

**Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования «Сибирский государственный
медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской
Федерации**

**Кафедра молекулярной медицины и клинической лабораторной
диагностики**

**Кафедра биохимии и молекулярной биологии
НОЦ молекулярной медицины**

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА ПРИ Т-ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Наумова Анастасия Ивановна

naumova_nastya09@mail.ru

**Научные руководители – д.м.н., проф. Рязанцева Н. В.,
д.м.н., проф. Степовая Е. А., к.м.н. Носарева О. Л.**

Санкт-Петербург – 2013 г.

Актуальность исследования:

- За последние годы приоритетным научным направлением в области молекулярной биологии является изучение дизрегуляции апоптоза наряду с формированием окислительного стресса при социально-значимых заболеваниях



Клетка, подвергнувшаяся апоптозу

**Окислительный
стресс**

Повреждение
внутриклеточных
белковых молекул

Защита белков от
окислительной
модификации

Регуляция
функциональной
активности белков, в
том числе
регуляторов
апоптоза

Образование S-S
связи между SH-
группами белков
и глутатионом

Цель исследования:

- Исследовать состояние системы глутатиона при Т-лимфобластном лейкозе человека (опухолевая линия Jurkat) и в лимфоцитах крови

Задачи исследования:

- Определить уровень ОН[•] в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови;
- Оценить уровень общего, восстановленного, окисленного, белково-связанного глутатиона, концентрацию SH-групп в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови;
- Определить активность глутатион-пероксидазы и глутатионредуктазы в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови;
- Определить количество аннексин-положительных опухолевых клеток линии Jurkat и лимфоцитов крови

Объекты исследования



Опухолевая
клеточная линия
Jurkat (Т-лимфо-
бластный лейкоз
человека)
(n=15)



Лимфоциты
периферической
крови здоровых
доноров (7 мужчин и
8 женщин, 20-35 лет)
(n=15)

Методы исследования:

1. Оценка реализации апоптоза клеток

1.1. Определение количества аннексин-положительных клеток

2. Оценка параметров системы глутатиона

2.1. Определение концентрации восстановленного глутатиона (GSH)

2.2. Определение концентрации окисленного глутатиона (GSSG)

2.3. Определение концентрации общего GSH + GSSG

2.4. Определение концентрации SH – групп белков

2.5. Определение концентрации белково-связанного глутатиона

2.6. Определение активности глутатионредуктазы (ГР)

2.7. Определение активности глутатионпероксидазы (ГП)

3. Оценка окислительного стресса

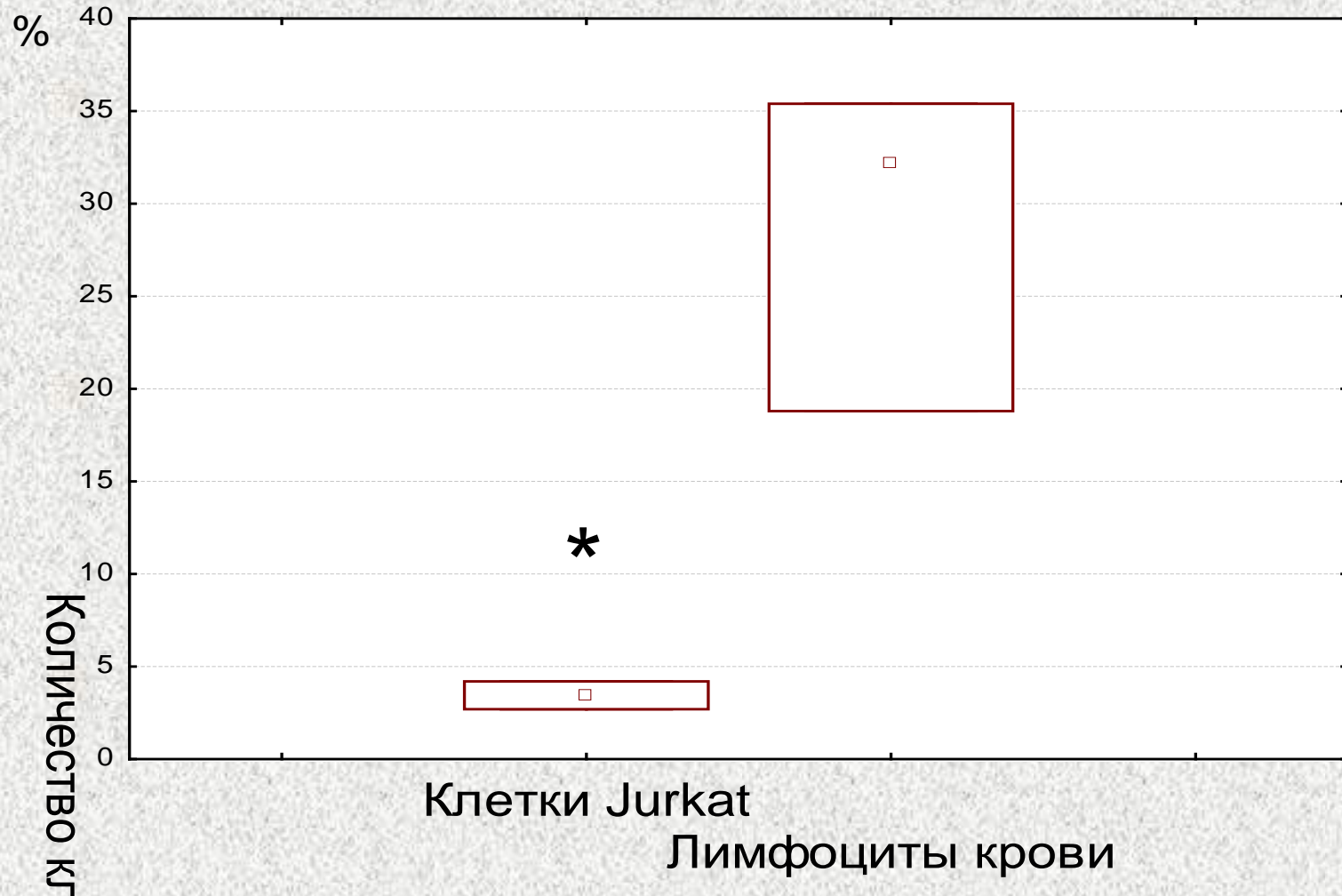
3.1. Вычисление соотношения GSH/GSSG

3.2. Определение концентрации гидроксильного радикала

4. Статистическая обработка результатов

4.1. Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$

Количество аннексин-положительных опухолевых клеток линии Jurkat и лимфоцитов крови



* - уровень значимости различий по сравнению с лимфоцитами крови ($p < 0,05$)

Опухолевый рост (Т-лимфобластный лейкоз человека)

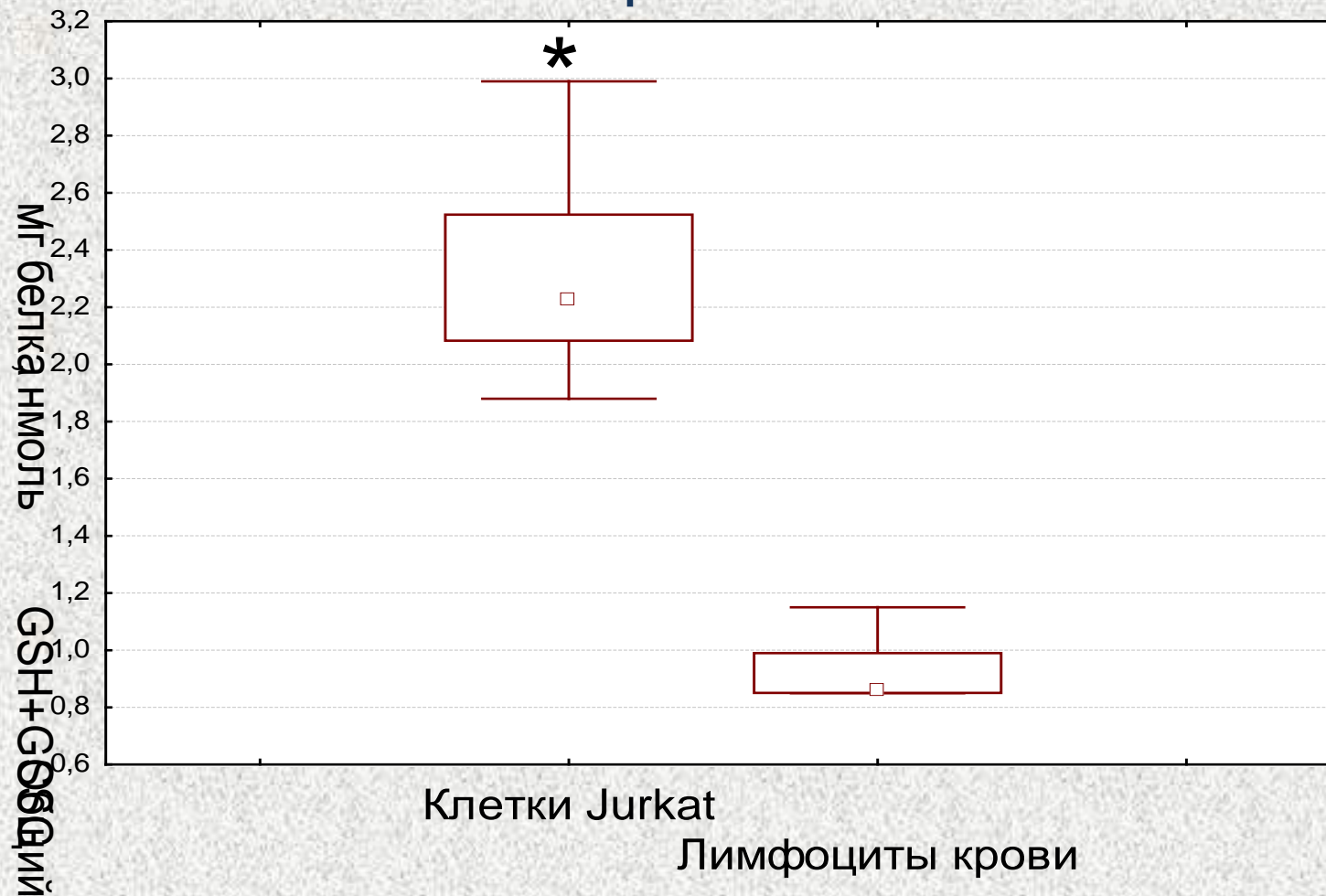


Ускользание опухолевых клеток от процессов клеточной гибели



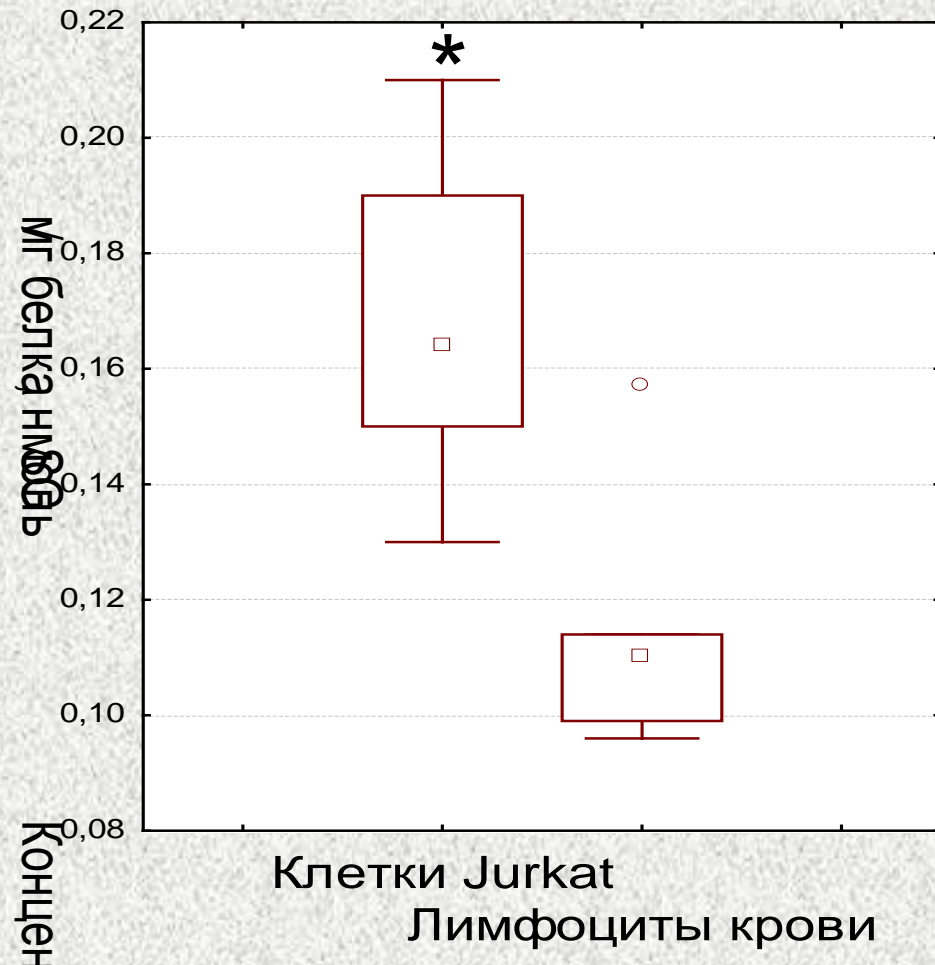
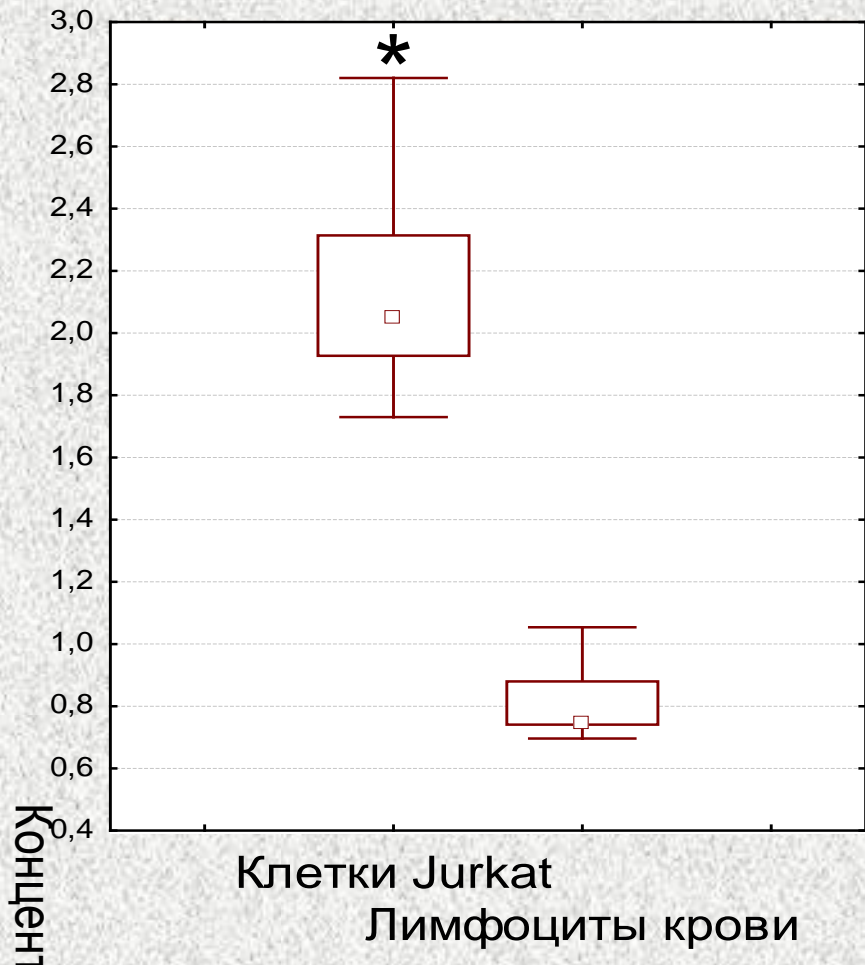
Уменьшение аннексин-положительных клеток

Концентрация общего глутатиона (GSH+GSSG) в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови



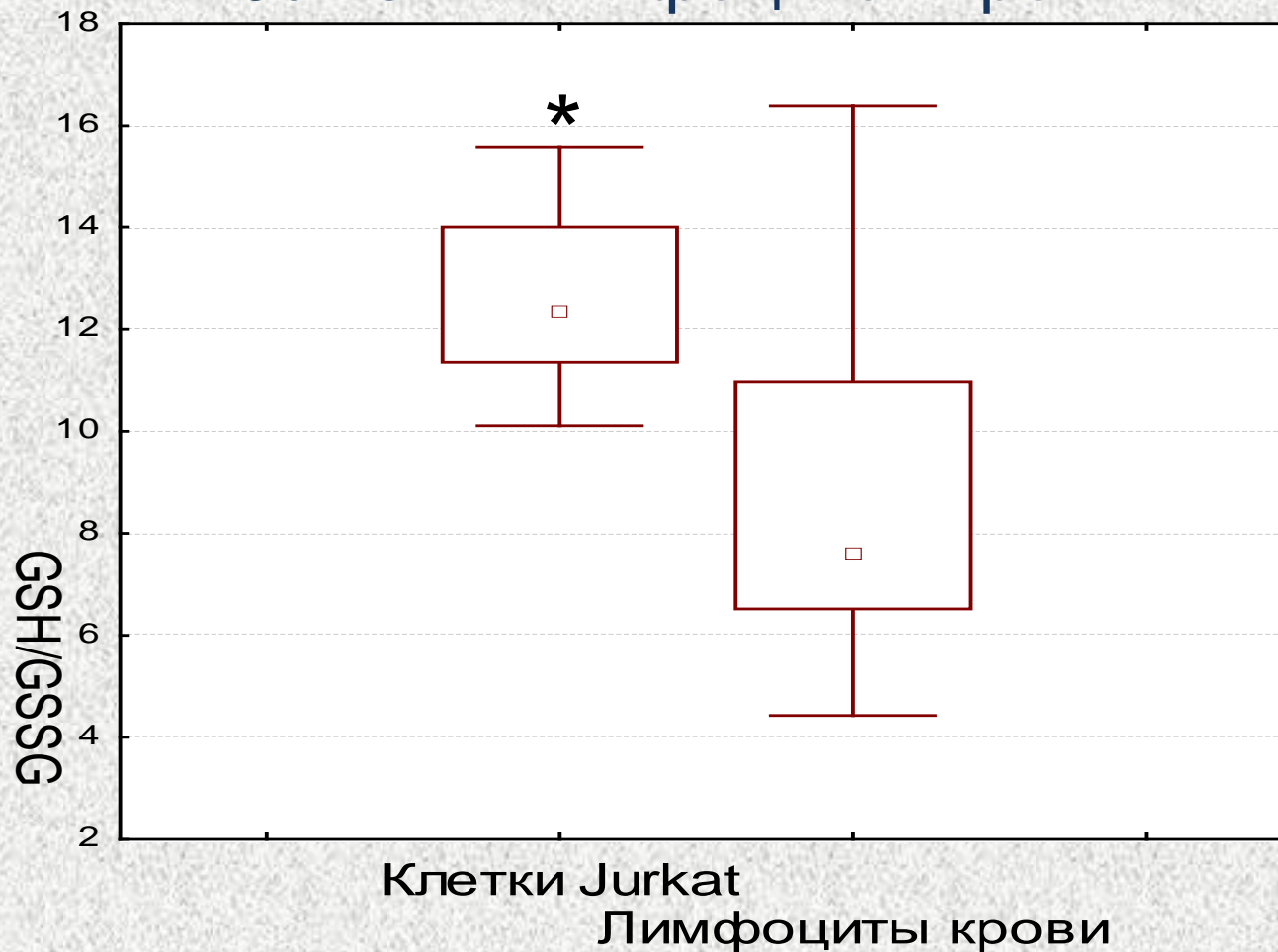
*
- уровень значимости различий по сравнению с лимфоцитами крови ($p < 0,05$)

Концентрация восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови



* - уровень значимости различий по сравнению с лимфоцитами крови ($p < 0,05$)

Отношение восстановленного (GSH) глутатиона к окисленному (GSSG) в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови

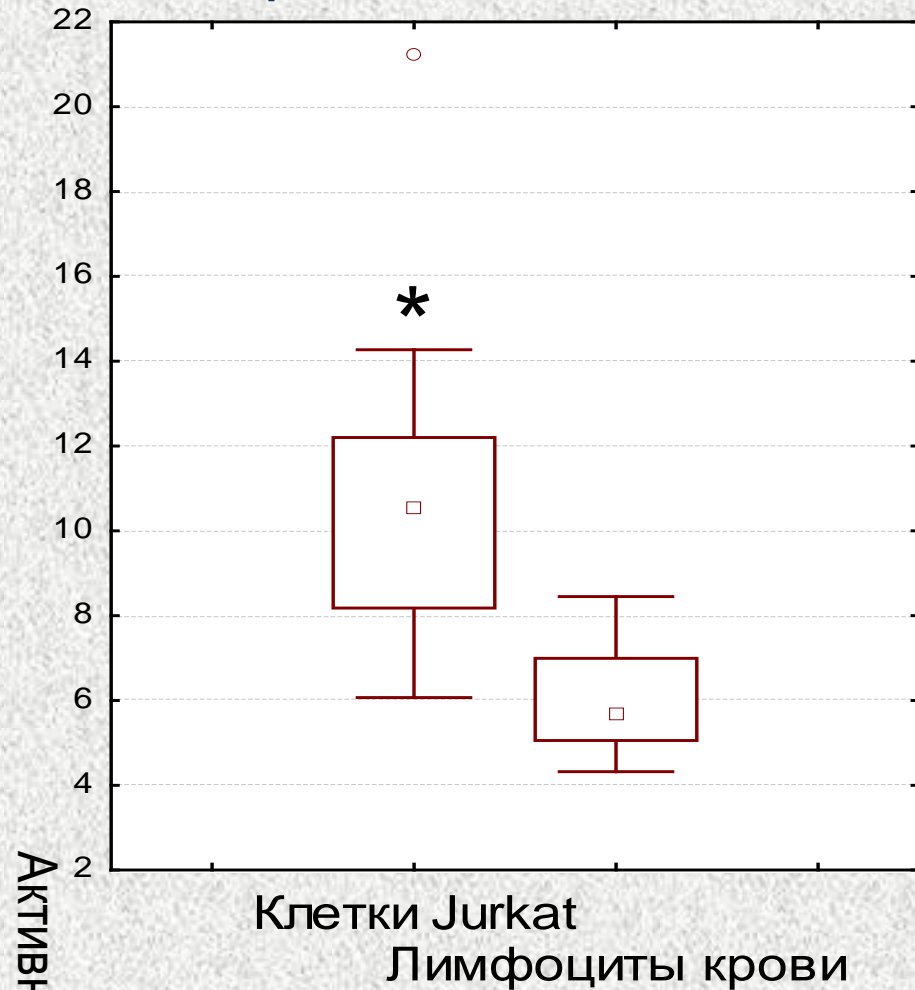
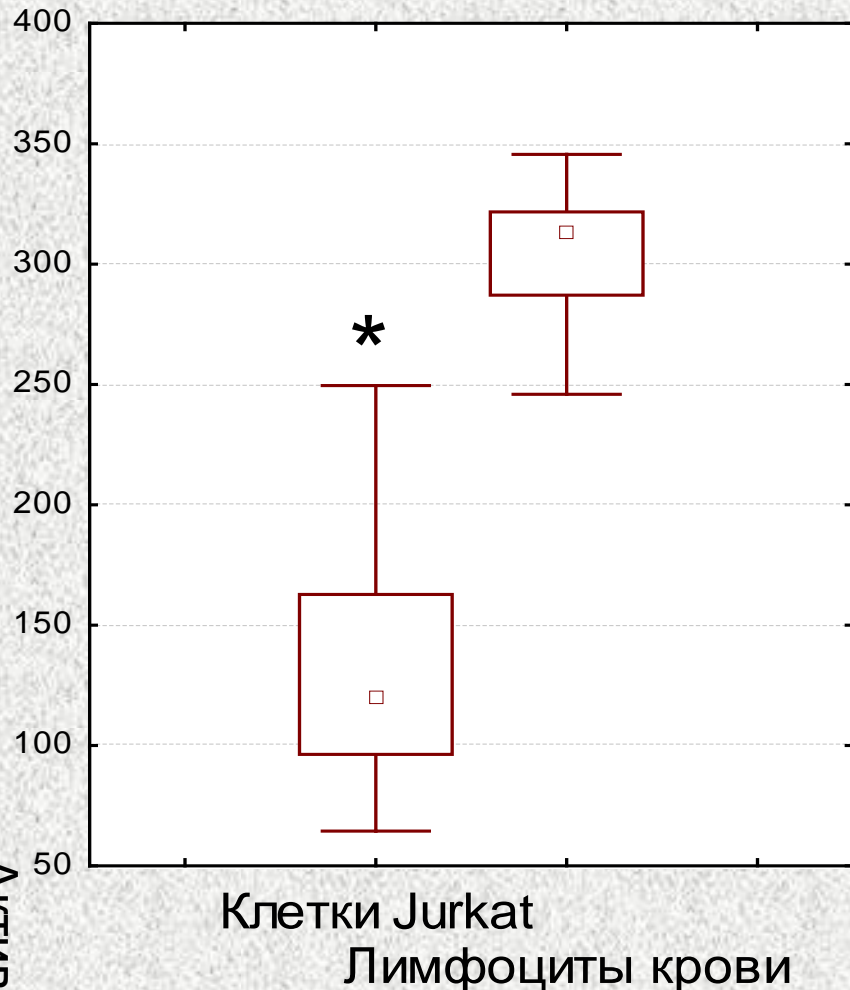


*

- уровень значимости различий по сравнению с лимфоцитами

крови ($p < 0,05$)

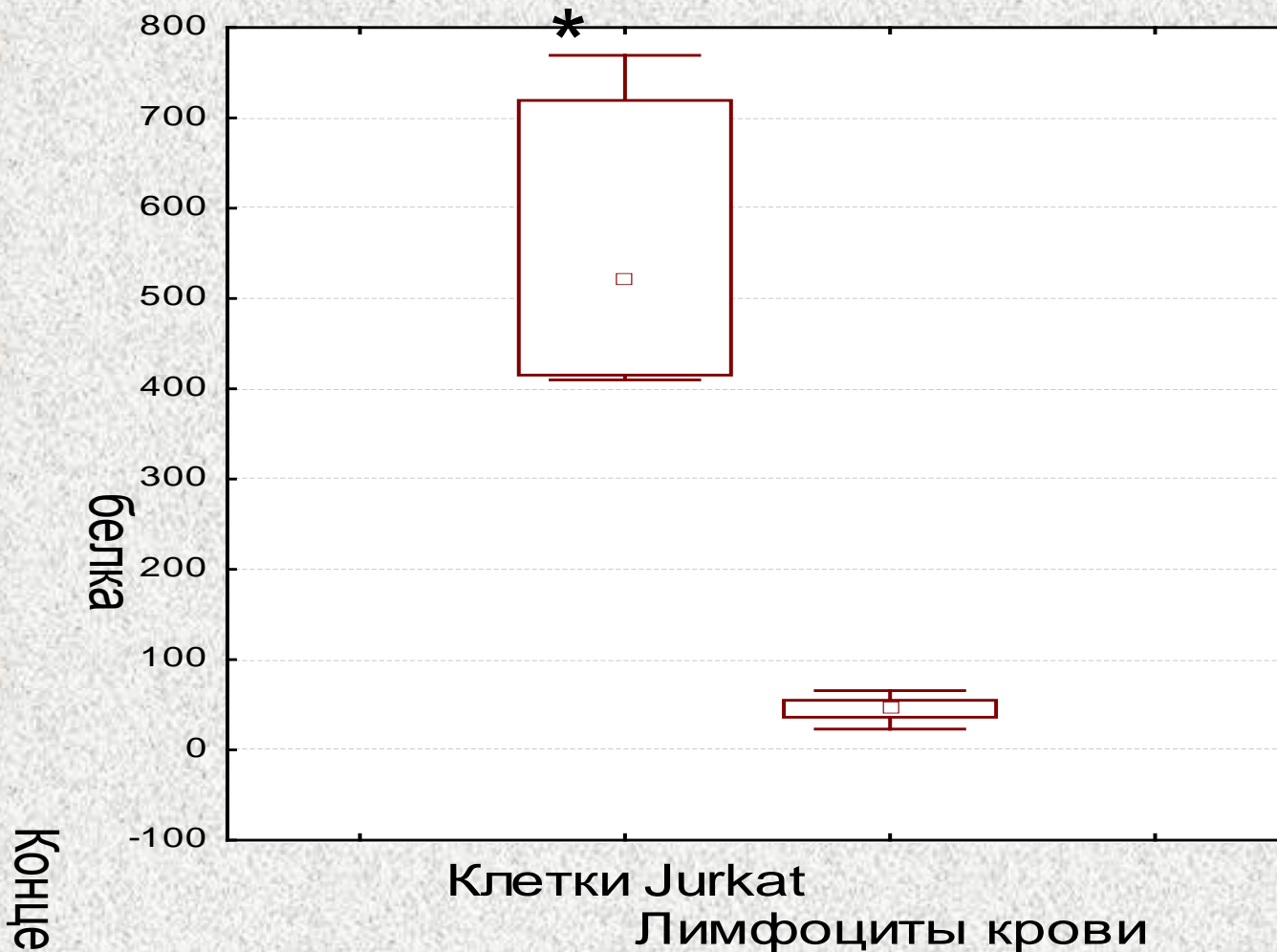
Активность глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП) в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови



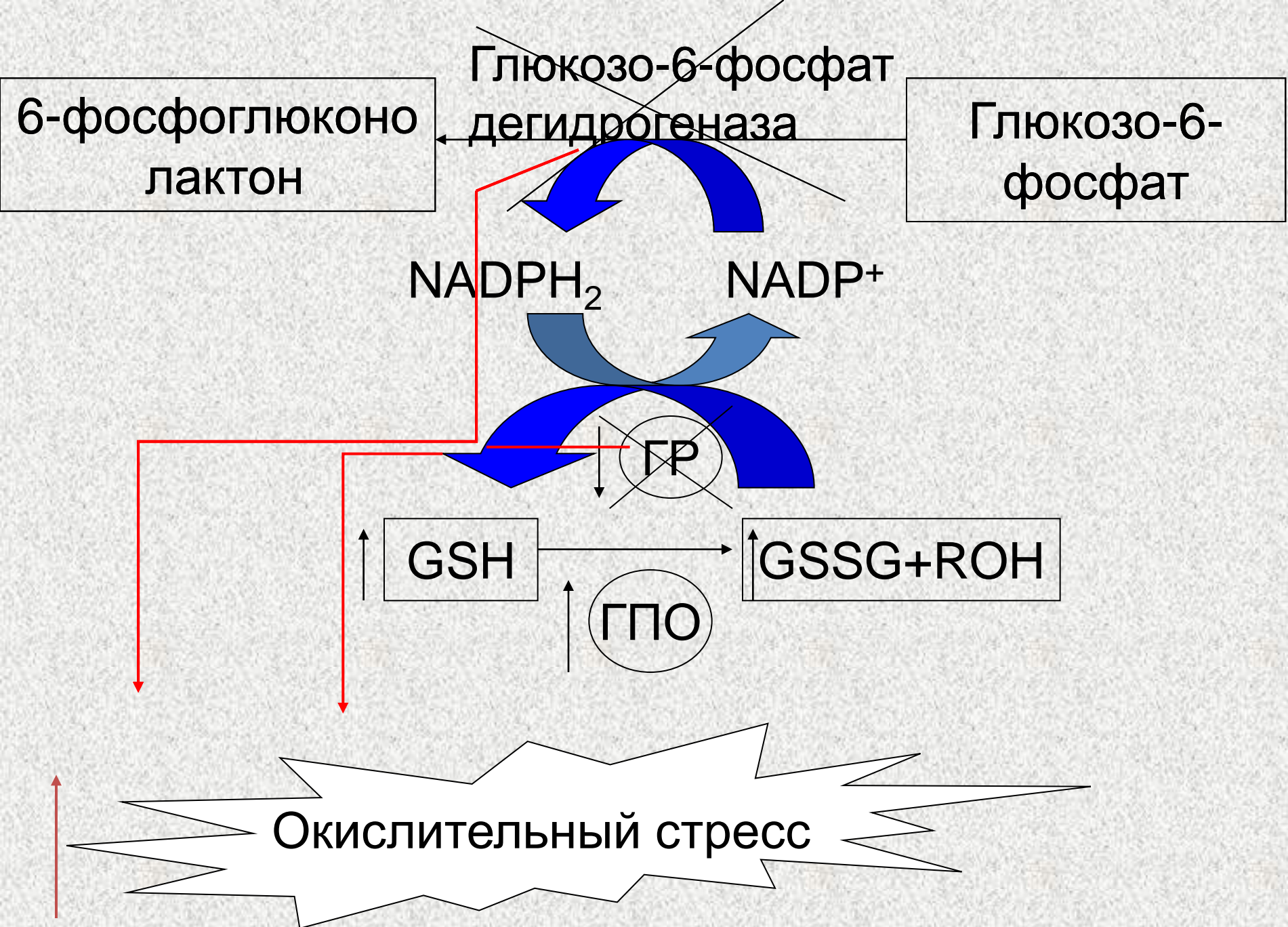
* - уровень значимости различий по сравнению с лимфоцитами

крови ($p < 0,05$)

Концентрация гидроксильного (ОН•) радикала в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови



*
- уровень значимости различий по сравнению с лимфоцитами крови ($p < 0,05$)



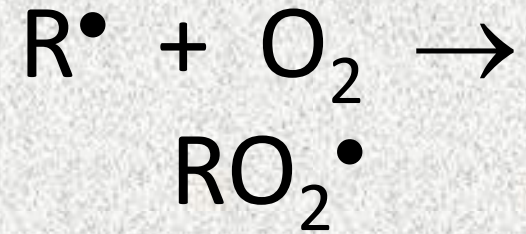
Концентрация белково-связанного глутатиона (БСГ) в опухолевых клетках линии Jurkat и лимфоцитах крови



*

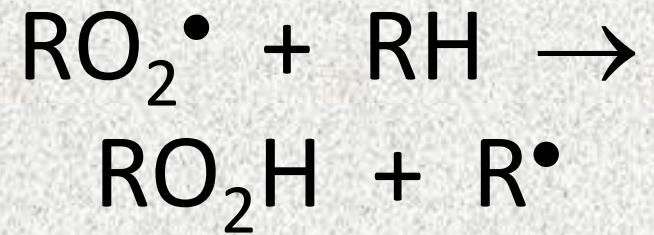
- уровень значимости различий по сравнению с лимфоцитами крови ($p < 0,05$)

ОН•: отнимает «Н» в ПНЖК, липидах



↑ ГП

↑ RO₂H



ROH + H₂O

↑ GSH

↑ GSSG

Белок — SSG

Белок $\begin{cases} \text{SSG} \\ \text{SSG} \end{cases}$

Изменение активности белков, в том числе регуляторов апоптоза

↓ ГР

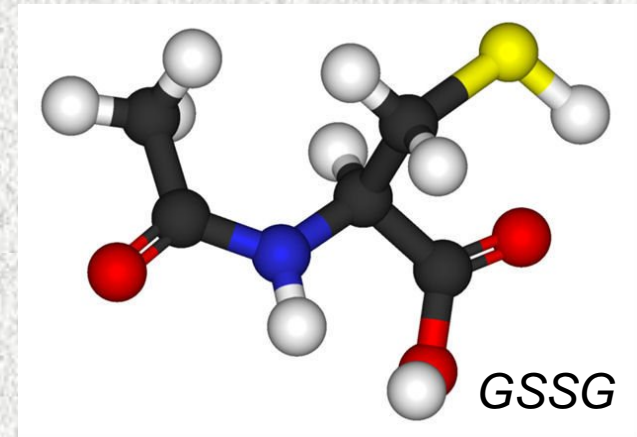
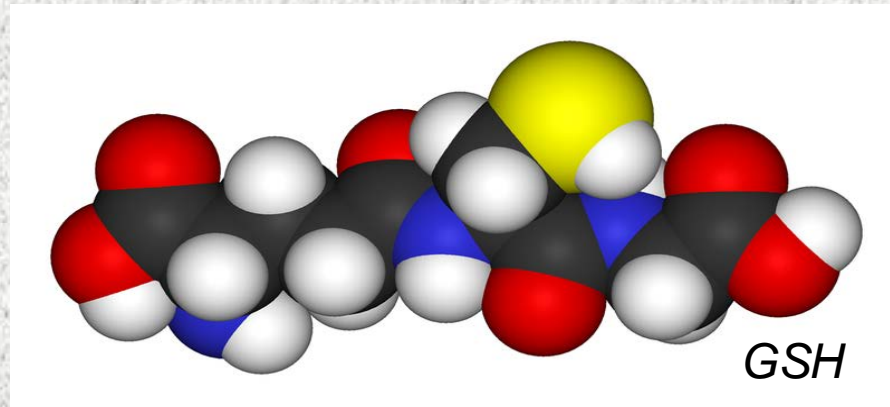
Увеличение
концентрации
БСГ в
опухолевых
клетках

Снижение аннексин-
положительных
клеток опухолевой
линии Jurkat

Глутатионилирование белков-
регуляторов апоптоза

Выводы:

1. Установлен дисбаланс системы глутатиона при Т-лимфобластном лейкозе (опухолевая линия Jurkat)
2. Увеличение содержания белково-связанного глутатиона в клетках Т-лимфобластного лейкоза может способствовать ускользанию опухолевых клеток от апоптоза



Данное исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках государственных соглашений №8302; №16.120.11.614-НШ; ГК №16.512.11.2282



Благодарю за
внимание!

