

4-12

ISSN 0002-354X

ДОКЛАДЫ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ
НАУК БЕЛАРУСИ

ТОМ 56



4

ИЮЛЬ – АВГУСТ

2012

55
лет
журналу

ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

Выходит шесть номеров в год

Журнал основан в июле 1957 года

МИНСК, БЕЛОРУССКАЯ НАУКА, 2012, ТОМ 56, № 4

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Редакционная коллегия:

М. В. Мясникович (главный редактор),
А. М. Русецкий (заместитель главного редактора),
С. Я. Килин (заместитель главного редактора),
И. М. Богдевич, Н. А. Борисевич, Г. А. Василевич, П. А. Витязь,
И. Д. Волотовский, И. В. Гайшун, В. Г. Гусаков, И. В. Залуцкий, О. А. Ивашкевич,
Н. А. Изобов, А. Ф. Ильющенко, Н. С. Казак, А. А. Коваленя,
Ф. Ф. Комаров, И. В. Котляров, В. А. Лабунов, Ф. А. Лахвич, О. Н. Левко,
А. И. Лесникович, В. Ф. Логинов, А. А. Махнач, А. А. Михалевич, П. Г. Никитенко,
О. Г. Пенязьков, Ю. М. Плескачевский, А. Ф. Смянович, Л. М. Томильчик,
В. М. Федосюк, Л. В. Хотылева, С. А. Чижик, И. П. Шейко

Адрес редакции:

220072, Минск, ул. Академическая, 1, к. 119,
тел. 284-19-19

<http://nasb.gov.by/rus/publications/dan/>

E-mail: doklady@open.by

СОДЕРЖАНИЕ

МАТЕМАТИКА

Янович Л. А., Худяков А. П. Формулы линейной операторной интерполяции с произвольным числом узлов и с произвольными входными функциями.	5
Осиновская А. А., Супруненко И. Д. Унипотентные элементы из подсистемных подгрупп типа A_3 в представлениях специальной линейной группы.	11
Забрейко П. П., Таныгина А. Н. О сходимости метода Ньютона–Канторовича при условии Гальперина–Ваксмана	16
Бударина Н. В., Берник В. И., О’Доннелл Х. Действительные алгебраические числа третьей степени в коротких интервалах.	23
Деменчук А. К. Управление асинхронным спектром линейных систем с зависимыми блоками полного столбцового ранга.	27

ФИЗИКА

Жестков С. В., Новашинская В. С. О существовании $(1 + 2)$ -мерных солитонов кирального уравнения Шредингера со степенным законом нелинейности	32
---	----

Кудряшов В. В., Баран А. В. Радиальные волновые функции для модифицированного потенциала Пешля–Теллера в объединенном вариационно-квазиклассическом приближении	37
Толкачев Е. А. Классификация спиноров в бикватернионах: динамика и дискретные симметрии	43
Томильчик Л. М. Описание ускоренного расширения Вселенной без темной энергии	48

ХИМИЯ

Анищенко И. В., Кашин И. А., Тузиков А. В., Андрианов А. М. Анализ энергии специфических взаимодействий гликолипидов – потенциальных анти-ВИЧ агентов – с петлей V3 белка gp120 оболочки вируса	57
Климович Е. Н., Сыса А. Г., Киселев П. А. Гидропероксидзависимая монооксигеназная активность клеточной линии аденокарциномы молочной железы MCF-7	64

БИОЛОГИЯ

Лагоненко Л. Л., Лагоненко А. Л., Евтушенков А. Н. Конструирование и характеристика делеционного мутанта <i>Erwinia amylovora</i> по системе секреции III типа	67
Кужир Т. Д., Савина Н. В., Ершова-Павлова А. А., Першин И. Г., Кудрейко Н. П., Юревич Л. П., Ломако О. П., Гончарова Р. И. Оценка стабильности генома лимфоцитов у людей, занятых в автомобильном производстве	72
Лемеш В. А., Богданова М. В., Хотылева Л. В. Полиморфизм микросателлитных локусов сортов льна масличного.	77

МЕДИЦИНА

Сидорович Р. Р., Смянович А. Ф. Алгоритм хирургического лечения последствий травматического повреждения плечевого сплетения с учетом результатов оперативных вмешательств на его структурах и реконструктивных операций мышечной и сухожильно-мышечной транспозиций.	83
Гончаров А. Е., Титов Л. П., Романова И. В., Скрягин А. Е., Солодовникова В. В., Шпаковская Н. С., Скрягина Е. М. Оптимизация метода получения дендритных клеток из гемопоэтических стволовых клеток костного мозга для иммунотерапии пациентов с туберкулезом	94

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

Дьячкова Л. Н., Леонов А. Н., Витязь П. А., Дечко М. М. Закономерности высокотемпературной инфильтрации при получении антифрикционных материалов системы железо–медь.	103
Вишневский К. В., Шашок Ж. С., Крауклис А. В., Прокопчук Н. Р., Жданок С. А. Долговечность эластомерных композиций, содержащих углеродные наноматериалы.	111
Ахрамович А. П., Колос В. П., Михалевич А. А., Сикорин С. Н. О возможности создания высокоэнергонапряженного ядерного реактора на низкообогащенном топливе.	115

АГРАРНЫЕ НАУКИ

Танана Л. А., Епишко Т. И., Шейко И. П., Трахимчик Р. В. Показатели молочной продуктивности дочерей быков-производителей – носителей синдрома иммунодефицита крупного рогатого скота (BLAD)	119
--	-----

Редактор Т. П. Петрович
Компьютерная верстка С. Э. Былино

Сдано в набор 08.08.2012. Выпуск в свет 24.08.2012. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 154 экз. Заказ 159.

Цена номера: индивидуальная подписка – 34 550 руб.; ведомственная подписка – 86 201 руб.

Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука». ЛИ № 02330/0494405 от 27.03.2009.
Ул. Ф. Скорины, 40, Минск, 220141. Свидетельство о регистрации № 387 от 18.05.2009.

Отпечатано в РУП «Издательский дом «Беларуская навука».

© «Издательский дом «Беларуская навука»
Доклады НАН Беларуси, 2012

УДК 577.152.1

Е. Н. КЛИМОВИЧ, А. Г. СЫСА, П. А. КИСЕЛЕВ

**ГИДРОПЕРОКСИДЗАВИСИМАЯ МОНООКСИГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ
КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ MCF-7**

(Представлено членом-корреспондентом С. А. Усановым)

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск

Поступило 21.03.2012

Один из возможных механизмов развития аденокарциномы молочной железы связывают с окислительным метаболизмом эстрогенов цитохром Р-450-содержащей монооксигеназной системой [1; 3; 4; 12; 15]. Для протекания монооксигеназных реакций необходима NADPH-цитохром-Р-450-редуктаза, однако вне печени ее активность часто выражена слабо либо не обнаруживается вообще. В то же время известно, что при протекании раковых заболеваний регистрируется повышенный уровень активных форм кислорода, включая гидропероксиды липидов [5–8; 13]. Для цитохрома Р-450 микросом печени показана возможность замены электрон-транспортных белков на активированные формы кислорода (в «шунтированных» системах) [2; 9–11; 14]. Однако данные о возможности протекания монооксигеназных процессов с участием активированных форм кислорода в опухолевых клетках и, в частности, в клеточной линии аденокарциномы молочной железы MCF-7 в литературе отсутствуют.

Цель работы – оценка потенциальных свойств гидропероксида кумола (ГПК) в качестве источника активированного кислорода при протекании монооксигеназных процессов в клеточной линии аденокарциномы молочной железы MCF-7 и кинетическая характеристика монооксигеназной активности в гидропероксид- и NADPH-зависимых системах.

Материалы и методы исследования. *Реактивы.* RPMI-1640 (Lonza, Бельгия); L-глутамин, раствор Версена (Stem Cell Technologies Inc., Канада); эмбриональная телячья сыворотка (HyClone, США); диметилсульфоксид (Panreac, Испания); пенициллин, стрептомицин (ПанЭко, Россия); никотинамид-адениндинуклеотид-фосфат восстановленный (NADPH), бычий сывороточный альбумин (Serva, Германия); трис-(оксиметил)-аминометан, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) (Реахим, РФ); 7-этоксирезорурфин (Sigma, США); NaOH (Lachema, Чехия); дезоксихолат Na (Fluka, Германия); NaCl, реактив Фолина, HCl, K, Na-винно-кислый, Na₂CO₃, CuSO₄ (Анализ Х, Беларусь).

Культивирование клеток и индукция. Монослойную клеточную культуру MCF-7 культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 4 мМ L-глутамина, 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, при 37 °С во влажной атмосфере с 5 % CO₂. Для индукции клеточных изоформ цитохрома Р-450 использовали 10 нМ раствор 2,3,7,8-тетрахлородибензо-р-диоксина (ТХДД) в диметилсульфоксиде (объем растворителя в культуральной среде не превышал 0,1 %). Индукцию начинали проводить, когда клетки заполняли 70–80 % культурального флакона. Для этого культуральную среду меняли на новую, не содержащую сыворотку, а затем в культуральный флакон добавляли эмбриональную телячью сыворотку с предварительно растворенным в ней ТХДД. Индукция длилась 72 ч.

Получение клеточного лизата. После завершения индукции питательную среду сливали, клеточную культуру промывали раствором Версена. Клетки механическим путем снимали с культуральных флаконов и растворяли в буфере (50 мМ Трис-HCl, 100 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 1 мМ ФМСФ; pH 7,4), после чего 3 раза по 10 с на холоде обрабатывали ультразвуком. Центрифугировали при 10000 об/мин (10 мин при 4 °С), осадок ресуспендировали в буфере,

затем центрифугировали при 20000 об/мин (30 мин при 4 °С) и отбирали супернатант.

Определение 7-этоксирезорурфин-О-деэтилазной (ЭРОД) активности. Реакционная смесь общим объемом 200 мкл состояла из буфера (50 мМ Трис-НСl, 100 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА; pH 7,4), клеточного лизата (0,5 млн клеток), 20 мкМ дикумарола, субстрата. В качестве субстрата был использован 7-этоксирезорурфин в диапазоне концентраций от 0,5 до 50 мкМ. При определении монооксигеназной активности в зависимости от концентрации ГПК был использован 50 мкМ 7-этоксирезорурфин и 50, 100, 150, 200, 500 мкМ ГПК. Реакционную смесь прогревали при 37 °С в течение 1 мин. Реакцию начинали добавлением 100 мкМ ГПК или 300 мкМ NADPH и проводили в течение 5 мин в присутствии ГПК и 10 мин в присутствии NADPH при 37 °С на шейкере Water-Bath-Shaker-375 (Польша). Останавливали реакцию добавлением 200 мкл метанола, охлажденного до 4 °С. Концентрацию образующегося продукта (резорурфина) определяли спектрофлуориметрически при длине волны возбуждения 530 нм и длине волны испускания 590 нм на спектрофотометре Tecan Infinite 200, используя стандартный раствор резорурфина для построения калибровочной кривой. Концентрацию белка в клеточном лизате определяли методом Лоури и соавт. В качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин.

Результаты и их обсуждение. Для того чтобы выяснить, возможно ли протекание монооксигеназных процессов в клетках MCF-7 в отсутствие электронного транспорта с NADPH-цитохром Р-450 редуктазы, вместо NADPH использовали модельный донор активированного кислорода – ГПК. На первом этапе исследования была определена зависимость монооксигеназной активности клеток MCF-7 от концентрации ГПК. Кривая, отражающая зависимость скорости превращения 7-этоксирезорурфина в резорурфин от концентрации ГПК, имеет вид, характерный для ферментативных процессов, описываемых уравнением Михаэлиса–Ментен (рис. 1).

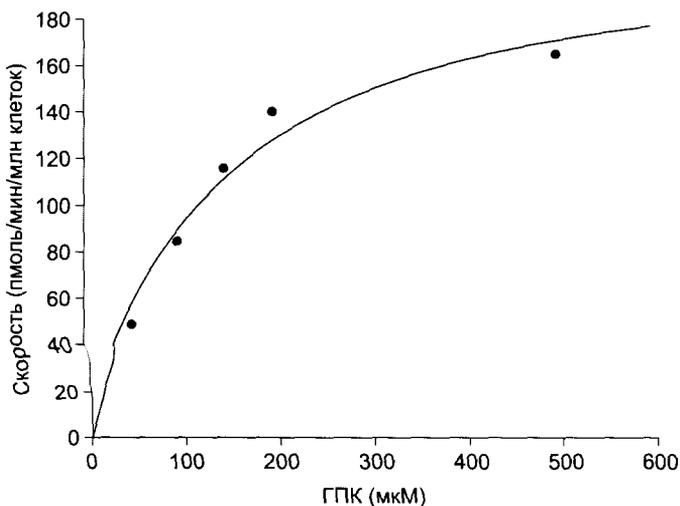


Рис. 1. Зависимость 7-этоксирезорурфин-О-деэтилазной (ЭРОД) активности клеток MCF-7 от концентрации ГПК

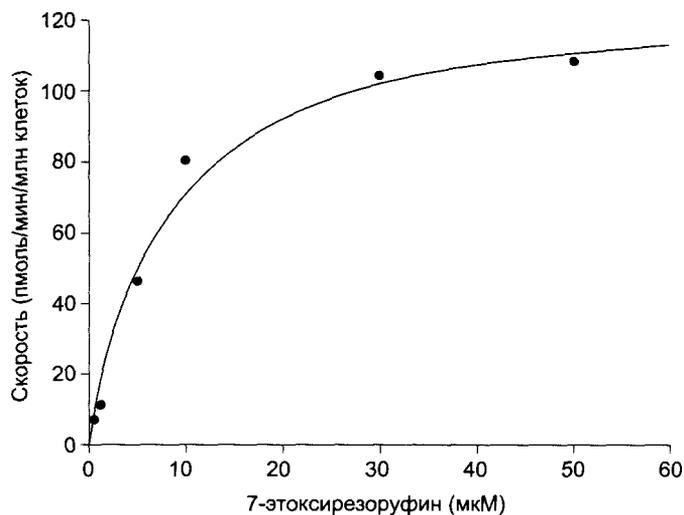


Рис. 2. ЭРОД активность клеток MCF-7 (кофактор – ГПК)

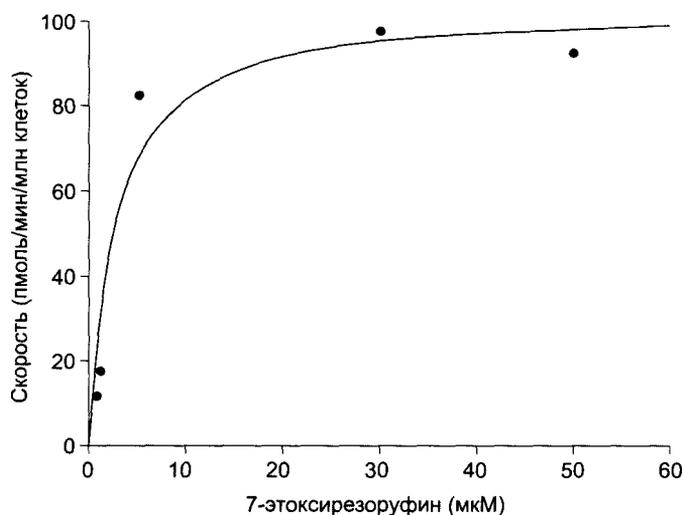


Рис. 3. ЭРОД активность клеток MCF-7 (кофактор – NADPH)

С помощью программы Sigma Plot, снабженной модулем для кинетических расчетов Enzyme Kinetics, были определены кинетические параметры данной реакции. Константа Михаэлиса (K_M) составила $144,7 \pm 34,3$ мкМ, максимальная скорость (V_{max}) – $3,0 \pm 0,2$ нмоль/мин/мг клеточного белка, что соответствует $221,2 \pm 14,7$ пмоль/мин/млн клеток. На следующем этапе исследования было проведено сравнение ЭРОД активности клеток MCF-7 в присутствии NADPH и в присутствии ГПК, для чего были построены зависимости скоростей монооксигеназных реакций от концентрации 7-этоксирезорфуфина (рис. 2, 3).

На основании полученных кривых были рассчитаны кинетические параметры монооксигеназных реакций в ГПК-зависимой и NADPH-зависимой системах, которые представлены в таблице.

Кинетические параметры 7-этоксирезорфуфин-О-деэтилазной активности клеток MCF-7

Реакция	V_{max} , нмоль/мин/мг клеточного белка	V_{max} , пмоль/мин/млн клеток	K_M , мкМ	$K_{эф} = V_{max} / K_M$
ГПК-зависимая	$1,7 \pm 0,1$	$127 \pm 9,2$	$7,6 \pm 0,8$	16,7
NADPH-зависимая	$1,4 \pm 0,2$	$103,4 \pm 15,8$	$2,6 \pm 0,5$	39,8

Как видно из данных таблицы, константа Михаэлиса ГПК-зависимой реакции несколько выше константы Михаэлиса NADPH-зависимой монооксигеназной реакции. При этом следует отметить и более высокую максимальную скорость реакции в ГПК-зависимой системе по сравнению с таковой в присутствии NADPH.

Сравнение зависимости 7-этоксирезорфуфин-О-деэтилазной активности клеток MCF-7 в присутствии NADPH и в присутствии ГПК от концентрации 7-этоксирезорфуфина позволяет сделать вывод о том, что гидропероксиды являются эффективными донорами активированного кислорода в монооксигеназных процессах в опухолевых клетках и тем самым могут способствовать возникновению и развитию канцерогенных процессов в эстрогензависимых органах и тканях.

Литература

1. Cavalieri E. I., Stack D. E., Dcvancsan P. D. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. P. 10937–10942.
2. Cavalieri E., Wong A., Rogan E. // Biochemical pharmacology. 1987. Vol. 36, N 4. P. 435–440.
3. Dawling S., Hachey D. L., Roodi N., Parl F. F. // Chem. Res. Toxicol. 2004. Vol. 17. P. 1258–1264.
4. Dawling S., Roodi N., Mernaugh R. L. et al. // Cancer Res. 2001. Vol. 61. P. 6716–6722.
5. Droge W. // Physiological Reviews. 2002. Vol. 82, N 1. P. 47–95.
6. Gago-Dominguez M., Castelao J. E., Pike M. C. et al. // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2005. Vol. 14, N 12. P. 2829–2839.
7. Gago-Dominguez M., Castelao J. E., Yuan J. M. et al. // Cancer Causes Control. 2002. Vol. 13. P. 287–293.
8. Gonenc A., Ozkan Y., Torun M., Simsek B. // J. Clin. Pharm. Ther. 2001. Vol. 26. P. 141–144.
9. Gustafsson J. A. // FEBS Lett. 1976. Vol. 70, N 1. P. 276–280.
10. Gustafsson J. A., Hrycay E. G., Ernster L. // Arch Biochem. Biophys. 1976. Vol. 174, N 2. P. 440–453.
11. Hrycay E. G., Gustafsson J. A. // European J. of Biochemistry. 1976. Vol. 61, N 1. P. 43–52.
12. Liehr J. G., Ulubelen A. A., Strobel H. W. // J. Biol. Chem. 1986. Vol. 261. P. 16865–16870.
13. Sener D., Gonenc A., Akinci M., Torun M. // Cell Biochemistry and Function. 2006. Vol. 25, N 4. P. 377–382.
14. Wong A., Cavalieri E., Rogan E. // Biochemical Pharmacology. 1986. Vol. 35, N 9. P. 1583–1588.
15. Zhu B., Lee A. // Steroids. 2005. Vol. 70. P. 225–244.

E. N. KLIMOVICH, A. G. SYSA, P. A. KISSELEV

kiselev@iboch.bas-net.by

HYDROPROXIDE-DEPENDENT MONOOXYGENASE ACTIVITY OF MCF-7 BREAST CANCER CELL LINE

Summary

The monooxygenase activity of MCF-7 cells in the presence of activated oxygen donor (cumene hydroperoxide) was discovered and the kinetic parameters were determined. Thus, the possibility of monooxygenase processes to occur in the cell line MCF-7 in the absence of NADPH-cytochrome P-450 reductase was demonstrated for the first time.