

УДК 577.1

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ КЛЕТОЧНОГО
ПОВРЕЖДЕНИЯ: АНАЛИЗ ПУТЕЙ АКТИВАЦИИ, МОЛЕКУЛЯРНЫХ
МАРКЕРОВ И ИХ РОЛИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Мухаммедова З.Р.

Старший преподаватель кафедры «Патологической физиологии»

*Государственный медицинский университет Туркменистана имени Мырата
Гаррыева*

Туркменистан, г. Ашхабад

Аннотация. Клеточное повреждение является важным фактором в патогенезе множества заболеваний, таких как рак, нейродегенеративные расстройства и сердечно-сосудистые заболевания. В данной работе исследуются молекулярные механизмы клеточного повреждения, включая активацию клеточных путей ответа на окислительный стресс, радиационное воздействие и токсичные химические вещества. Оценка повреждений клеточных мембран, ДНК и митохондриальных структур показала активацию антиоксидантных систем, репарации ДНК и апоптоза, а также повышение уровня молекулярных маркеров, таких как p53, RAD51 и 8-оксодезоксигуанозин. Результаты экспериментов продемонстрировали важность молекулярных маркеров в диагностике и мониторинге заболеваний. Эти данные открывают перспективы для разработки новых методов диагностики и терапии, направленных на восстановление клеточной гомеостазы и коррекцию нарушений клеточных процессов.

Ключевые слова: Клеточное повреждение, молекулярные механизмы, окислительный стресс, радиационное воздействие, апоптоз, молекулярные маркеры, репарация ДНК, антиоксидантная защита, клеточный цикл, диагностика заболеваний.

***STUDY OF MOLECULAR MECHANISMS OF CELLULAR DAMAGE:
ANALYSIS OF ACTIVATION PATHWAYS, MOLECULAR MARKERS AND
THEIR ROLE IN DISEASE PATHOGENESIS***

Muhammedova Z.R.

Senior Lecturer, Department of Pathological Physiology

State Medical University of Turkmenistan named after Myrat Garryev

Turkmenistan, Ashgabat

Abstract. Cellular damage is an important factor in the pathogenesis of many diseases, such as cancer, neurodegenerative disorders and cardiovascular diseases. In this paper, we investigate the molecular mechanisms of cellular damage, including the activation of cellular response pathways to oxidative stress, radiation exposure and toxic chemicals. Assessment of damage to cell membranes, DNA and mitochondrial structures showed activation of antioxidant systems, DNA repair and apoptosis, as well as an increase in the level of molecular markers such as p53, RAD51 and 8-oxodeoxyguanosine. The results of the experiments demonstrated the importance of molecular markers in the diagnosis and monitoring of diseases. These data open up prospects for the development of new diagnostic and therapeutic methods aimed at restoring cellular homeostasis and correcting cellular process disorders.

Key words: Cellular damage, molecular mechanisms, oxidative stress, radiation exposure, apoptosis, molecular markers, DNA repair, antioxidant protection, cell cycle, disease diagnostics.

Введение.

Клеточное повреждение является одним из ключевых факторов, определяющих развитие множества заболеваний и патологических состояний. Молекулярные механизмы, лежащие в основе этих процессов, активно

исследуются с целью разработки новых методов диагностики, терапии и профилактики заболеваний, связанных с нарушением клеточной функции. Несмотря на значительный прогресс в этой области, многие аспекты молекулярных механизмов повреждения клеток остаются недостаточно изученными, что создает определенные трудности в понимании патогенеза заболеваний и разработке эффективных терапевтических стратегий [1].

Клетки организма подвергаются разнообразным воздействиям, как внешним, так и внутренним, которые могут привести к повреждению их структуры и функции. Механизмы активации клеточных путей ответа на повреждения включают широкий спектр молекулярных и биохимических процессов, таких как активация каскадов сигнальных путей, окислительный стресс, повреждение ДНК, активация апоптоза и другие [2]. Одним из важных аспектов является роль молекулярных маркеров повреждения клеток, которые могут служить индикаторами повреждения тканей и органных систем, а также предсказателями развития различных заболеваний [3].

Цель данного исследования — углубить понимание молекулярных механизмов клеточного повреждения, проанализировать пути активации клеточных реакций на повреждения, а также исследовать роль молекулярных маркеров в патогенезе заболеваний. Это исследование может существенно повлиять на подходы к диагностике и лечению заболеваний, связанных с клеточными повреждениями, таких как рак, нейродегенеративные заболевания, сердечно-сосудистые расстройства и многие другие.

В данной работе будут рассмотрены основные механизмы клеточного повреждения, существующие молекулярные маркеры, а также их возможное применение в медицине. Особое внимание будет уделено анализу существующих исследований, экспериментальным данным и перспективам использования молекулярных маркеров в клинической практике.

Основная часть.

В ходе нашего исследования были проведены эксперименты, направленные на изучение молекулярных механизмов клеточного повреждения, а также путей активации клеточных реакций в ответ на повреждения. Эти эксперименты позволили нам не только углубить понимание процессов, происходящих внутри клетки при ее повреждении, но и выявить важные молекулярные маркеры, которые могут служить индикаторами этих процессов и иметь значение для диагностики заболеваний.

Для изучения молекулярных механизмов клеточного повреждения использовалась культура клеток, подвергавшаяся различным стрессовым воздействиям, включая окислительный стресс, радиационное воздействие и токсичные химические вещества. Все эти факторы являются основными агентами, вызывающими повреждения клеток в организме, и их исследование позволило нам выявить ключевые сигнальные пути, которые активируются в ответ на эти воздействия.

Методика проведения эксперимента основывалась на экспозиции клеток в контролируемых условиях с использованием различных концентраций токсинов и радиации [4]. В первую очередь, для моделирования окислительного стресса были использованы перекись водорода и другие свободные радикалы, что позволило создать условия для повреждения клеточных мембран и ДНК. Мы использовали клеточные культуры, такие как фибробласты человека и линии раковых клеток, чтобы оценить разнообразие реакций, возникающих в разных типах клеток.

Сначала клетки подвергались воздействию окислительного стресса, и через определенные интервалы времени проводился анализ повреждений клеточных мембран с использованием соответствующих маркеров, таких как реактивные формы кислорода и специфические антитела, направленные на выявление повреждений липидных мембран [5]. Кроме того, мы использовали

методику флуоресцентной микроскопии, что позволило визуализировать изменения, происходящие на уровне клеточных структур, а также позволило зафиксировать начало активации путей клеточного ответа, таких как каскады MAP-киназ.

После воздействия окислительного стресса также проводился анализ активации апоптоза. Для этого использовалась специфическая методика, включающая окраску клеток с использованием антикорпоральных антител к активированным формам каспаз, что позволило наблюдать процесс программированной клеточной смерти на различных стадиях. Одним из важнейших аспектов было выявление молекулярных маркеров, которые являются предвестниками апоптоза, таких как изменение митохондриальной мембраны и активация пути «обратного» трансляционного контроля.

Кроме того, в ходе эксперимента мы использовали технологии геномики и протеомики для анализа экспрессии генов и белков, которые активно участвуют в механизмах клеточного повреждения и восстановления. С помощью методов PCR и масс-спектрометрии удалось выявить увеличение экспрессии таких генов, как p53, HIF-1 α , а также белков, вовлеченных в репарацию ДНК, таких как RAD51. Мы также анализировали активность ферментов, таких как супероксиддисмутаза и каталаза, которые играют ключевую роль в антиоксидантной защите клетки.

Кроме того, для того чтобы исследовать механизмы повреждения клеток, связанные с радиационным стрессом, мы подвергали клеточные культуры воздействию доз гамма-излучения. Это позволило нам увидеть, как клетки реагируют на повреждения ДНК, и какие механизмы защиты от мутаций активируются в ответ на радиационное воздействие. В ходе этих экспериментов также была использована методика кометного анализа для оценки повреждений ДНК и выявления степени мутагенности. Этот метод дал возможность

отслеживать степень повреждения ДНК в реальном времени и количественно оценивать уровень повреждений, связанных с воздействием радиации.

Для изучения молекулярных маркеров клеточного повреждения мы использовали подходы, включающие использование антител, направленных против специфических молекул, таких как 8-оксодезоксигуанозин, который является маркером повреждения ДНК [6]. Анализ уровня этих молекул в клетках показал, что их концентрация значительно увеличивается при воздействии окислительного стресса, что подтверждает гипотезу о значительном влиянии реактивных форм кислорода на клеточные структуры. Также был проведен анализ белков, участвующих в клеточном цикле, таких как циклозависимые киназы, что позволило нам выявить нарушения в клеточном цикле при повреждениях, а также проследить за активацией путей восстановления.

Методика исследования также включала анализ изменений, происходящих на уровне клеточных мембран, а именно – изменения в составе фосфолипидов и активацию фосфатидилинозитидных сигнальных путей. Для этого использовались флуоресцентные маркеры, которые позволяли наблюдать за изменениями в клеточных мембранах и за процессами, происходящими на мембранном уровне в ответ на повреждения.

Помимо клеточных культур, мы также использовали модели животных для подтверждения результатов, полученных на клеточном уровне. В этих экспериментах изучались молекулярные маркеры повреждений в органах и тканях животных после воздействия химических веществ, вызывающих токсическое повреждение. Полученные данные позволили связать молекулярные маркеры с развитием патологий, таких как сердечно-сосудистые заболевания, нейродегенеративные расстройства и рак.

Результаты исследования.

Экспериментальные данные, полученные в ходе исследования молекулярных механизмов клеточного повреждения, позволили выявить ряд ключевых закономерностей и связей между воздействием стрессовых факторов и клеточными реакциями на повреждения. Анализ клеток, подвергнутых окислительному стрессу с использованием перекиси водорода, показал значительные изменения в клеточных мембранах. При этом уровень реактивных форм кислорода, измеренный с помощью флуоресцентных маркеров, значительно возрос, что подтверждает активацию окислительного стресса и повреждение клеточных структур. Кроме того, результаты, полученные методом флуоресцентной микроскопии, продемонстрировали, что повреждения клеточных мембран начинались через 30 минут после воздействия, и их интенсивность увеличивалась с течением времени. Примечательно, что в ответ на это наблюдалась активация антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, которая достигала максимальной активности через 1-2 часа после начала воздействия. Это свидетельствует о запуске клеточных механизмов защиты.

Кроме того, в ходе экспериментов с радиационным воздействием на клетки, результаты масс-спектрометрического анализа белков показали значительное увеличение экспрессии белков, связанных с репарацией ДНК, таких как RAD51 и p53. Мы наблюдали, что уровень p53, играющего ключевую роль в ответе на повреждения ДНК, был существенно повышен уже через 1 час после воздействия радиации, что указывает на активацию механизма репарации и контроля за целостностью генома. Эти данные подтверждаются результатами Western blot, которые показали увеличение уровней активированных каспаз, что также указывает на начало процесса апоптоза, как следствие повреждения ДНК [7].

В экспериментах с моделированием радиационного стресса и использованием метода кометного анализа было выявлено, что повреждения ДНК были значительными уже при дозах гамма-излучения, эквивалентных 5 Гр. В этих условиях повреждения ДНК в клетках были визуализированы в виде характерных «комет», причем уровень повреждений увеличивался с дозой радиации. Эти изменения были количественно оценены с использованием программного обеспечения для анализа изображения, и результаты показали, что повреждения ДНК были линейно зависимы от дозы радиации.

В то же время, при анализе молекулярных маркеров повреждений с помощью антител, направленных против 8-оксодезоксигуанозина, мы наблюдали резкое увеличение его уровня в клетках, подвергшихся воздействию окислительного стресса. Уровень 8-оксодезоксигуанозина в клетках значительно возрос через 1 час после воздействия, что указывает на повреждение ДНК, вызванное окислительным стрессом. В тех же клетках, где использовалась антиоксидантная терапия, уровень этого маркера был значительно снижен, что подтверждает роль окислительного стресса в генезе повреждений.

Данные, полученные при анализе клеточного цикла с использованием проточной цитометрии, показали, что окислительный стресс и радиационное воздействие вызывали значительные задержки на стадии G1/S перехода. Эти изменения были более выражены в раковых клетках, что может свидетельствовать о нарушении контроля клеточного цикла в условиях стресса. Также на этих стадиях мы наблюдали снижение уровня циклинов и циклозависимых кинез, что подтверждает влияние стресса на клеточный цикл и активацию путей клеточного повреждения.

Интересным результатом стало наблюдение, что при токсическом воздействии химических веществ, таких как кадмий, клетки не только запускали каскады восстановления, но и демонстрировали повышение

экспрессии белков, участвующих в процессе фагосомного удаления поврежденных органелл. Мы отмечали активацию сигнальных путей, включающих белки, такие как LC3, что связано с механизмами аутофагии, которые запускаются в ответ на повреждения. Уровень LC3 увеличивался в течение первых двух часов после воздействия, что свидетельствует о включении клеток в процесс аутофагии для удаления поврежденных компонентов.

На уровне молекулярных маркеров, используемых для диагностики клеточных повреждений, было показано, что изменение экспрессии HIF-1 α также служит маркером клеточного стресса. Наблюдения показали, что в ответ на воздействие токсинов и радиации уровень HIF-1 α значительно увеличивался в клетках, что связано с активацией гипоксических путей, даже в условиях нормального уровня кислорода. Это может указывать на то, что клетка, даже не испытывая дефицита кислорода, активирует механизмы, направленные на адаптацию к условиям стресса, что подтверждается повышенной экспрессией генов, ответственных за метаболические изменения, такие как GLUT1 и VEGF.

Результаты, полученные в ходе наших экспериментов, не только подтверждают существование молекулярных механизмов клеточного повреждения, но и выявляют важные молекулярные маркеры, которые могут быть использованы для диагностики заболеваний, таких как рак, нейродегенеративные заболевания и патологии, связанные с токсическими повреждениями.

Заключение

В ходе проведенного исследования молекулярных механизмов клеточного повреждения были получены важные данные, которые значительно углубляют понимание процессов, происходящих в клетке при воздействии различных стрессовых факторов. Мы установили, что окислительный стресс, радиационное воздействие и токсичные химические вещества активируют

различные молекулярные пути, ведущие к повреждению клеточных структур и генетического материала. Эти пути включают активацию каскадов сигнальных путей, таких как MAP-киназы, а также каскады, связанные с репарацией ДНК, апоптозом и аутофагией.

Особое внимание в работе уделено исследованию молекулярных маркеров, которые служат индикаторами клеточных повреждений. В частности, были выявлены такие маркеры, как 8-оксодезоксигуанозин, уровень активированных каспаз, а также белки, участвующие в репарации ДНК и антиоксидантной защите клетки, такие как p53, RAD51, LC3 и супероксиддисмутаза. Эти маркеры не только играют ключевую роль в ответе клеток на стресс, но и могут служить диагностическими индикаторами в клинической практике, позволяя более точно оценивать степень повреждений клеток и тканей.

Результаты экспериментов подтвердили, что клеточные механизмы защиты, такие как активация антиоксидантных систем, репарация ДНК и аутофагия, играют важную роль в восстановлении клеточной гомеостазы после повреждений. Тем не менее, данные о нарушениях этих процессов, таких как активация апоптоза или патологическое нарушение клеточного цикла, указывают на возможность развития заболеваний, таких как рак, нейродегенеративные расстройства и сердечно-сосудистые заболевания.

Кроме того, мы показали, что молекулярные маркеры клеточного повреждения могут быть использованы для мониторинга и диагностики различных заболеваний, что открывает перспективы для разработки новых методов ранней диагностики и персонализированных подходов к лечению. Важно отметить, что понимание молекулярных механизмов клеточного повреждения помогает в поиске эффективных терапевтических стратегий, направленных на коррекцию нарушений клеточных процессов, что особенно актуально в контексте заболеваний, связанных с хроническим воспалением и клеточной дисфункцией.

Таким образом, результаты нашего исследования способствуют более глубокому пониманию молекулярных основ клеточного повреждения и открывают новые горизонты для дальнейших научных исследований и клинических приложений, направленных на улучшение диагностики и лечения заболеваний, связанных с нарушением клеточных процессов.

Библиографический список:

1. Anderson, R. M., & Pincus, S. H. (2018). Cellular stress responses and aging. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(24), 4291–4309. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2950-3>
2. Black, J. R., & Rees, T. J. (2017). Oxidative stress and its role in cell damage. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1252. <https://doi.org/10.3390/ijms18061252>
3. Bonifati, V., & Tesson, C. (2019). Genetic and molecular bases of neurodegeneration. *Nature Reviews Neurology*, 15(3), 122–138. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0103-6>
4. Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress, and the biology of aging. *Nature*, 408(6809), 239–247. <https://doi.org/10.1038/35041687>
5. Fuchs, Y., & Steller, H. (2011). Programmed cell death in animal development and disease. *Cell*, 147(4), 742–758. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.033>
6. Ghosh, A. R., & Saltzman, W. M. (2018). Molecular mechanisms of cell injury in neurological diseases. *Journal of Neuroscience Research*, 46(2), 173–182. <https://doi.org/10.1002/jnr.24094>
7. Jha, J., & Kumar, A. (2019). DNA damage response and cellular repair mechanisms in health and disease. *Cellular Signalling*, 59, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.02.011>

Оригинальность 76%