецепторы. Они являются интегральными мембранными белками с семью трансмембранными спиральными сегментами, соединенными гидрофильными экстраклеточными и внутриклеточными петлями. Внутриклеточные петли этих рецепторов содержат центры связывания G-белка, поэтому 7-TMS рецепторы называют также связанными с G-белком рецепторами (G-protein-coupled receptors — GPCRs). Это суперсемейство включает огромное число различных рецепторов (свыше 250) с молекулярной массой 40—50 кДа. К нему относятся адренорецепторы, холин- и индоламинергические рецепторы, рецепторы тиреотропина, адреноркортикотропина, вазопрессина, кальцитонина, глюка-

гона, тромбина и др. Считается, что около 80% всех известных нейромедиаторов, пептидных гормонов и других модуляторов клеточных функций также опосредуют свое действие через рецепторы, связанные с G-белками.

В зависимости от особенностей аминокислотных последовательностей суперсемейство 7-TMS рецепторов подразделяют на подсемейства. Среди них наибольшее представительство имеет подсемейство  $\beta$ -адренергического рецептора, которое включает  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторы, рецепторы гистамина, серотонина, брадикинина, тромбина, ацетилхолина (M-холинорецепторы), соматостатина, ангиотензина, интерлейкина, тромбина и др. Из группы адренергических рецепторов в миокарде человека обнаружены  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -,  $\beta_3$ - и  $\beta_4$ -рецепторы [13, 14].

В сердце  $\beta$ -адренергический путь передачи сигнала определяет регуляцию силы, частоты, скорости сокращений и расслабления миокарда [15]. По этим причинам и агонисты, и антагонисты  $\beta$ -адренорецепторов имеют важное клиническое значение. Показано также, что  $\beta$ -адреноагонисты способствуют увеличению массы сердца на ранних стадиях онтогенеза [16]. В мембранах кардиомиоцитов большинства млекопитающих преимущественно находятся  $\beta_1$ -, а в клетках сосудов —  $\beta_2$ -адренорецепторы [17]. У человека  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторы в миокарде распределены достаточно равномерно [18]. Из большого числа известных рецепторов первыми были очищены и характеризованы  $\beta$ -адренорецепторы [19, 20]. Рецепторы этого типа, выделенные из тканей млекопитающих, имеют молекулярную массу 64 кДа.

Экспериментально установлено, что активация как  $\beta_1$ -, так и  $\beta_2$ -адренорецепторов сопряжена с инициацией синтеза цАМФ, но данные о физиологических эффектах каждого из этих подтипов все еще спорны. Существуют представления, что  $\beta_1$ -популяция рецепторов обеспечивает положительные ино- и хронотропные эффекты на деятельность сердца, а  $\beta_2$ -популяции — хронотропные [21]. Однако в миокарде людей в некоторых случаях при стимуляции  $\beta_1$ -адренорецепторов были зарегистрированы

и отрицательные инотропные эффекты [22]. Предполагается, что различия в функциональных ответах, возникающие при стимуляции рецепторов, обусловлены разными количественными соотношениями между  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -подтипами в ткани миокарда [23, 24] или неодинаковой их аффинностью [25]. Различия в аффинности могут быть обусловлены в первую очередь наличием или отсутствием связи с G-белками [26], а во вторую — особенностями микроокружения [27]. Рецепторы, связанные с G-белками, находятся в высокоаффинном, кластеризованном и малоподвижном состояниях. Рецепторы, не связанные между собой, находятся в низкоаффинном состоянии и способны к латеральным передвижениям [28]. Между кластеризованными и подвижными рецепторами, как полагают, существует динамическое равновесие: при снижении чувствительности рецепторов оно сдвигается в сторону образования подвижных форм, а при усилении гормонального восприятия происходит, наоборот, их кластеризация [29].

В популяции  $\alpha$ -адренорецепторов сердца численно преобладают рецепторы  $\alpha_1$ -подтипа [30].  $\alpha_1$ -Адренорецепторы подразделяются на  $\alpha_{1A}$ -,  $\alpha_{1B}$ -,  $\alpha_{1D}$  — субтипы, а  $\alpha_2$ -адренорецепторы — на  $\alpha_{2A}$ -,  $\alpha_{2B}$ - и  $\alpha_{2C}$ -субтипы. Распределение в ткани сердца и функциональная роль  $\alpha$ -адренорецепторов менее изучены. Выяснено, что  $\alpha_2$ -подтип рецепторов сопряжен с АЦ посредством регуляторного  $G_i$ -белка, поэтому оказывает ингибиторное влияние на активность аденилатциклазы [31]. Активация рецепторов  $\alpha_1$ -подтипа изменяет обмен фосфоинозитолов, вызывая увеличение содержания фосфатидной кислоты и диацилглицерола. Последний снижает порог чувствительности к ионам  $Ca^{2+}$  липидзависимых протеинкиназ (ПК C), катализирующих в кардиомиоцитах фосфорилирование тропонина [32]. Фосфатидная кислота непосредственно участвует в трансмембранном переносе  $Ca^{2+}$  [33].

На молекулярном уровне восприятие сигнала определяется не только аффинностью, но также и количеством функционально активных рецепторов, находящихся на

поверхности мембраны. Рецепторная функция в клетках может модифицироваться в зависимости от особенностей жизнедеятельности организма, интенсивности и частоты воздействия внешнего стимула. Неоднократное или продолжительное его воздействие приводит чаще всего к снижению чувствительности рецептора к эффектору, например к агонист-индуцированной рецепторной десенситизации [34, 35].

Открыто несколько механизмов регуляции эффекторами взаимодействия рецепторов и G-белков, приводящих к изменению функций рецепторов или скорости их экспрессии. В некоторых случаях функциональное состояние рецепторов может измениться за секунды. Наиболее важную роль в таком изменении играет десенситизация, развивающаяся на фоне длительного воздействия соответствующего агониста, для которой характерна быстрая потеря способности рецепторов активизировать G-белки [35—38]. В этом процессе участвует два типа протеинкиназ, ассоциированных с G-белком. Представители первого типа ПК осуществляют агонист-специфическую (гомологичную) десенситизацию, действуя в два этапа: вначале киназа рецептора фосфорилирует оккупированный агонистом рецептор, создавая условия для осуществления второго этапа — присоединения к рецептору цитоплазматического белка  $\beta$ -аррестина, который специфически препятствует взаимодействию рецепторов с G-белком [36, 37]. Такой тип десенситизации реализуется при наличии высоких концентраций агониста. Физиологически такая ситуация имеет место в синапсах, при этом и аррестин, и киназа рецептора находятся в постсинаптических сайтах.

Второй тип протеинкиназ, включающий ПК А и ПК С при длительном действии агониста, вызывает агонист-неспецифическую (гетерологическую) десенситизацию. В этом случае ПК А и ПК С неспецифично фосфорилируют цитоплазматические участки рецепторов. В результате изменяется конформация всего их пула и подавляется действие как данного, так и других агонистов [38, 39].

К более медленному процессу модификации рецепторного восприятия относится рецепторная down-регуляция — вызванное агонистом снижение экспрессии рецепторов в мембрану. Она отмечается только спустя многие часы после воздействия эффектора и достигает максимума не ранее чем через 24 ч, поскольку включает в себя деградацию рецепторного белка и снижение синтеза новых рецепторов вследствие уменьшения уровня их мРНК. Таким образом, down-регуляция может быть результатом действия двух различных регуляторных механизмов: усиливающих деградацию рецепторов и снижающих синтез новых рецепторов. Деградация рецепторов может происходить за счет их интернализации (или секвестирования) во внутриклеточные компартменты, откуда рецепторы могут либо вернуться на клеточную поверхность, либо, попадая в лизосомы, подвергнуться воздействию энзимов [40, 41]. Уменьшение синтеза рецепторов возникает при снижении скорости транскрипции или эффективности трансляции и дестабилизации мРНК.

Несмотря на функциональную гетерогенность, все рецепторы 7-TMS суперсемейства способны селективно взаимодействовать с G-белками, регулируя их активность.

**G-белки.** G-белки были открыты как компоненты белкового комплекса, ассоциированного с аденилатциклазой [42], и получили свое название благодаря способности связывать и гидролизировать ГТФ, поэтому G-белки по своим ферментативным свойствам отнесены к ГТФ-азам. G-белки в АЦС определяют передачу сигнала от рецептора к эффектору, а также выполняют специфические регуляторные функции.

G-белки образованы тремя отдельными полипептидными цепочками —  $\alpha$  (39—52 кДа),  $\beta$  (35—36 кДа) и  $\gamma$  (7—8 кДа). Идентификация различных типов G-белков осуществляется по характеристикам  $\alpha$ -субъединиц. В соответствии с этим G-белки подразделяют на четыре семейства:  $G_s$ ,  $G_i$ ,  $G_q$  и  $G_{12}$ . [43, 44]. Аденилатциклазу стимулируют G-белки, содержащие  $\alpha_s$ -субъединицу, что приводит к увеличению внутриклеточного содержания цАМФ. В тех случаях, когда  $\alpha_s$ -белок становится субстратом для кова-

лентной модификации холерным токсином, происходит стойкая активация аденилатциклазы.  $\alpha_s$ -Субъединица также способна активировать  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы. При анализе структурных особенностей  $\alpha_s$ -субъединиц обнаружены четыре их разновидности:  $G_s$ ,  $G_{s(L)}$ ,  $G_{s(XL)}$  и  $G_{olf}$ .

В семействе  $\alpha_i$ -субъединиц различают следующие разновидности:  $\alpha_{i1}$ ,  $\alpha_{i2}$ ,  $\alpha_{i3}$ ,  $\alpha_{o1}$ ,  $\alpha_{o2}$ ,  $\alpha_{t-rod}$ ,  $\alpha_{t-cone}$ ,  $\alpha_{t-gust}$  и  $\alpha_z$ . С аденилатциклазой взаимодействуют субъединицы  $\alpha_{i3}$  и  $\alpha_{i2}$ , что приводит к ингибированию ее каталитической активности. Физиологический смысл существования такого количества разновидностей  $\alpha_i$ -белков не ясен. Можно предположить, что разные  $\alpha_i$ -подтипы могут связываться с разными рецепторами, ингибирующими аденилатциклазу: одни — с  $A_1$ -аденозиновыми, другие — с  $M_2$ -холинэргическими рецепторами. Кроме того, субъединицы  $\alpha_{i3}$  и  $\alpha_{i2}$ , вероятно, дифференцированно участвуют в активации двух типов натриевых каналов, предсердного мускаринового канала и АТФ-зависимого натриевого канала. Не исключено, что разные  $\alpha_i$ -субъединицы также могут специфически взаимодействовать с различными изоформами аденилатциклазы. Возможно, наличие этих разновидностей определяется тканеспецифичностью. По крайней мере, установлено, что в сердце млекопитающих экспрессия  $\alpha_{i2}$ -протеина преобладает над экспрессией  $\alpha_{i3}$  [45]. Семейство  $G_q$ -белков представлено следующими разновидностями:  $G_q$ ,  $G_{11}$ ,  $G_{14}$ ,  $G_{15}$ ,  $G_{16}$ , а семейство  $G_{12}$  —  $G_{12}$ ,  $G_{13}$ -подтипами. Разнообразие  $\alpha$ -субъединиц, а также поддержание определенных их соотношений в мембранах различной функциональной принадлежности пока не находит должного объяснения.

Выявлено, что определенная степень разнообразия характерна также для всех типов субъединиц, составляющих  $G$ -белки. К настоящему времени установлено 23 разновидности для  $G_\alpha$ -, 6 — для  $G_\beta$ - и 11 — для  $G_\gamma$ -субъединиц. Многообразие  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц  $G$ -белков и их способность связываться между собой в разных комбинациях [46—49] определяют возможность неоднозначного клеточного ответа на внешний сигнал (табл. 1.1) [50]. Способности рецептора вступать во взаимодействие

с несколькими разновидностями G-белков, а каждого из ГТФ-зависимых белков активировать несколько эффекторов создают возможности для распространения сигнала по нескольким маршрутам внутри клетки.

$\alpha_i$ -Субъединицы, так же как и  $\alpha_{o1}$  и  $\alpha_{o2}$ , являются субстратом для ADP-рибозилирования коклюшным токсином [51]. Такая модификация приводит к отсоединению G-белков от соответствующих рецепторов.

G<sub>i</sub>-белки могут вовлекаться и в рецептор-независимые процессы, такие как позиционирование митотического веретена и прикрепление микротрубочек к клеточному кортексу. Эти процессы происходят с участием специфических групп белков  $\alpha_{oLoko}$ , функционирующих в качестве ингибиторов диссоциации гуаниновых нуклеотидов [52]. Наличие в сердце млекопитающих  $\alpha_0$ - субъединиц является спорным.

Общим свойством  $\alpha$ -субъединиц всех типов является то, что они имеют высококонсервативные участки аминокислотных последовательностей, участвующие в формировании домена связывания гуаниновых нуклеотидов и определяющие ГТФ-азную активность G-белков. Из данных кристаллографии следует, что  $\alpha$ -субъединица состоит из двух частей:  $\alpha$ -спирального домена, функция которого не выяснена, и ГТФ-азы. Эти части соединены между собой двумя гибкими петлями, образующими карман, в котором размещается и достаточно прочно связывается один из двух гуаниновых нуклеотидов: либо ГТФ, либо ГДФ [53].

Наличие специфических функций у G-белков обусловлено существованием в структуре полипептидных цепей  $\alpha$ -субъединиц областей внутренней симметрии зеркального типа. Симметричные структуры обнаружены на участке полипептидной молекулы вблизи ее N-конца в месте локализации сегмента, ответственного за взаимодействие  $\alpha$ -субъединицы с  $\beta\gamma$ -субъединицами [53]. Симметричные сегменты также характерны для сайтов, участвующих в формировании поверхности кармана для ГТФ, в связывании аниона  $PO_4^{3-}$  и остатка рибозы, принадлежащих гуаниловому нуклеотиду, ионов  $Mg^{2+}$ , а так-

Таблица 1.1. Классификация и важнейшие функции G-белков [50]

Семейство G-белков	Подтип	Важнейшие эффекторные молекулы	Экспрессия в органах и тканях	Заболевания, связанные с дисфункцией G-белка
Gs $\alpha$	Gs(S) $\alpha$	АЦ ↑(Gs(S), Gs(XL), Golf $\alpha$ )	Gs $\alpha$ повсеместно	Кровоточивость легочной системы, синдром МакСуна—Олбрайта, холера, аденома щитовидной железы
	Gs(L) $\alpha$ Gs(XL) $\alpha$ Golf $\alpha$		Golf $\alpha$ — обонятельные нейроны, ЖКТ, урогенитальный тракт, ганглии ЦНС	
Gi/o $\alpha$	Gol $\alpha$	АЦ ↓ (Gi, o, z $\alpha$ )	Go 1–2 $\alpha$ — нейроны, нейроэндокринные клетки, астроглия, сердце	Коклюш, аденома надпочечников и яичников, «куриная слепота»
	Go2 $\alpha$	Rap 1GAP1-зависимая ЕРК/МАР-киназа ↑ (Gi $\alpha$ )	Go 1–3 $\alpha$ — нейроны	
	Gil-i3 $\alpha$	Ca <sup>+</sup> -каналы ↓. (Gi, o, z $\alpha$ )	Gil-i3 $\alpha$ — нейроны	
	Gz $\alpha$	K <sup>+</sup> -каналы ↑ (Gi, o, z $\alpha$ )	Gza — тромбоциты, нейроны, нейросекреторные клетки, хромафинные клетки надпочечников	
	Gtl/2 $\alpha$	ГТФ-аза тубулина ↑ (Gia)	Gtl/2 $\alpha$ — вкусовые почки, ноздрные сегменты спинного мозга	
	Gqst $\alpha$	Src-тирозиновая киназа ↑↑(Gi $\alpha$ ) RAP1GAP(Gz $\alpha$ )	Gqst $\alpha$ — вкусовые почки, хеморецепторные клетки воздухоносных путей	

Gq/11α	Gqα G11, 14—16α	K <sup>+</sup> -каналы↑(Gqα) p63-RhoGEF↑ (Gq/11α) ФЛГβ↑	Gq/11 α — повсеместно G 15/16α — гематопоэтические клетки	Дермальная гиперпигментация, меланозитоз
G12/13α	Gα12 Gα13	ФЛД, ФЛС↑ Протеинфосфатаза V↑ HSP90↑ iNOS↑ p115RhoGEF↑	Повсеместно	—
Gβ/γ	Gβ1-5 Gγ1-12	ФЛС↑ АЦ↓ К-каналы ↑ ГТФ-азная активность ↑ АЦ II, IV, VII↑	β1γ1, β3,8 — ретинальные клетки β5 — нейроны и нейроэндокринные органы	Атеросклероз, гипертензия, метаболический синдром

же для участка, способствующего конформационным перестройкам молекулы  $\alpha$ -белка при инициации ГДФ/ГТФ-обмена. В полипептидной цепи G-белка также выявлен участок молекулы, ответственный за присоединение азота гуанинового кольца на основе ионного механизма. Мутации, способствующие изменению последовательности аминокислот в перечисленных выше центрах  $\alpha$ -субъединицы, приводят к наследственным заболеваниям либо к их трансформации в онкобелки, включаемые в опухолевый рост [54, 55].

В основе механизма регуляции G-белками активности АЦ лежит чередование взаимных превращений между активной ГТФ-связанной и неактивной ГДФ-связанной формами  $\alpha$ -субъединицы, определяемых действием ГТФ-аз и последующей заменой ГДФ на ГТФ [56, 57]. Процесс активации и дезактивации G-белков называют ГТФ-

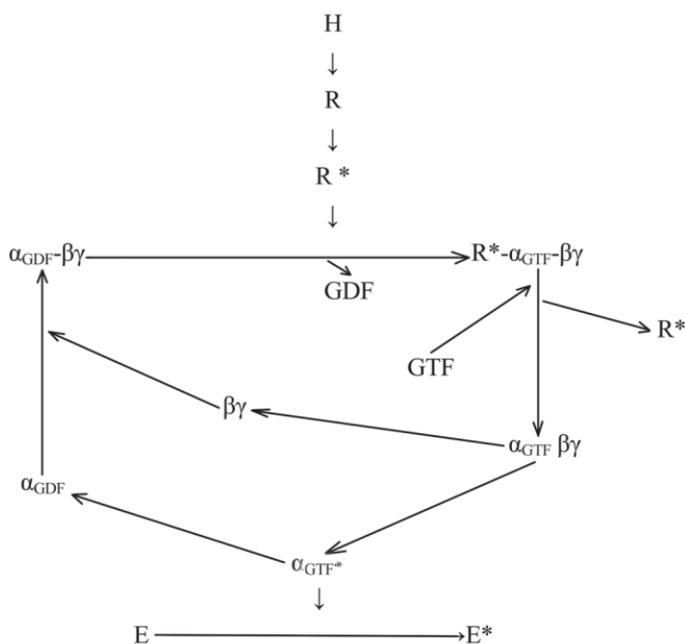


Рис. 1.2. Схема ГТФ-азного цикла G-белка [57]: Н — гормон; R — рецептор; R\* — активированный рецептор; E — неактивная форма АЦ; E\* — активная форма АЦ;  $\alpha\beta\gamma$  — субъединицы G-белка

азным циклом, который схематически представлен на рис. 1.2.

В G-белке, представленном в виде гетеротримера, имеются условия для высокоаффинного взаимодействия  $\alpha$ -субъединицы с ГТФ, что придает ей активные свойства. Неактивная гетеротримерная форма образуется в результате действия ГТФ-азы, превращающей ГТФ в ГДФ. В этом случае с  $\beta\gamma$ -субъединицами оказывается ассоциированной уже ГДФ-содержащая  $\alpha$ -субъединица. В этой форме G-белки соединяются с неактивным рецептором. Хотя  $\alpha$ -субъединица и сама по себе способна связываться с рецептором, но в ассоциации с  $\beta\gamma$ -субъединицами вероятность образования связи с рецептором значительно возрастает.

ГТФ-азный цикл запускается при взаимодействии рецептора с агонистом или гормоном. В результате этого взаимодействия рецептор изменяет свою конформацию. Это стимулирует последующие конформационные перестройки  $\alpha$ -субъединицы, в результате чего ее сродство к ГДФ снижается. Поскольку в клетке концентрация ГТФ выше, чем концентрация ГДФ, а сродство  $\alpha$ -субъединицы к ГТФ выше, чем к ГДФ, то в активном сайте ГДФ замещается на ГТФ. После связывания с ГТФ  $\alpha$ -субъединица принимает активную конформацию и диссоциирует как от рецептора, так и от комплекса, прочно связанных между собой,  $\beta\gamma$ -субъединиц. Связь между ними может быть разрушена лишь при денатурации белка.

В стабилизации этого комплекса важнейшую роль играют спираль-спиральные взаимодействия между N-концевыми участками  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц. Образовавшаяся суперспираль дополнительно стабилизируется за счет гидрофобных и ионных взаимодействий между сближенными в пространстве аминокислотными остатками, а также за счет ковалентных дисульфидных связей между Cys25  $\beta_1$ -субъединицы и Cys36 или Cys37  $\gamma$ -субъединицы [58]. Эта способность к образованию прочной связи между субъединицами в  $\beta\gamma$ -димере имеет функциональное назначение. Именно в виде димера  $\beta\gamma$ -субъединицы способны участвовать в ГТФ-азном цикле, а также выполнять другие регуляторные функции.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Условные обозначения</b> . . . . .	3
<b>Введение</b> . . . . .	5
<b>Глава 1. Нейрогормональная регуляция функции кардиомиоцитов</b> . . . . .	9
<b>Глава 2. Аденилатцикловая система и структурная организация сарколеммы кардиомиоцитов</b> . . . . .	27
2.1. Аденилат- и гуанилатцикловые системы кардиомиоцитов в различных отделах сердца . . . . .	27
2.2. Регуляция активности аденилатциклазы кардиомиоцитов в разные периоды онтогенеза . . . . .	33
2.2.1. Рецептор-опосредованная регуляция активности аденилатциклазы кардиомиоцитов в разные возрастные периоды. . . . .	42
2.2.2. G-белок-зависимая регуляция активности аденилатциклазы кардиомиоцитов . . . . .	45
2.3. Роль структуры сарколеммы и липидного микроокружения в регуляции активности аденилатциклазы кардиомиоцитов . . . . .	56
2.3.1. Мембранные компоненты и функция аденилатцикловой системы . . . . .	57
2.3.2. Конформация белков сарколеммы кардиомиоцитов . . . . .	62
2.3.3. Физические характеристики липидного бислоя сарколеммы кардиомиоцитов. . . . .	66
2.3.4. Структурные перестройки сарколеммы кардиомиоцитов, инициированные гормон-рецепторным взаимодействием и температурой . . . . .	69
2.3.5. Липидный состав сарколеммы кардиомиоцитов . . . . .	78
<b>Глава 3. Пострадиационные изменения аденилатцикловой системы кардиомиоцитов</b> . . . . .	99
3.1. Влияние $\gamma$ -излучения различной мощности на аденилатцикловую систему кардиомиоцитов . . . . .	100

3.2. Воздействие ионизирующих излучений в разных дозах на аденилатциклазную систему кардиомиоцитов . . . . .	108
3.3. Возрастные особенности пострадиационных изменений аденилатциклазной системы кардиомиоцитов . . . . .	116
<b>Глава 4. Особенности пострадиационных изменений аденилатциклазной системы кардиомиоцитов при нарушении функции щитовидной железы. . . . .</b>	<b>129</b>
4.1. Аденилатциклазная система кардиомиоцитов при различном тиреоидном статусе организма. . . . .	129
4.2. Влияние острого $\gamma$ -облучения на аденилатциклазную систему кардиомиоцитов после тиреоидэктомии . . . . .	135
4.3. Влияние пролонгированного $\gamma$ -облучения на аденилатциклазную систему кардиомиоцитов при гипотиреозе. . . . .	140
4.4. Аденилатциклазная система кардиомиоцитов экспериментальных животных, содержащихся в зоне радионуклидного загрязнения . . . . .	157
4.4.1. Влияние радионуклидного загрязнения среды на аденилатциклазную систему кардиомиоцитов крыс разного возраста . . . . .	158
4.4.2. Влияние радионуклидного загрязнения среды на аденилатциклазную систему кардиомиоцитов после тиреоидэктомии . . . . .	162
4.4.3. Влияние радионуклидного загрязнения среды на аденилатциклазную систему кардиомиоцитов при гипотиреозе . . . . .	166
<b>Глава 5. Аденилатциклазная система кардиомиоцитов при действии факторов риска нерадиационной природы . . . . .</b>	<b>174</b>
5.1. Аденилатциклазная система кардиомиоцитов при гипокинезии . . . . .	175
5.2. Аденилатциклазная система кардиомиоцитов при стрессе . . . . .	182
<b>Глава 6. Механизмы действия на организм и его системы ионизирующих излучений разной интенсивности . . . . .</b>	<b>192</b>
<b>Заключение . . . . .</b>	<b>237</b>
<b>Литература . . . . .</b>	<b>242</b>
<b>Список публикаций авторов . . . . .</b>	<b>270</b>