

СОДЕРЖАНИЕ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В ГОМОГЕНАТЕ КУРИНОГО ЭМБРИОНА И ЕГО ВЗАИМОСВЯЗЬ С МОРФОМЕТРИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ РОСТА И РАЗВИТИЯ ОРГАНИЗМА*

Аннотация: Альфа-фетопротеин присутствует на всех этапах эмбриогенеза куриного зародыша, его содержание не постоянно в процессе развития. Динамика изменения АФП совпадает лишь на отдельных этапах эмбрионального развития с показателями массы тела и индекса Кетле I, что, возможно, связано с активацией процессов пролиферации в различных тканях, органах и в организме в целом.

Ключевые слова: альфа-фетопротеин, куриный эмбрион, эмбриогенез, индекс Кетле I, масса тела.

В ходе эмбрионального развития организм постоянно преобразуется, одни клетки меняются на другие, ткани дифференцируются, органы постепенно начинают выполнять свои функции. Такие преобразования возможны благодаря процессам пролиферации, дифференцировки и программируемой гибели клетки. В результате этого происходит формирование организма как единого целого – замкнутой и одновременно открытой биологической системы. В обеспечении нормального течения всех выше перечисленных процессов принимают участие различные биологически активные вещества. Многие из них имеют белковую природу и выполняют разнообразные функции.

Доказано, что одним из наиболее важных белков, контролирующих процесс эмбрионального развития организма, является альфа-фетопротеин (АФП) [7]. В состав данного белка входят различные функциональные участки и сайты связывания: актин-связывающий сайт, апоптоз-индуцирующие сегменты, билирубин-связывающий сайт, эстроген-связывающий сайт, сегмент подобный EGF (эпидермальному фактору роста), сайты связывающие свободные жирные кислоты, сегмент подобный антигенам гистосовместимости, инсулин подобный сегмент, сайт связывания с АФП рецептором и др. Большое число функциональных последовательностей в молекуле АФП свидетельствует о высоком регуляторном потенциале данного белка и широком спектре его биологической активности. Альфа-фетопротеин является регулятором роста для многих клеток и тканей, причём он способен как усиливать, так и подавлять пролиферативные процессы, что в первую очередь определяется его концентрацией и свойством. Помимо контроля пролиферации он участвует в регуляции иммунитета, а именно обладает иммунодепрессантными свойствами. АФП активно участвует в транспорте различных биологически активных веществ, а так же является одним из факторов запускающих механизм апоптоза [6].

В виду огромной полифункциональности белка интерес представляет ещё и тот факт, что в последнее время АФП - содержащие препараты уже с успехом применяются при лечении различных опухолевых и других заболеваний. Наиболее детально содержание данного белка изучено у млекопитающих, при этом подтверждено его высокое содержание в печени. Однако использование эмбрионов, их печени или абортного материала человека и высших млекопитающих имеет этические, эпидемиологические, экономические и технологические ограничения [5].

Из вышеперечисленного следует, что альфа-фетопротеин принимает непосред-

* © Тимченко Л.Д., Пономаренко А.П., Черников С.В.

твенное участие в обеспечении процессов эмбрионального развития организма и становлении его защитных сил. Можно предположить, что наличие АФП и его концентрация в отдельных тканях и органах эмбриона обуславливает активацию или остановку пролиферативных процессов, что является одним из необходимых условий нормального развития зародыша. Кроме того, у всех животных и человека практически неизвестной остается взаимосвязь уровня АФП с морфометрическими показателями, тогда как ясно, что в развитие организма этот белок выполняет важные функции. В доступной нам литературе практически отсутствуют данные, описывающие закономерность онтогенетической изменчивости количества этого белка в организме и, тем более, не прослеживается его взаимосвязь с морфометрическими показателями развивающегося эмбриона.

К настоящему времени хорошо изучено химическое строение альфа-фетопротеина, известно его генетическое происхождение. Вместе с тем продолжается активное изучение роли АФП в физиологических и патологических процессах, появляются новые данные о влиянии его на функции клеток, рост и развитие тканей [3].

Имеются сведения о содержании этого белка в различных тканях и органах млекопитающих. Однако у куриного эмбриона данный вопрос изучен недостаточно. Найдены лишь единичные сведения о содержании альфа-фетопротеина в сетчатке глаза куриного зародыша [5].

Учитывая, что куриный эмбрион является классической моделью для исследования любых показателей в эмбриогенезе, основной целью нашей работы явилось изучение динамики уровня альфа-фетопротеина и его взаимосвязь с морфометрическими показателями в процессе развития. Использование куриного эмбриона не противоречит законам биоэтики. Важным преимуществом является и то, что при одинаковых условиях инкубации значения тех или иных показателей варьируют в небольших пределах, что обеспечивает малую погрешность исследований. Кроме того, куриный эмбрион является экологически чистым, доступным и максимально изолированным объектом исследования.

В процессе экспериментальной работы у 300 эмбрионов с пятых по девятнадцатые сутки развития (по 20 – на каждые сутки), определяли содержание альфа-фетопротеина в эмбриональном гомогенате с помощью иммуноферментного анализатора марки IMMULITE-200 DPC. Изучение уровня альфа-фетопротеина в гомогенате позволяет определить общее количество белка не в отдельной ткани, а во всем организме в целом. Кроме того, в различных тканях содержание АФП может быть незначительным, что затрудняет его количественное определение.

Масса тела эмбриона непосредственно отражает процессы роста тканей и клеток организма. Определение значений данного показателя проводили с помощью электронных весов «ВЛТЭ-150» с точностью до 0,01 мг.

Индекс Кетле I – это один из важных показателей пропорциональности развития организма, который отражает зависимость изменения массы от линейных размеров тела эмбриона на разных стадиях развития.

Результаты экспериментальной работы по определению показателей отражающих количество альфа-фетопротеина в гомогенате куриного эмбриона, массы тела зародыша и индекса Кетле I представлены на рисунке 1.

Установлено, что альфа-фетопротеин присутствует на всех этапах эмбриогенеза, его содержание не постоянно и имеет волнообразный характер. При этом в эмбриональном гомогенате отмечено четыре пика увеличения концентрации АФП.

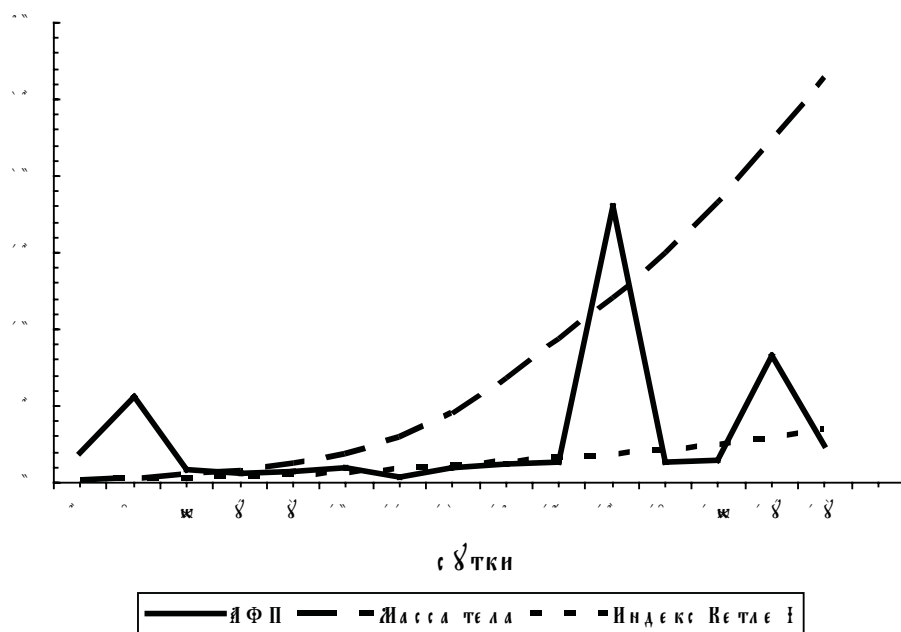


Рис 1. Динамика содержания АФП в гомогенате куриного эмбриона и показатели массы тела и индекса Кетле I, в процессе развития.

Первый из них приходится на 5-е сутки развития. По нашему мнению, всплеск концентрации белка обусловлен активными процессами пролиферации всех тканевых компонентов зародыша, что сопровождается активным органогенезом. Заметно увеличение головы эмбриона. Из первичных мозговых пузырей формируется пять отделов головного мозга. В печени начинают активизироваться процессы кроветворения [2]. Уже в 5-суточном возрасте морфологический состав клеток эпителиального пласта не однороден и включает различающиеся по цитохимическим характеристикам группы клеток, что свидетельствует о начальных этапах дифференцировки [4]. Этот факт представляется важным, поскольку известно, что белок экспрессируется в клетках не обособленных в ткани. Состояние неопределённости клетки вызывает синтез альфа-фетопротеина, который, по-видимому, стимулирует пролиферацию, что в свою очередь приводит к структурному созреванию - дифференцировке клеток [1].

Второй всплеск уровня альфа-фетопротеина приходится на 10-е сутки. На этом этапе усиленно начинает формироваться скелетная мускулатура. Внезародышевые органы достигают максимума своего развития, сосудистая сеть аллантоиса заметно вырисовывается. Продолжается активная пролиферация клеточных элементов в местах формирования органов половой системы и кишечника. При этом на разрезе кишечника уже обнаруживаются едва заметные складки [2].

Третий – максимальный пик, при котором концентрация альфа-фетопротеина составила $18,76 \pm 2,33$ Ед/мл, наблюдался на 15-е сутки инкубации. По нашему мнению это связано с повышением уровня пролиферативных процессов на фоне активизации апоптической гибели первичных тканевых элементов. В частности, постоянная почка дифференцируется, а первичная – инволюционирует. Печень увеличивается в размерах, её клетки специализируются. Гемопоз из печени переходит в красный костный мозг, в связи с чем, пролиферативные процессы в нем протекают более интенсивно. На этом этапе наблюдаются активное увеличение массы, как органов, так и организма в целом.

Заключительный, но не менее значимый пик наблюдался на 18-е сутки эмбриоге-

неза. Процессы гемопоэза в печени стихают, печень начинает выполнять присущие ей функции. Кроветворение полностью переключено на красный костный мозг, где интенсивно размножаются стволовые элементы крови. В половой системе начинается закладка и созревание фолликулов и ооцитов [2, 4].

В отличие от динамики альфа-фетопротеина, показатели массы тела и индекса Кетле I у куриных эмбрионов увеличиваются постепенно в процессе развития. Причём, если показатели индекса Кетле I плавно нарастают с $0,179 \pm 0,034$ на 5-е сутки до $3,354 \pm 0,245$ - на 19-е, то показатели массы тела, только с 5-х по 10-е сутки имеют такой же характер и составили $0,177 \pm 0,027$ г и $1,850 \pm 0,126$ г соответственно. С 10-х суток траектория кривой резко возрастает, достигая максимального значения - $26,471 \pm 2,483$ г на 19-сутки. Резкое увеличение прироста массы тела с 10-х суток развития совпадает с 10-ти суточным всплеском концентрации АФП.

Таким образом, по результатам экспериментальной работы можно заключить, что динамика изменения массы и индекса Кетле I отличается от динамики АФП в процессе развития. Если показатели массы тела и индекса Кетле I в процессе развития постепенно увеличиваются, то изменение уровня АФП имеет волнообразный характер. Однако отмечено четыре совпадения увеличения исследуемых показателей (5, 10, 15 и 18-е сутки). На основании литературных данных и собственных исследований, изложенных выше, можно заключить, что периоды совпадения пиков концентрации альфа-фетопротеина с показателями массы тела и индекса Кетле I характеризуются увеличением активности пролиферативных процессов в тканях и органах тела эмбриона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Абелев, Г.И. α -Фетопротеин / Г.И. Абелев // Вестник РАМН. 2001. – С. 77-83.
2. Бессарабов, Б.Ф. Инкубация яиц с основами эмбриологии сельскохозяйственной птицы / Б.Ф. Бессарабов. – М.: Колос С, 2006. – 240 с.
3. Терентьев, А.А. 45 лет альфа-фетопротеину как диагностическому биомаркеру / А.А. Терентьев, Ю.С.Татарин, Д.М. Никулина / Астраханский медицинский журнал. 2008. - Т.3. – С. 3-6.
4. Хохлов, Р.Ю. Функциональная морфология органов размножения кур в онтогенезе: Автореф. Дисс. ... д. биолог. наук / Р.Ю. Хохлов. – Уфа: 2009. – 36 с.
5. Черешнев, В.А. Альфа – фетопротеин / В.А. Черешнев, С.Ю. Родионов, В.А. Черкасов, Н.Н. Малютина, О.А. Орлов. - Екатеринбург: УрО РАН, 2004. - 376 с.
6. Шмагель, К.В. Альфа – фетопротеин: строение, функции и роль в эмбриогенезе / К.В. Шмагель, В.А. Черешнев // Акушерство и гинекология. 2002. – С. 6-8.
7. Шмагель, К.В. Иммуитет беременной женщины / К.В. Шмагель, В.А. Черешнев. – М.: Медицинская книга, 2003. – 226 с.

L. Timchenko, A. Ponomarenko, S. Chernikov

THE MAINTENANCE OF ALPHA-FETOPROTEIN IN HOMOGENATE OF CHICKEN EMBRYO AND ITS INTERRELATION WITH MORFOMETRICAL INDICATORS OF GROWTH AND DEVELOPMENT OF ORGANISM

Abstract: The Alpha-fetoprotein is present at all stages embryogenesis of chicken embryo, its maintenance is not constant in development. Dynamics of change AFP coincides only at separate stages of development with indicators of body weight and Kettle I index, that, probably, is connected with activation of processes proliferation in various fabrics, bodies and in an organism as a whole.

Key words: alpha-fetoprotein, chicken embryo, embryogenesis, index Kettle I, body weight.