

время как среди ДРО аналогичный показатель в старших возрастных периодах наоборот имеет тенденцию к понижению.

В общей когорте ДЛ дети с III-й группой здоровья составляют 44,3%. При этом в группе ДЛ указанный показатель имеет достоверную тенденцию к увеличению с 26,7% в раннем детском возрасте до 49,5% в подростковом периоде ( $P < 0,05$ ). В тоже время в общей популяции ДРО III-я группа здоровья регистрируется значительно реже, в 26,6% ( $P < 0,05$ ), однако также отмечается достоверная тенденция к ее нарастанию в старших возрастных периодах.

Таким образом, комплексная оценка состояния здоровья ДЛ с отнесением к определенным группам здоровья, подтверждает правильность рекомендаций, сделанных международной группой экспертов, о необходимости ведения длительного медицинского мониторинга за детьми облученных родителей с целью выявления отдаленных последствий радиационных воздействий и обеспечения ранней коррекции выявленных нарушений.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адаптационные возможности и критерии формирования патологических состояний у детей, подвергшихся воздействию радиации /Балева Л.С., Пулатова М.К., Сипягина А.Е. и др. //Сб. там. IV МК «Чернобыльская катастрофа: Прогноз, профилактика, лечение и медико-психологическая реабилитация пострадавших». – 1995. – С. 270-271.

2. Вельтищев Ю.Е. Экологически детерминированная патология детского возраста //Рос. вест. перинатол. и пед. - 1996. - № 2. – С. 5-12.

3. Клиническая характеристика нервно - психического статуса детей, рожденных родителями-ликвидаторами последствий радиационных аварий /С.А.Зотова, А.Е.Сипягина, Н.К.Сухотина и др. //Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения, под ред. Балевой Л.С., Москва, 2006, с. 137-141.

4. Карпеева Е.Е., Колосова Л.К. О ходе реализации Федеральной целевой программы «Дети Чернобыля» //Здоровье детей и радиация: актуальные проблемы и решения, под ред. Балевой Л.С., Москва, 2006, с. 8-16.

5. Доклад Министерства здравоохранения Российской Федерации. О состоянии здоровья детей в Российской Федерации (по итогам Всероссийской диспансеризации 2002 года).

#### **ЭФР-ПОДОБНЫЕ МОТИВЫ ОНКОФЕТАЛЬНЫХ БЕЛКОВ КАК ВОЗМОЖНЫЕ СТРУКТУРНЫЕ МАРКЕРЫ ОБЩИХ ФУНКЦИЙ**

Терентьев А.А., Молдогазиева Н.Т.  
*Российский государственный  
медицинский университет*

В течение последнего десятилетия накоплены данные, свидетельствующие о наличии ряда важных общих свойств у онкофетальных белков, к которым принадлежит альфа-фетопротеин (АФП), и полипеп-

тидных факторов роста. В-первых, у этих двух групп негомологичных белков существует ряд общих структурных особенностей, например высокое содержание остатков цистеина, включая наличие сдвоенных цистеинов.

Во-вторых, факторы роста, как и АФП, способны регулировать пролиферацию, дифференцировку, миграцию и апоптоз эмбриональных и опухолевых клеток.

При сравнительном анализе первичных структур альфа-фетопротеина и факторов роста в составе АФП обнаружен структурный мотив, сходный с функционально важным участком эпидермального фактора роста (ЭФР) и, этот мотив характерен также для ряда других белков, содержащих ЭФР-подобные модули. Так, последовательности LDSYQCT в составе АФП (аминокислотные остатки, а.о. 14–20) и LDKYACN в составе ЭФР человека (а.о. 26–32) обладают 57% идентичности (табл.1). Последовательность LDKYACN в составе эпидермального фактора роста человека является важным компонентом основной  $\beta$ -складчатой структуры, входящей в состав петли В и содержит аминокислотные остатки (а.о.), принимающие участие в связывании с рецептором. Исходя из этого, можно предположить, что последовательность LDSYQCT в составе АФП также является частью его рецептор-связывающего участка.

ЭФР-подобные мотивы обнаружены также в составе других белков, принимающих участие в регуляции различных процессов во время эмбрионального развития и опухолевого роста. На этом основании сделано предположение о том, что ЭФР-подобные мотивы, возможно, ответственны за наличие общих функций АФП и факторов роста, и могут рассматриваться в качестве структурных маркеров белков, регулирующих пролиферацию, дифференцировку, миграцию и апоптоз эмбриональных и опухолевых клеток.

#### **БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА ЭФР И ИХ РЕЦЕПТОРЫ**

Эпидермальный фактор роста синтезируется в виде большой молекулы предшественника, препро-ЭФР, состоящей из 1207 а.о., из которой образуется зрелая молекула (53 а.о.). Примечательно, что в состав предшественника входит восемь ЭФР-подобных мотивов и гидрофобный участок, расположенный у C-конца, благодаря которому он может существовать в виде гликозилированного мембранного белка.

Семейство эпидермального фактора роста, кроме самого ЭФР, включает TGF- $\alpha$ , амфирегулин, гепарин-связывающий ЭФР-подобный фактор роста, бетацеллюлин, эпирегулин, томорегулин и различные изоформы неурегулинов (NRG-1, NRG-2, NRG-3 и NRG-4). Все члены этого суперсемейства обладают общностью строения, в именно состоят из 50-60 а.о. и содержат шесть остатков цистеина, образующих три внутримолекулярные дисульфидные связи. Интересно, что аналогичные мотивы содержатся в ряде мембранных белков, а также белках экстрацеллюлярного матрикса, которые участвуют в регуляции пролиферации, миграции и адгезии клеток, а также в белок-белковых взаимодействиях.

Дисульфидные связи формируют три петли: А, В и С, которые образуются благодаря дисульфидным мостикам между C6-C20, C14-C31 и C33-C42, соот-

ветственно (рис 2). Между петлями В и С находится шарнирный участок, образуемый в ЭФР человека аминокислотным остатком N32. С помощью ЯМР спектроскопии показано, что все представители семейства ЭФР имеют сходную пространственную структуру, представленную двумя частично перекрывающимися доменами: N-концевым (а.о. 1-35 в составе ЭФР), содержащим основную, трехцепочечную антипараллельную  $\beta$ -складчатую структуру, и C-концевым (а.о. 30-53), содержащим минорную  $\beta$ -складчатую структуру.

ЭФР осуществляет свое действие с участием мембранного рецептора (РЭФР), который принадлежит к семейству рецепторов ErbB. Это семейство у млекопитающих включает в себя четыре рецептора: ErbB1 (или РЭФР, HER1), ErbB2 (HER2/Neu), ErbB3 (HER3) и ErbB4 (HER4). Рецепторы данного семейства состоят из внеклеточного лиганд-связывающего домена, единственного гидрофобного трансмембранного домена и внутриклеточного домена, обладающего тирозинкиназной активностью (RTK – receptor tyrosine-kinase). Внеклеточный домен РЭФР человека состоит из 619 а.о. и подразделяется на четыре субдомена, обозначаемые I, II, III и IV.

Анализ кристаллической структуры комплекса ЭФР с его рецептором показывает, что в составе РЭФР можно выделить три участка взаимодействия с молекулой лиганда: участок 1 локализован в субдомene I рецептора, а участки 2 и 3 – в субдомene III. Петля В в составе ЭФР (а.о. 20-31) взаимодействуют с участком 1, петля А (а.о. 6-19) и R41 в составе ЭФР взаимодействуют с участком 2, а C-концевая часть и R45 молекулы ЭФР – с участком 3. При этом наиболее важными для взаимодействия оказываются следующие а.о. в составе ЭФР:

1) в составе петли В – это M21, I23, L26 и A30, которые участвуют в гидрофобных взаимодействиях с участком 1 рецептора. Аминокислотный остаток N32 в составе ЭФР участвует в образовании водородных связей. Важность этих а.о. была подтверждена в экспериментах по мутагенезу ЭФР, показавших, что точечные замены этих а.о. приводят к уменьшению или потере связывающей способности.

2) А.о. N10, Y13 и L15 в составе петли А участвуют в образовании гидрофобных связей между ЭФР и участком 2 рецептора.

3) Третью группу составляют а.о. входящие в состав C-концевого участка ЭФР: это L47, который участвует в образовании гидрофобных взаимодействий с а.о. участка 3 рецептора, и R41, Q43 и R45, которые, видимо, образуют водородные связи.

#### АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИН

Как и все секретируемые белки, АФП синтезируется в виде предшественника, из которого путем отщепления сигнального пептида и гликозилирования в ходе процессинга образуется зрелая молекула, полипептидная цепь которой состоит у человека из 591 а.о.. АФП является гликопротеидом с молекулярной массой около 69 кДа и содержанием углеводов до 3–5%. В настоящее время расшифрована первичная структура АФП одиннадцати биологических видов, в том числе, человека, шимпанзе, гориллы, лошади, собаки, свиньи, быка, сурка, мыши, крысы и курицы

(базы данных Swiss-Prot/TrEMBL, GenBank). АФП относится к белкам, богатым остатками цистеина – они составляют 5,4% аминокислотных остатков в его составе, причем половина из них является двояными цистеинами. Остатки цистеина, включая двояные цистеины, характеризуются высокой степенью консервативности – они обнаруживаются в последовательностях всех белков семейства альбумина, к которому принадлежит АФП, и у всех биологических видов. Из 32 остатков цистеина, содержащихся в полипептидной цепи АФП, два первых остатка не участвуют в образовании дисульфидных связей, а остальные образуют 15 равномерно расположенных внутримолекулярных дисульфидных мостиков, образующих цистиновый каркас молекулы.

С использованием метода кругового дихроизма продемонстрировано, что вторичная структура АФП представлена, в основном,  $\alpha$ -спиралью (до 65–67%) и не содержит  $\beta$ -складчатой структуры. Пространственная организация АФП была изучена методом электронной микроскопии, который продемонстрировал существование U-образной структуры с тремя областями плотности масс: одна на вершине и две по краям молекулы. Таким образом, была показана трехдоменная организация молекулы АФП. Домены I, II и III имеют сходную вторичную структуру и содержат 68, 55 и 71%  $\alpha$ -спирали, соответственно, но отличаются параметрами третичной структуры. Домены I и III имеют жесткую, компактно упакованную третичную структуру и связаны между собой протейолитически лабильным, гибким доменом II. C-концевая часть домена II содержит шарнирный участок, который придает всем остальным доменам подвижность и, тем самым, может способствовать взаимодействию АФП с лигандами или с другими белками.

Способность альфа-фетопротейна стимулировать пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток, как эмбриональных, так и опухолевых, опосредуется рецепторами для альфа-фетопротейна, существующими на их поверхности. Однако, строение рецептора для АФП, а также механизмы его действия остаются до сих пор не изученными.

Интенсивные исследования, осуществляемые в течение последнего десятилетия с целью выяснения биологической роли АФП и выявления его функционально важных участков, показали, что альфа-фетопротейн является мультимодульным и полифункциональным белком. В составе АФП обнаружено более двадцати коротких аминокислотных последовательностей, сходных с функционально важными участками ряда физиологически активных белков, в том числе полипептидных факторов роста. Часть из этих последовательностей получена путем химического синтеза в виде отдельных пептидных фрагментов и изучена в различных тестах биологической активности. Локализация таких пептидных сегментов с экспериментально подтвержденной или только предполагаемой функциональной активностью в полипептидной цепи АФП позволила создать его структурно-функциональную карту.

Одним из этих функционально важных участков является гептапептид LDSYQCT, который является ЭФР-подобным мотивом АФП человека. Этот гепта-

пептид был получен методом химического синтеза на твердой фазе и изучен в различных тестах биологической активности. Выяснилось, что синтетический пептид способен регулировать пролиферацию лимфоцитов периферической крови человека, активационный апоптоз клеток больных инфекционным миокардитом и бронхиальной астмой, а также обладает иммуномодулирующей способностью.

#### ОБНАРУЖЕНИЕ ЭФР-ПОДОБНЫХ МОТИВОВ

Как уже упоминалось ранее, в составе АФП обнаружен структурный мотив, сходный с участком петли В в составе ЭФР человека. Это последовательности LDSYQCT в составе АФП (а.о.14–20) и LDKYACN в составе ЭФР человека (а.о. 26–32), которые обладают 57% идентичности и 86% суммарного сходства (с учетом консервативных замен а.о.). Примечательно, что аналогичный мотив обнаружен также в составе томорегулина, а также трансформирующих факторов роста TGF- $\beta$ 1 и TGF- $\beta$ 2 человека (табл.1 и 2). Следовательно, в составе АФП и TGF- $\beta$ , не относящихся к семейству ЭФР и не гомологичных факторам роста семейства ЭФР, обнаруживается ЭФР-подобный мотив, что указывает на существование структурных предпосылок для наличия общих функциональных свойств. Интересно также, что структурные мотивы, сходные с ЭФР-подобным мотивом АФП, но уже в инвертированном виде обнаруживаются в составе ряда белков семейства ЭФР. Это последовательности RCENADL (а.о. 40–46) в составе TGF- $\alpha$ , RCERVDL (а.о. 40–46) в составе бетацеллюлина, PCRDKDL (а.о. 5–11) в составе NRG-3, а также RCQYRDL (а.о. 41–47) в составе самого ЭФР человека.

#### ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭФР-ПОДОБНЫХ МОТИВОВ

Как уже описывалось ранее, последовательность LDKYACN в составе ЭФР человека (а.о. 26–32) содержит аминокислотные остатки, участвующие в связывании с рецептором. Это L26, A30 и N32, образующие гидрофобные и водородные связи с рецептором. На основании сравнения ЭФР-подобных мотивов различных белков, можно сделать предположение о том, что аминокислотные остатки в их составах также могут участвовать во взаимодействии с рецептором. Так, сравнение последовательности LDSYQCT в составе АФП (а.о.14–20) с последовательностью LDKYACN в составе ЭФР человека (а.о. 26–32) показывает, что аминокислотным остаткам L26 и A30 соответствуют L14 и Q18 в составе АФП человека, которые также способны участвовать в гидрофобных взаимодействиях. А остатку N32 соответствует T20, гидроксильная группа которого также может участвовать в образовании водородных связей.

Четыре из семи а.о. инвертированного гептапептида RCQYRDL (а.о. 41–47) в составе ЭФР человека, а именно R41, Q43, R45, L47 участвуют во взаимодействии с рецептором. Если сравнивать эти две последовательности ЭФР человека (LDKYACN и RCQYRDL), то L47 соответствует L26, Q43 соответствует A30, а R41 – N32, и боковые цепи этих а.о. участвуют в образовании гидрофобных или водородных взаимодействий. Видимо, взаимодействие ЭФР с его рецептором осуществляется, в основном, без уча-

стия СО- и NH-групп остова полипептидной цепи, т.е. направление полипептидной цепи не имеет значения. В этом случае можно предполагать, что инвертированные последовательности, обнаруженные в составе других факторов роста семейства ЭФР, также могут принимать участие в связывании с рецептором.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, альфа-фетопроtein и факторы роста семейства ЭФР и TGF- $\beta$  демонстрируют ряд сходных структурно-функциональных свойств, среди которых, в первую очередь, хотелось бы выделить наличие сходных пептидных мотивов, в том числе и в инвертированном виде. Наличие сходных пептидных мотивов создает структурные предпосылки для существования общих функциональных свойств у этих двух групп негомологичных белков. Можно предположить, что наличие ЭФР-подобных мотивов может служить структурным маркером участия белков в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки, миграции и апоптоза как эмбриональных, так и опухольных клеток.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ КРИТИЧЕСКИХ ПЕРИОДОВ В РАЗВИТИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Удочкина Л.А.

*Астраханская государственная  
медицинская академия,  
Астрахань*

Цель исследования: выявить критические периоды в развитии щитовидной железы.

Эксперимент проведен на 75 белых беспородных крысах-самцах в возрасте 1 суток (новорожденные), 22–50 суток (неполовозрелые), 51–120 суток (предслучный возраст), 11–18 месяцев (зрелый) и 25–28 месяцев (старческий), из которых 50 вошли в экспериментальные группы и 25 - в контрольные.

Затравка подопытных животных осуществлялась в течение 40 минут обезвоженной газо - воздушной смесью с концентрацией газа  $600 \pm 83$  мг/м<sup>3</sup> по сероводороду в осеннее – зимний период в камере Курляндского статическим методом в соответствии с требованиями, предъявляемыми к токсикологическим экспериментам, изложенными в издании ВОЗ «Принципы и методы оценки токсичности химических веществ» (1981).

По окончании эксперимента экспериментальные и контрольные животные выводились из эксперимента путем декапитации. Железы фиксировались в 10% растворе формалина на фосфатном буфере и заливали в парафин. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином-эозином и «азаном» по Гейденгайну.

Выбор параметров для морфометрического исследования проводился с учетом рекомендаций, представленных в работах В.Л.Быкова (1979 а, б), О.К.Хмельницкого и М.С. Третьяковой (1997, 1998), А.В.Безденежных и Н.И.Петровой (2000).

При анализе гистологических препаратов животных, подвергавшихся воздействию серосодержащего газа, выявлена мозаичность строения железы: наличие участков нормальной структуры и областей деструк-