

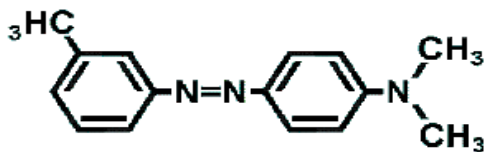
Изучение роли транскрипционных факторов HNF3 и рецепторов ксенобиотиков в механизме видовой специфичности действия гепатоканцерогенных аминоазокрасителей

Пахарукова М.Ю.

Лаборатория регуляции экспрессии генов, ИЦиТ СО РАН

Научный руководитель д.б.н., проф. Меркулова Т.И.

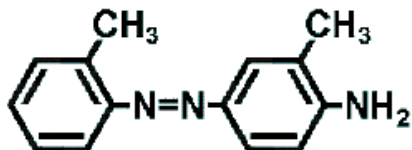
3'-метил-4-диметиламиноазобензол (3'-MeDAB)



**Сильный
гепатоканцероген для
крыс, слабый
канцероген для мышей**

**Снижает
активность HNF3
в печени крыс,
но не мышей**

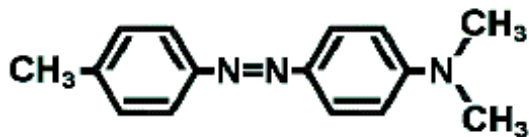
орто-аминоазотолуол (OAT)



**Гепатоканцероген для
мышей, но не для
крыс**

**Снижает
активность HNF3
в печени мышей,
но не крыс**

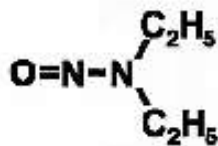
4'-метил-4-диметилазобензол (4'-MeDAB)



Не канцероген

**Не снижает
активность HNF3
ни у мышей, ни у
крыс**

Диэтилнитрозоамин (ДЭНА)



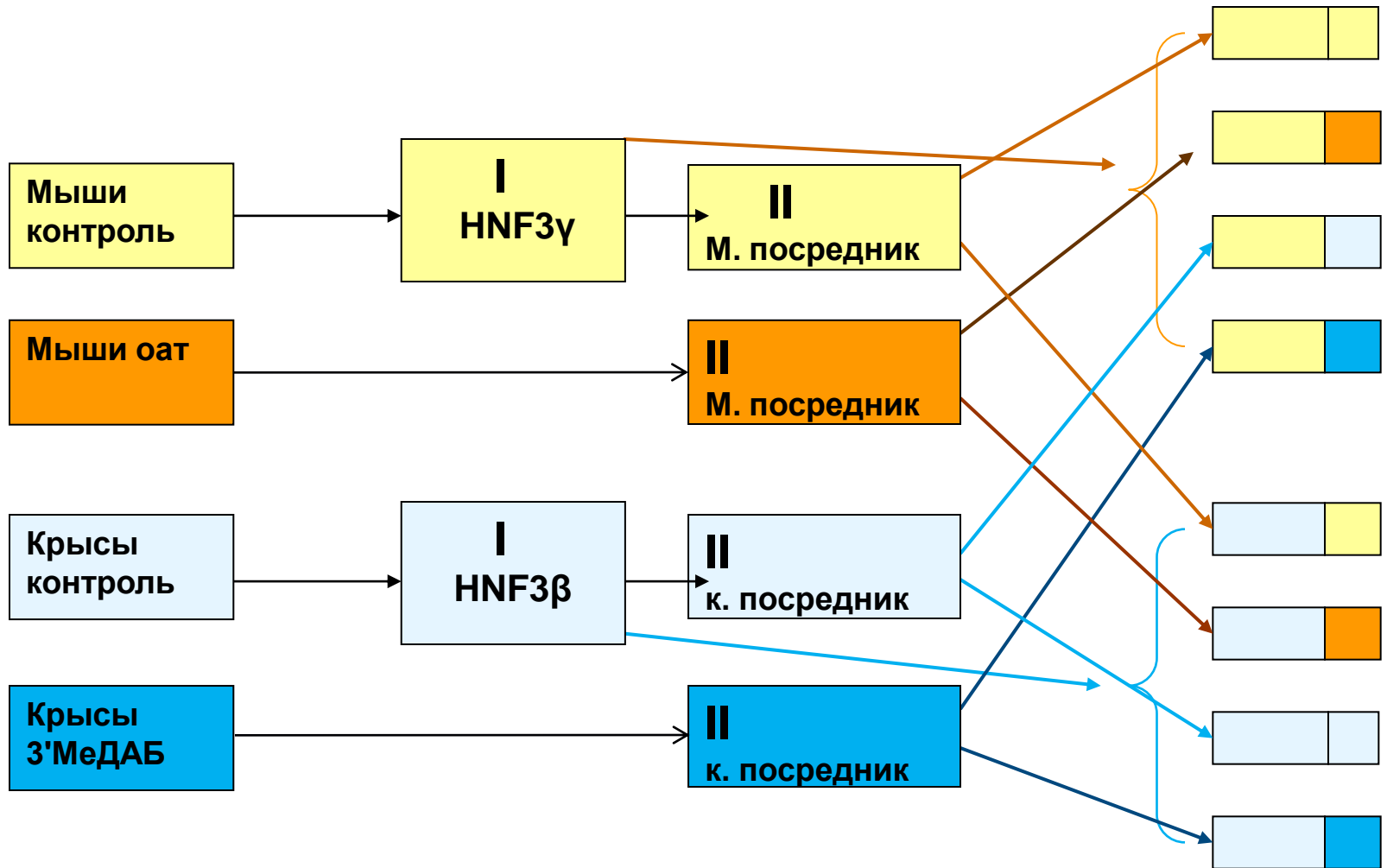
**Гепатоканцероген и
для мышей, и для
крыс**

**Снижает
активность HNF3
в печени крыс, и
в печени мышей**

Задачи

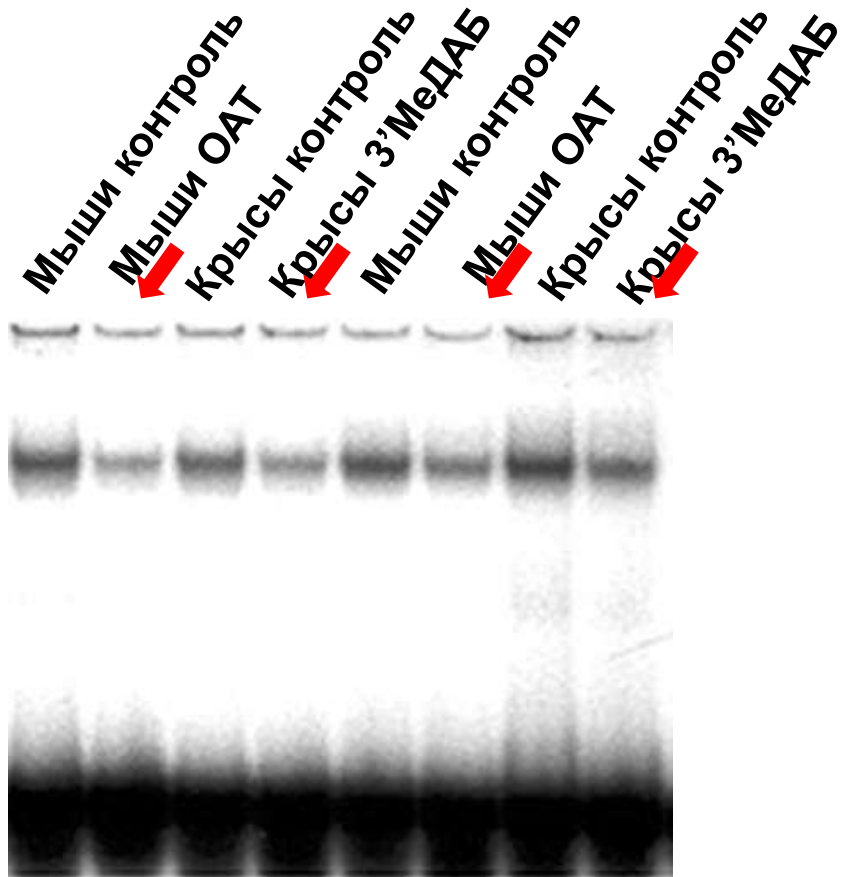
1. Выяснение связи видоспецифичности действия ОАТ и 3'МеДАБ с разными свойствами белка-посредника или различиями HNF3 белков: у крыс HNF3 β , у мышей HNF3 γ .
2. Исследование роли белка-посредника в действии неспецифического гепатоканцерогена ДЭНА
3. Изучение влияния ОАТ, 3'МеДАБ И ДЭНА на ДНК-связывающую активность рецепторов ксенобиотиков: печеночного X-рецептора (LXR), прегнанового X рецептора (PXR) конститутивного рецептора андростанов (CAR), рецептора активаторов пролиферации пероксисом (PPAR), арилгидрокарбонового рецептора (AhR) у мышей и крыс.

Схема эксперимента по смешению фракций I и II экстракта ядер печени мышей и крыс



ДНК-связывающая активность HNF3 при добавлении активной фракции II мышей и крыс

Фракция II

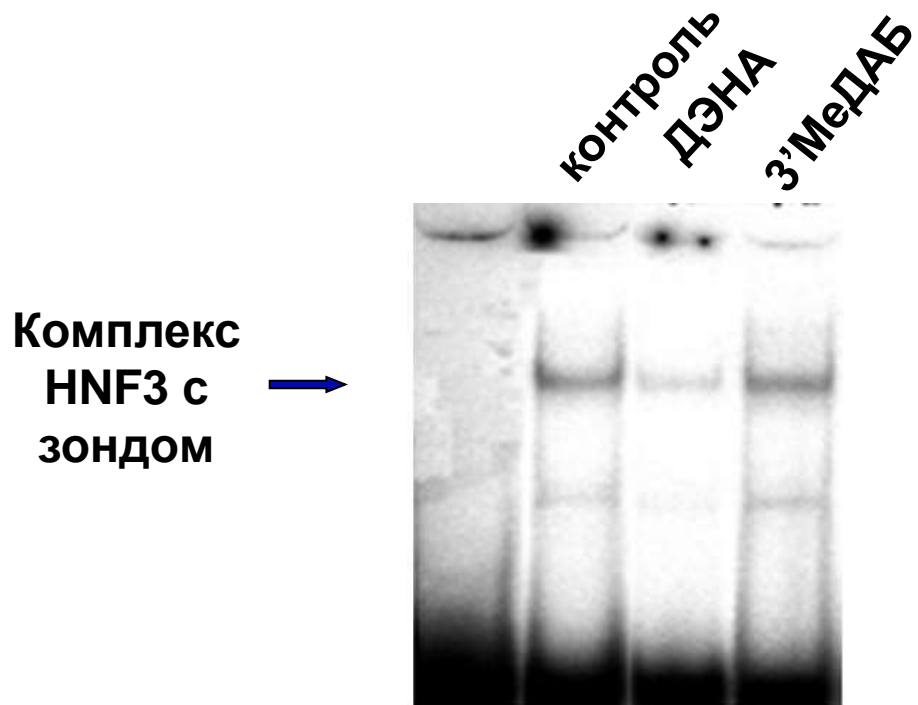


Фракция I

Мыши контроль

Крысы контроль

ДНК-связывающая активность HNF3 в ядерных экстрактах крыс в отсутствии фракции II



- Механизм влияния ДЭНА на ДНК-связывающую активность HNF3 не включает участия белка-посредника.

В печени мышей
В печени крыс

3'МеДАБ
OAT

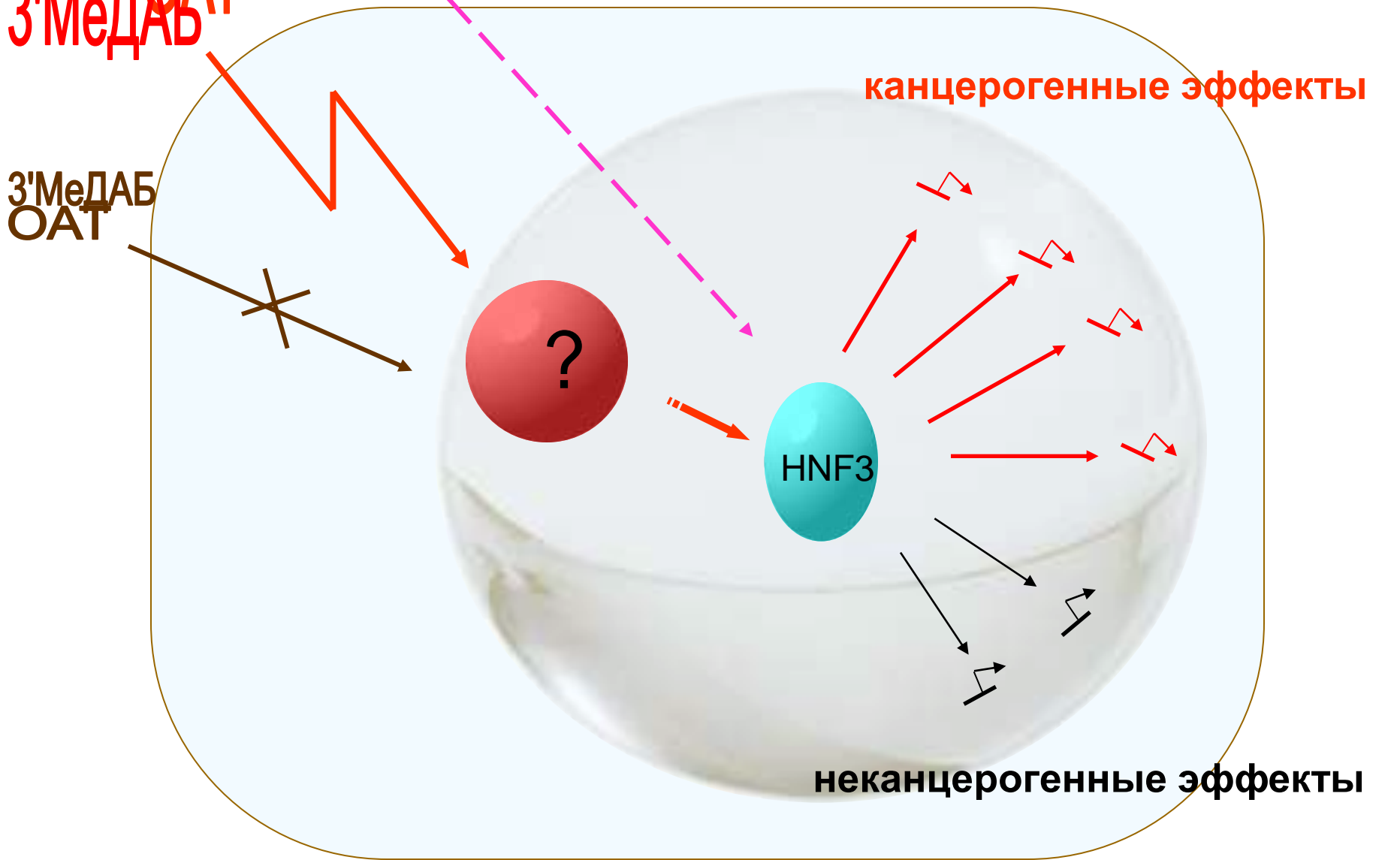
ДЭНА

3'МеДАБ
OAT

канцерогенные эффекты



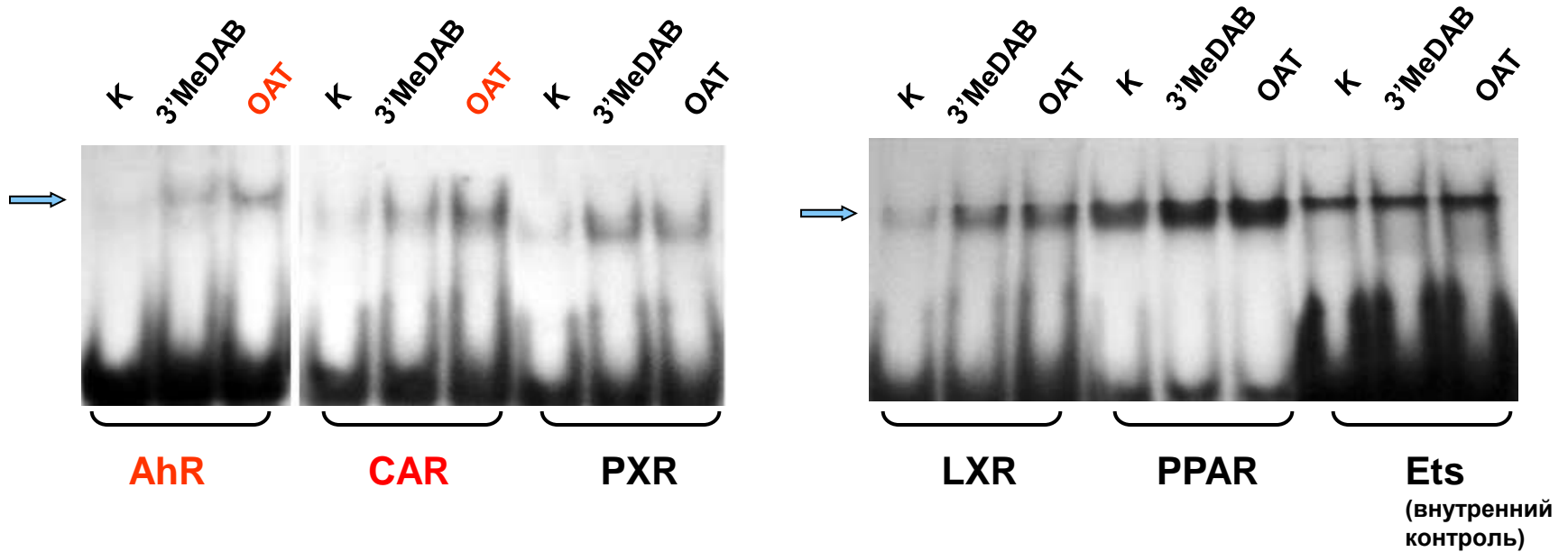
неканцерогенные эффекты



Рецепторы ксенобиотиков, исследованные в работе

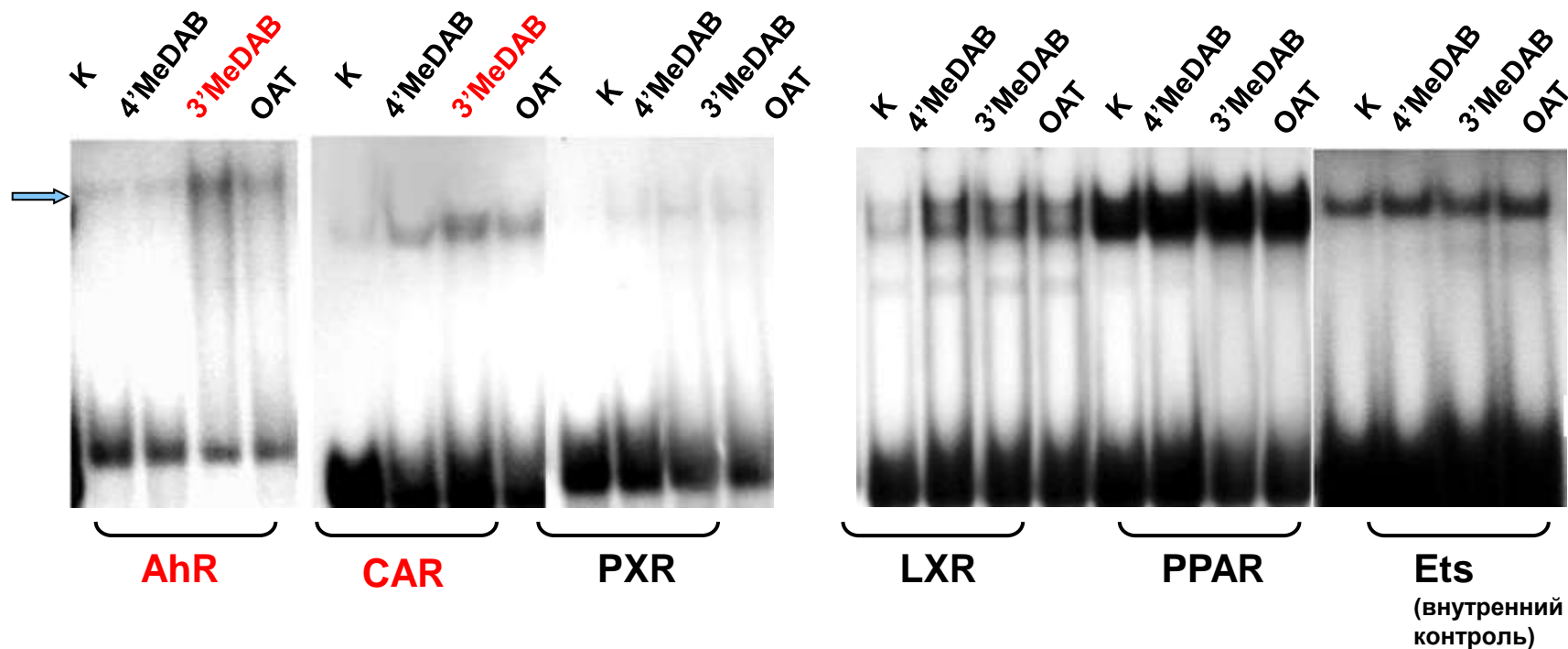
- **PPAR** - (peroxisome proliferator activated receptor) рецептор активаторов пролиферации пероксисом
- **CAR** - (constitutive androstane receptor) конститутивный рецептор андростанов
- **PXR** - (pregnane X receptor) X рецептор прегнанов
- **LXR** - (liver xenobiotic receptor) печеночный рецептор ксенобиотиков
- **AhR** - (aryl hydrocarbon receptor) рецептор ароматических углеводородов

ДНК-связывающая активность рецепторов ксенобиотиков в экстрактах ядер печени при введении мышам OAT и 3'MeDAB



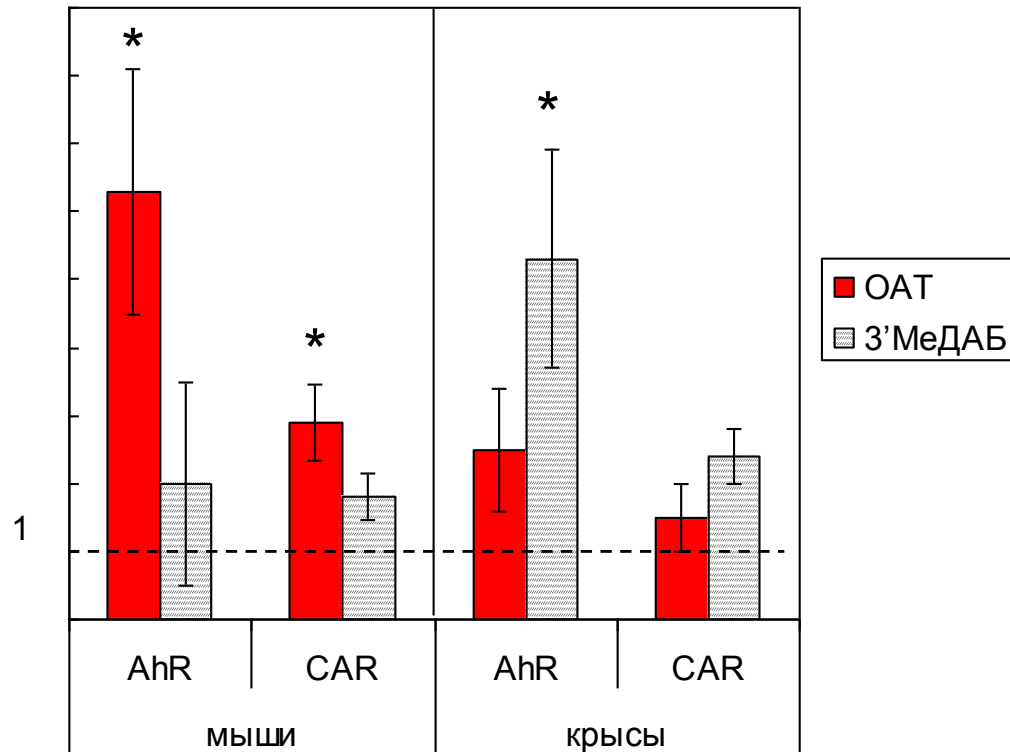
CAR и **AhR** в печени мышей в случае введения **OAT** индуцируются значительно интенсивнее чем в случае введения 3'MeDAB

ДНК-связывающая активность рецепторов ксенобиотиков в экстрактах ядер печени при введении крысам ОАТ, 3'МеДАБ и 4'МеДАБ



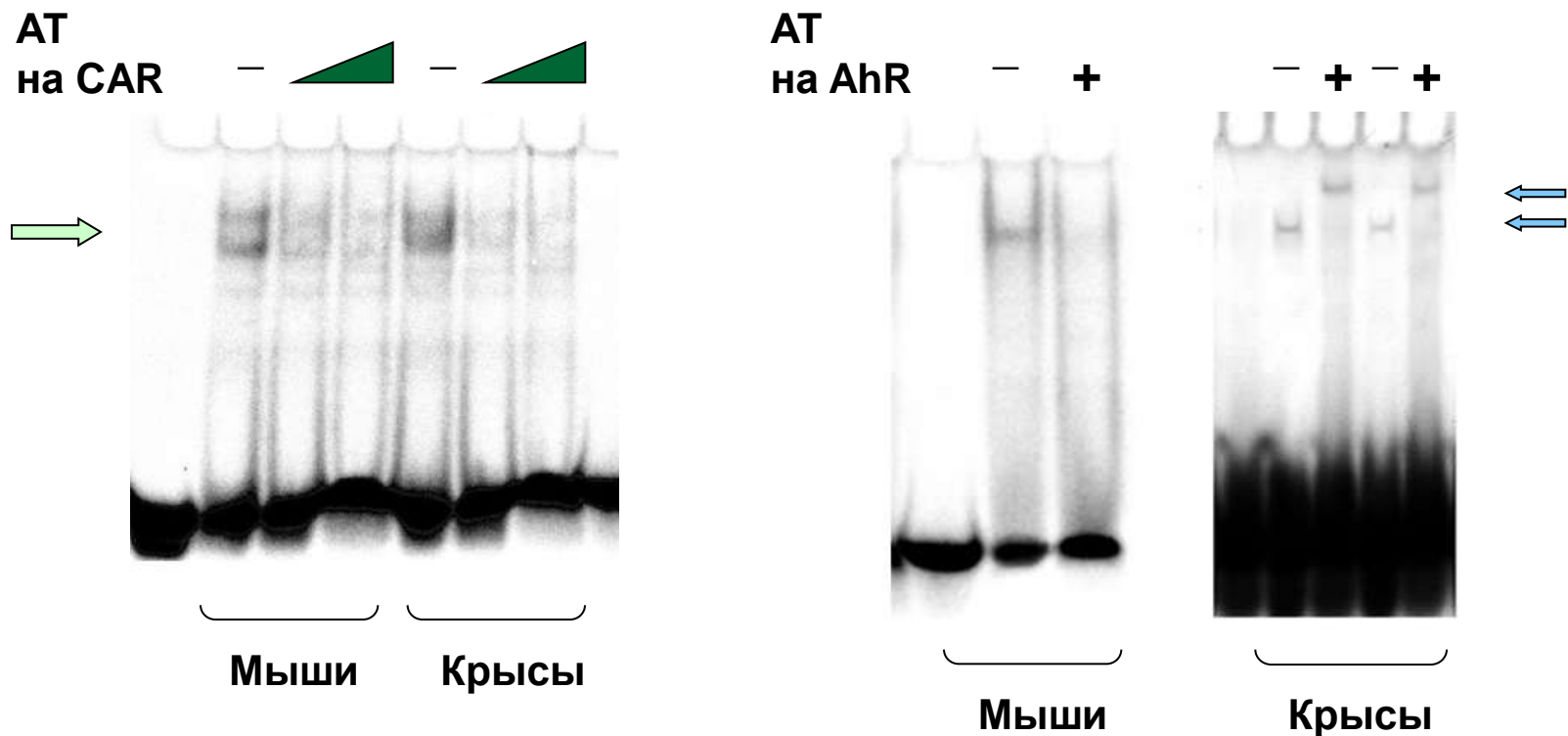
- **CAR** и **AhR** в печени в случае введения гепатоканцерогенного для крыс **3'МеДАБ** индуцируются значительно интенсивнее чем в случае введения **ОАТ**.

Влияние OAT и 3'МеДАБ на ДНК-связывающую активность AhR и CAR в печени мышей и крыс *in vivo* по сравнению с контрольным уровнем, принятым за единицу

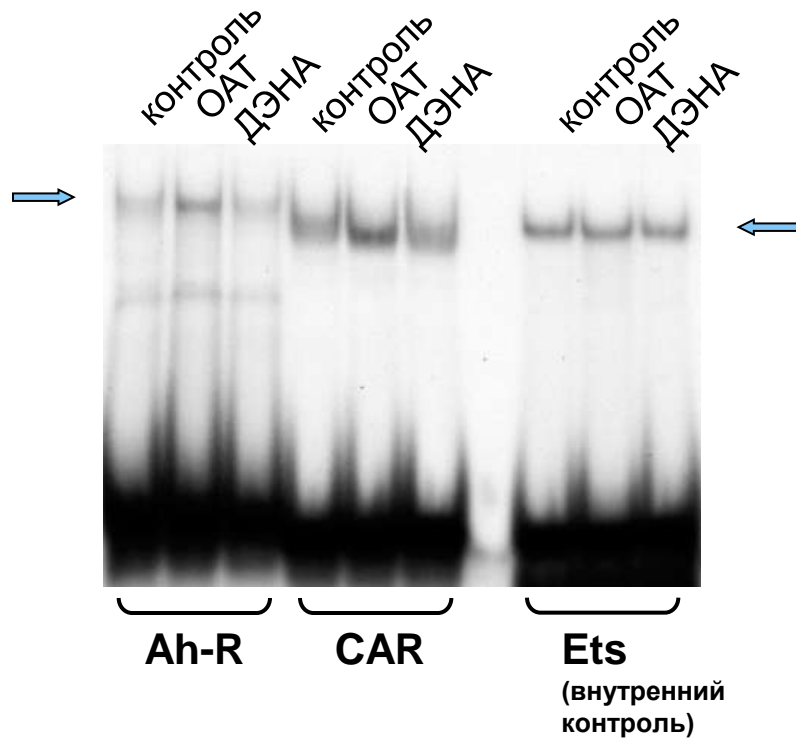


*- достоверность отличий данных «OAT» и «3'МеДАБ» составила >95% при использовании t-критерия Стьюдента в пакете программ "STATISTICA 5,5"

ДНК-связывающая активность CAR и AhR в экстрактах ядер печени мышей и крыс в отсутствии и присутствии антител (АТ)



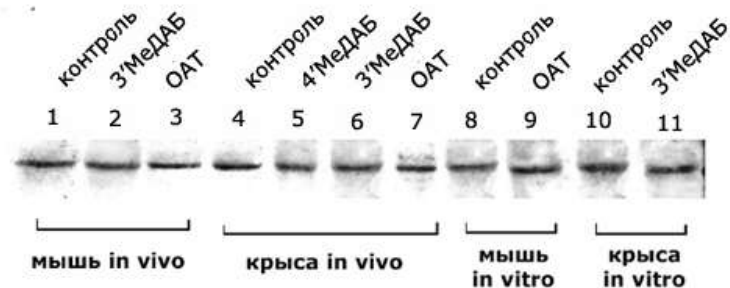
Влияние ДЭНА *in vivo* на способность CAR и AhR в печени мышей связываться со своими сайтами на ДНК



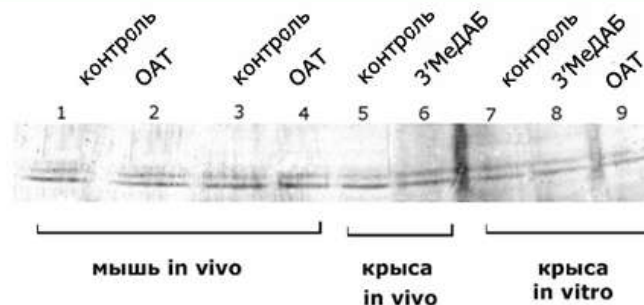
ДЭНА не влияет на ДНК-связывающую активность CAR и AhR.

Содержание белков AhR и CAR до и после обработки канцерогенами

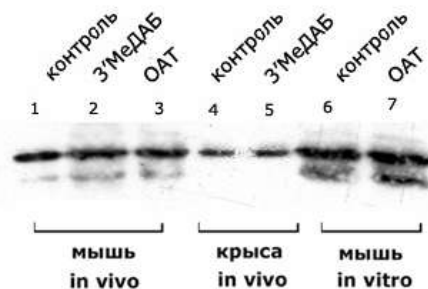
AhR



CAR



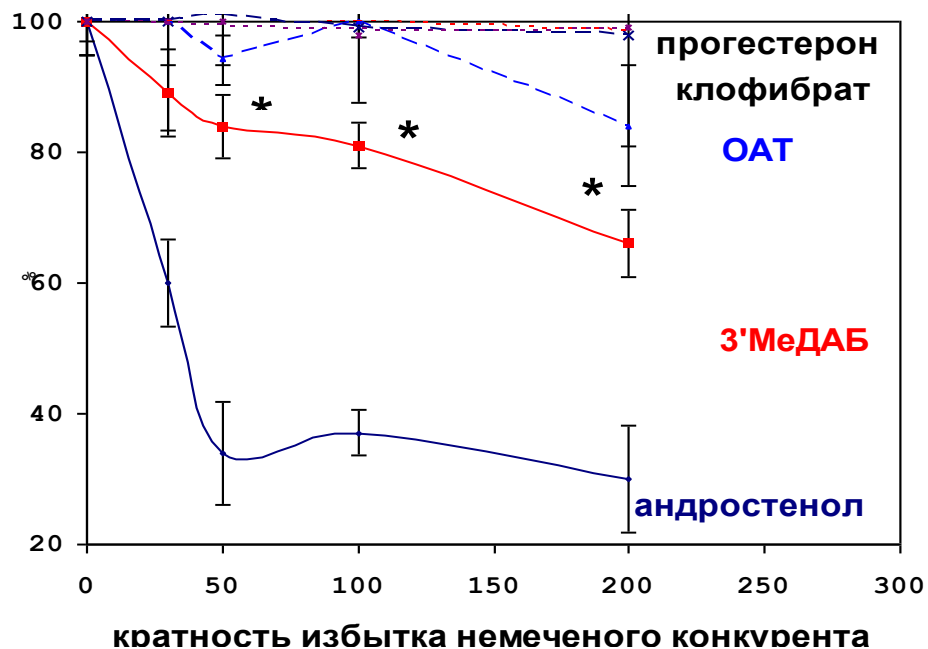
β -актин



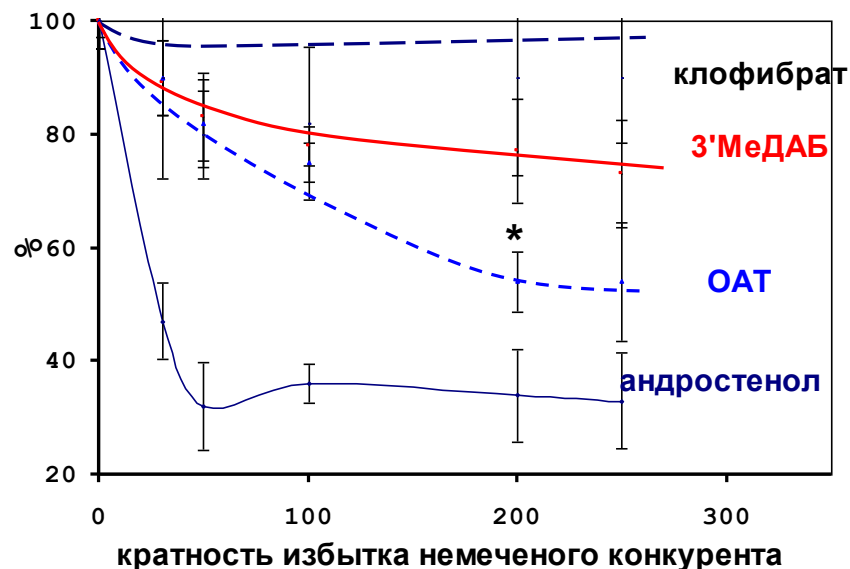
Содержание белков AhR и CAR в пробах до и после обработки канцерогенами не изменяется

Конкуренция ОАТ и 3'МеДАБ с лигандом CAR [³H]-Андростенолом за связывание с цитозолем печени мышей и крыс

крысы

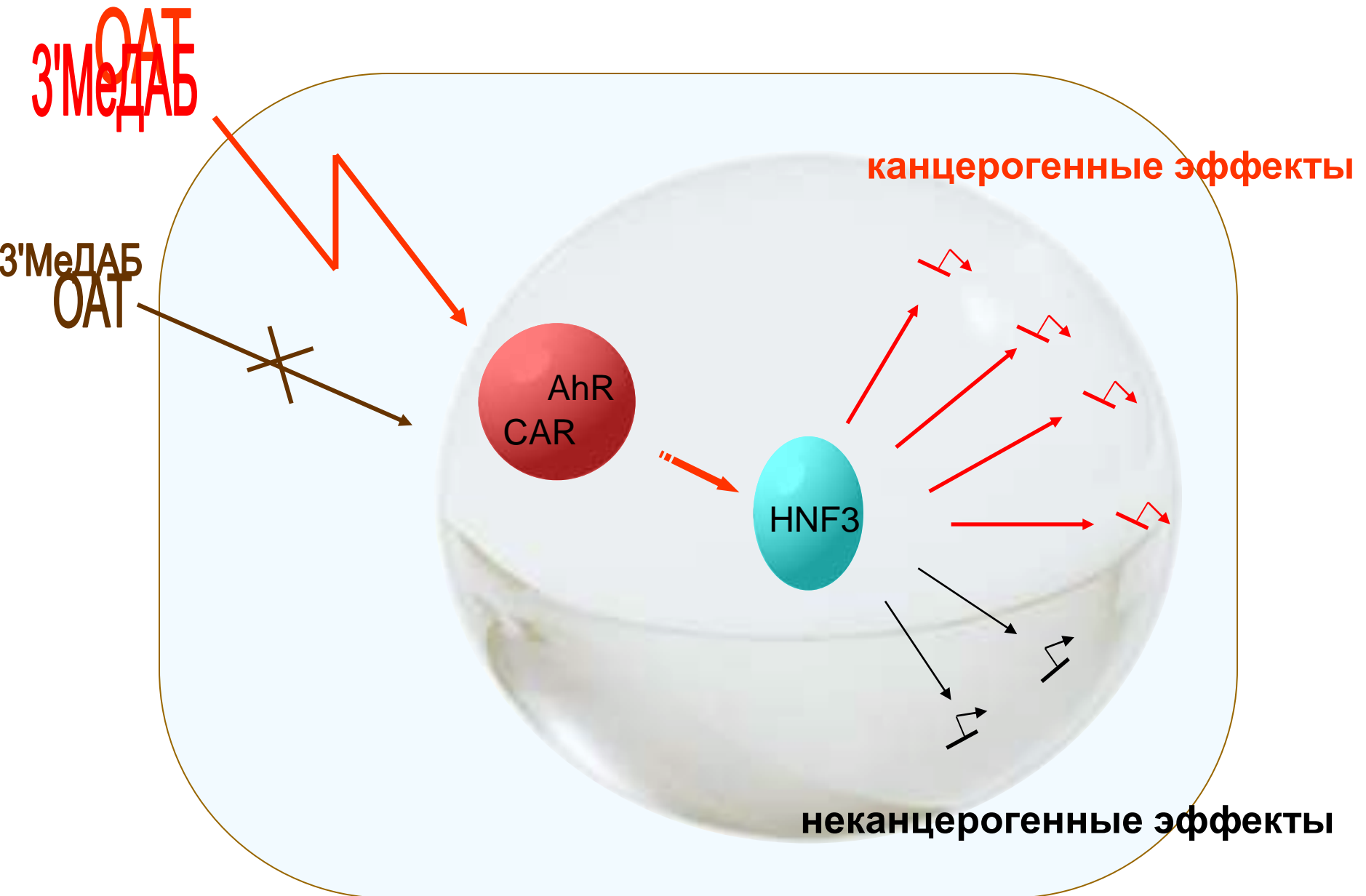


МЫШИ



* - достоверность различий данных "ОАТ" и "3'МеДАБ" составила $P > 95\%$ при использовании критерия Стьюдента в пакете программ STATISTICA 5.0.

В печени мышей
В печени крыс



ВЫВОДЫ

1. Показано, что белок(белки)-посредник(ки) влияния гепатоканцерогенных аминоазокрасителей на транскрипционные факторы HNF3 одинаково снижают ДНК-связывающую активность HNF3 α мыши и HNF3 β крысы, и видоспецифическим образом активируются у крыс под действием гепатоканцерогенного для них 3'МеДАБ, а у мышей - ОАТ.
2. Выявлена взаимосвязь между избирательной активацией рецепторов ксенобиотиков AhR и CAR и снижением ДНК-связывающей активности HNF3 под действием гепатоканцерогенных аминоазокрасителей, которая наблюдается только у чувствительных к этим соединениям животных (под действием ОАТ у мышей, и под действием 3'МеДАБ – у крыс).
3. Видонеспецифичный гепатоканцероген ДЭНА снижает ДНК-связывающую активность HNF3, используя иной механизм, чем видоспецифичные ОАТ и 3'-МеДАБ, не требующий наличия белка-посредника. В ответ на видонеспецифический гепатоканцероген ДЭНА активации CAR и AhR не происходит.

4. Установлено, что содержание CAR и AhR в ядрах клеток печени не меняется, поэтому по-видимому, усиление ДНК-связывающей активности под действием гепатоканцерогенов происходит за счет изменения состояния этих белков.
5. Показано, что OAT и 3'-MeДАБ конкурируют с [³H]-андростенолом за связывание с белками цитозоля клеток печени. При этом в цитозоле печени крыс 3'-MeДАБ конкурирует за связывание лучше чем OAT, а в цитозоле печени мышей OAT является более сильным конкурентом, чем 3'-MeДАБ.
6. Совокупность полученных данных позволяет предполагать, что AhR и CAR могут выполнять роль белков, опосредующих действие гепатоканцерогенных аминоазокрасителей на HNF3.

Спасибо за внимание