

МЕХАНИЗМЫ УФ-ИНДУЦИРОВАННОГО АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

М.А. Наквасина, В.Г. Артюхов, М.С. Трубицына, О.В. Лидохова

Воронежский государственный университет, кафедра биофизики и биотехнологии,
394006, Россия, Воронеж, Университетская пл., 1, **E-mail:** artyukhov@bio.vsu.ru

УФ-свет известен как потенциальный индуктор апоптоза в различных типах клеток. Однако молекулярные механизмы этого процесса и последовательность начальных этапов развития клеточной гибели в условиях облучения изучены далеко не полностью. Остаются открытыми вопросы, касающиеся выявления способов запуска различных путей реализации апоптоза в условиях воздействия УФ-света.

В связи с этим исследованы механизмы и последовательность этапов апоптоза лимфоцитов крови доноров в условиях воздействия УФ-света (240-390 нм) в дозах 151, 1510 и 4530 Дж/м².

Установлено, что повышение уровня экспрессии рецепторов смерти (Fas-рецепторы, CD95) лимфоцитов через 4 и 5 часов после УФ-облучения связано не только с демаскированием ранее скрытых молекул Fas-рецепторов лимфоцитарных мембран, но и с синтезом их новых молекул.

Обнаружено, что через 8 и 24 ч, 6 и 8 ч после облучения лимфоцитов соответственно в дозах 151 и 1510 Дж/м² наблюдается статистически достоверное повышение уровня активности ключевой эффекторной каспазы-3 по отношению к таковому для немодифицированных клеток. После облучения лимфоцитов в дозе 3020 Дж/м² и последующей инкубации клеток в течение 2, 4, 6 и 24 ч выявлено статистически достоверное снижение уровня функциональной активности каспазы-3 по отношению к контрольным образцам.

Установлено, что УФ-свет индуцирует фрагментацию ДНК лимфоцитов после 20 ч инкубации модифицированных клеток.

С использованием метода ДНК-комет выявлено, что повреждения ДНК (однонитевые разрывы) появляются сразу после УФ-облучения лимфоцитов в дозах 1510 и 3020 Дж/м² (кометы типа C1) и достигают максимума через 6 ч после модификации клеток (кометы типов C2 и C3).

Установлено, что через 6 ч после воздействия УФ-света в дозах 1510 и 3020 Дж/м² на лимфоциты происходит повышение уровня p53 в исследуемых клетках.

Выявлено, что облучение лимфоцитов в дозе 151 Дж/м² приводит к статистически достоверному увеличению уровня функциональной активности теломеразы по сравнению с величиной исследуемого параметра нативных клеток. Шестичасовая инкубация облученных в дозе 151 Дж/м² лимфоцитов сопровождается снижением уровня теломеразы по отношению к таковому для неинкубированных фотомодифицированных клеток. УФ-модификация лимфоцитов в дозе 1510 Дж/м² приводит к снижению показателя активности теломеразы после облучения и шестичасовой инкубации лимфоцитарных клеток.

Обнаруженные нами повреждения ДНК и рост количества p53 в лимфоцитах после воздействия УФ-света в дозах 151 и 1510 Дж/м² по сравнению с интактными клетками свидетельствуют о запуске p53-зависимого пути апоптоза. Белок p53 влияет как на рецепторопосредованный, так и на митохондриальный пути индукции апоптоза. Действуя на митохондриальный путь, p53 репрессирует транскрипцию антиапоптозного белка Bcl-2 и активирует транскрипцию проапоптозных белков Bax, Noxa, p53AIP1 и Puma. Кроме того, p53 активирует транскрипцию гена APAF1, повышает чувствительность клеток к внешним проапоптозным факторам, стимулируя транскрипцию генов Fas (APO1) и KILLER/DR5.

Нами показано, что повышение уровня кальция в цитозоле фотомодифицированных в дозе 1510 Дж/м² лимфоцитов обусловлено выходом Ca²⁺ из внутриклеточных депо в результате активации компонентов фосфоинозитидного механизма передачи информации в клетку. Выдвинуто представление о взаимосвязи между изменением уровня кальция и инициацией программированной клеточной гибели лимфоцитов человека в условиях воздействия УФ-света.

Полученные результаты указывают на ведущую роль рецепторопосредованного (Fas-зависимого) каспазного и p53-зависимого путей в реализации апоптоза лимфоцитов, индуцированного воздействием УФ-света в дозах 151 и 1510 Дж/м². В случае УФ-облучения лимфоцитов в дозе 3020 Дж/м² можно предположить участие рецепторопосредованного без участия каспазы-3 (с участием каспазы-12), p53-зависимого и каспазонезависимого путей реализации программированной клеточной гибели.

Предложена схема возможных внутриклеточных событий, приводящих к апоптотической гибели лимфоцитов после их УФ-облучения.

MECHANISMS OF UV-INDUCED HUMAN LYMPHOCYTES APOPTOSIS

M. A. Nakvasina, V. G. Artyukhov, M. S. Trubitsyna, O. V. Lidohova

Voronezh State University, Voronezh, 394006 Russia, E-mail: artyukhov@bio.vsu.ru