

можно говорить об активации остеобластических процессов (рис. 1).



Рис. 1. Зона регенерата. Контроль, 10 суток. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение 100х. В костном регенерате – структуры фибро- и хондробластических дифферонов.

Введение Г-КСФ вызывало значительное угнетение костеобразования за счет снижения пролиферации остеобластов и стимуляции процесса остеокластической резорбции (рисунок 2). Следует отметить, что под влиянием Г-КСФ в зоне регенерата повышалась доля менее дифференцированной ткани – волокнистой. Это также указывает на замедление образования и созревания костной ткани.

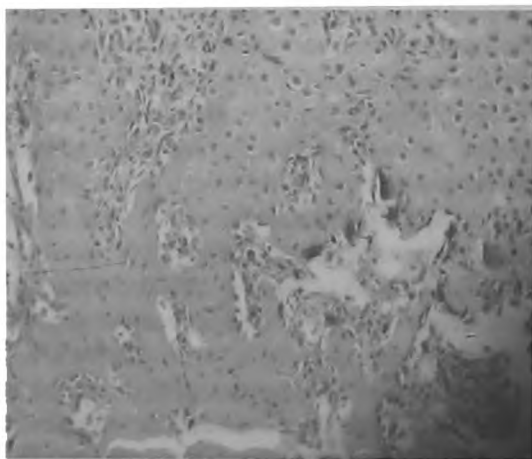


Рис. 2. Зона регенерата, 10 суток после перелома, воздействие Г-КСФ. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200х. Выражена остеокластическая реакция.

Использование морфометрии позволило показать, что удельная доля клеток в регенери-

рующей ткани на фоне терапии Г-КСФ падала на 125% в сравнении с контролем.

Таким образом, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор при скелетной травме усиливает остеокластическую резорбцию и ингибирует формирование костного регенерата.

Д. А. Егоров, Л. И. Савельев,  
С. В. Цвиренко

### РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-МЕХАНИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ КОМПЛЕКСОВ КАТАЛАЗЫ HELICOBACTER PYLORI С НАДФН<sub>2</sub> И ЕГО ФРАГМЕНТАМИ

Областная детская клиническая больница №1,  
г. Екатеринбург  
Уральская государственная медицинская академия

Монофункциональные гемсодержащие каталазы – широко распространенные среди аэробных организмов ферменты, преобладающей активностью которых является катализ реакции разложения пероксида водорода на молекулярный кислород и воду. Хотя каталазы являются одними из наиболее изученных ферментов не только в своей группе, но и среди известных к настоящему времени ферментов, многие вопросы их организации и функционирования остаются нерешенными. Так, некоторые классические каталазы, включая ферменты животных и человека, а также некоторые каталазы бактерий и грибов, образуют комплексы с НАДФН<sub>2</sub>. Функция этого лиганда в каталазах окончательно не установлена, хотя предполагается, что он участвует в защите ферментов от необратимого ингибирования пероксида водорода путем восстановления побочных продуктов взаимодействия гема и субстрата (Loew O., 1990). Однако некоторые монофункциональные гемсодержащие каталазы не связывают НАДФН<sub>2</sub> при сохранении высокой степени близости своей пространственной структуры к каталазам, образующим

комплексы с НАДФН<sub>2</sub>. Например, каталаза из *Helicobacter pylori* (ГПК) – монофункциональная гемсодержащая каталаза, для которой рентгеноструктурными и биохимическими методами подтверждено отсутствие способности к образованию комплекса с НАДФН<sub>2</sub> (Loewen P. C. et al., 2004). Моделирование комплексов ГПК с НАДФН<sub>2</sub> и его фрагментами – неорганическими монофосфатами и 2',5'-АДФ, ключевыми для образования комплекса, может способствовать лучшему пониманию взаимодействия каталаз с НАДФН<sub>2</sub>.

ГПК обнаружены шесть модельных сайтов неорганических моно-фосфатов, все вне области, соответствующей сайту НАДФН<sub>2</sub> в связывающих этот лиганд каталазах (минимальные СКО 8.458, 14.433 и 12.815 соответственно от 2'-, 5'-аденинового и 5'-никотинамидного фосфатов НАДФН<sub>2</sub> из ЧЭК). В них расположены пять кластеров Н<sub>2</sub>РO<sub>4</sub><sup>-</sup> (сайты 1-4), два кластера НРO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (сайты 1,5) и два кластера РO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (сайты 5-6). Модели Н<sub>2</sub>РO<sub>4</sub><sup>-</sup> с минимальными энергиями находятся в первом сайте. Модели НРO<sub>4</sub><sup>2-</sup> и РO<sub>4</sub><sup>3-</sup> с минимальными энергиями расположены в пятом сайте и взаимодействуют со связывающими карбоксилатные группы гема аминокислотами.

Наличие большого числа удаленных друг от друга модельных сайтов неорганических монофосфатов указывает на исчерпывающий поиск положений этих лигандов в объеме моделирования в ГПК. Таким образом, результаты указывают на отсутствие в ГПК специализированного сайта связывания 2'-фосфата НАДФН<sub>2</sub>.

В ГПК модели 2',5'-АДФ удалены от 2',5'-АДФ НАДФН<sub>2</sub> из ЧЭК (минимальное СКО 3.411). Большинство из них расположены по обе стороны от гистидина-218, несколько - у лизинов-188 и -224 или аргинина-184, три - в гемовом кармане. Минимальные СКО фосфатов моделей 2',5'-АДФ от фосфатов НАДФН<sub>2</sub> из ЧЭК и от моделей неорганических фосфатов равны 1.714 и 2.173 соответственно.

Оба сайта, в которых обнаружены модели с минимальной энергией, частично занимают область, соответствующую сайту связывания НАДФН<sub>2</sub> в других каталазах. Кроме того, хотя

эти сайты разделены в пространстве, они граничат друг с другом. Близость энергий моделей 2',5'-АДФ в этих сайтах означает наличие двух существенно различных вариантов размещения всего лиганда – НАДФН<sub>2</sub> в одном и том же сайте, что противоречит известным экспериментальным данным. Таким образом, наличие двух равноценных по энергии и граничащих друг с другом сайтов связывания 2',5'-АДФ в ГПК должно препятствовать корректному размещению НАДФН<sub>2</sub>.

Модели НАДФН<sub>2</sub> в ГПК относительно равномерно распределены в области, соответствующей сайту связывания НАДФН<sub>2</sub>. Они удалены от НАДФН<sub>2</sub> из ЧЭК, а их фосфаты - от моделей неорганических фосфатов (минимальные СКО 3.017 и 5.677 соответственно).

Обладающая минимальной энергией модель НАДФН<sub>2</sub> в ГПК обособлена от остальных моделей по энергии и положению (минимальное СКО 6.489), 2',5'-АДФ в ней удален от минимальной по энергии модели 2',5'-АДФ (СКО 6.701 соответственно). В этой модели 2'-фосфат не принимает участия во взаимодействии с ферментом, что согласуется с отсутствием в ГПК специализированного сайта связывания этого фрагмента. Поэтому комплекс с минимальной энергией не может существовать в водном растворе, поскольку в нем, кроме потери благоприятных контактов 2'-фосфата с ГПК, должна происходить интенсивная гидратация 2'-фосфата.

Моделирование неорганических монофосфатов позволило надежно установить отсутствие в ГПК специализированного сайта связывания 2'-фосфата НАДФН<sub>2</sub>. Результаты моделирования 2',5'-АДФ и НАДФН<sub>2</sub> в ГПК менее однозначны из-за возможного отсутствия реалистичной геометрии, как это наблюдалось в ЧЭК. Однако, отбор моделей 2',5'-АДФ и НАДФН<sub>2</sub> по энергии свидетельствует в пользу невозможности образования комплекса НАДФН<sub>2</sub> и ГПК.