Илүү болон хэвийн тээлтийн үед ихсийн сорьцонд уургийн идэвхжилийг үнэлсэн дүн

Э.Саруулсайхан[1], Д.Амгаланбаатар[1], Т.Балжинням[2], Ж.Энхцэцэг[1], С.Энэбиш[1]

[1]Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль
[2]АУХ. Эрдэм Шинжилгээний төв лаборатори
Цахим шуудан: fbm16f005@gt.mnums.edu.mn, Утас: 99999403

Түлхүүр үг:

SHP-2
p38
Уургийн идэвхжил

Товч утга:

Үндэслэл: Ихсийн өсөлтөд SHP-2 уураг нөлөөлдөг хэдий ч SHP-2 уургийн үүрэг тодорхойгүй хэвээр байна.p38 MAPK нь ихсийн органогенез болон трофобластын ялгаран хөгжилд чухал үүрэгтэй. **Зорилго:** Ихсийн сорьцонд SHP2 болон p-p38 уургийн идэвхжилийг тодорхойлох. **Арга зүй:** Ихсийн эдээс ялгасан уургийн концентрацийг BCA туршилтийн цомгоор ELISA уншигч ашиглан тодорхойлсон. Ихсийн сорьцонд SHP2 болон p-p38 уургийн идэвхжилийг иммуноблотингийн аргаар тодорхойлсон. **Үр дүн:** Иммуноблотинг шинжилгээний үр дүнгээс харахад хэвийн тээлттэй бүлэг буюу илүү тээлттэй эхийн ихсийн сорьцонд SHP2 уургийн нийлэгжилт харилцан адилгүй ихэссэн. Хэвийн болон илүү тээлтийн үед ихсийн сорьцонд үрэвслийн транскрипцийн фактор болох фосфоржсон p38 уургийн идэвхжил тодорхойлогдсонгүй. **Дүгнэлт:** Илүү тээлттэй ихсийн сорьцонд SHP2 уургийн нийлэгжилт жигд тодорхойлогдож байна. Илүү тээлтийн үед P38 уургийн ихсийн эдэд идэвхжил илрээгүй байна.

Үндэслэл: Ураг өсөж хөгжихийн тулд хүчилтөрөгч, шим тэжээлийг бүрэн авах шаардлагатай бөгөөд эдгээрийн аль аль нь ихсээр дамжин ураг руу ордог. Хэрэв ихсийн хэмжээ нэмэгдэхгүй бол урагт шим тэжээл, хүчилтөрөгч дутагдаж, түүний өсөлт удааширдаг. Энэ нь нярайн эрүүл мэндэд ноцтой нөлөөлж, ургийн хөгжлийн эмгэг нь хүний насанд хүрэх үеийн эрүүл мэндэд нөлөөлдөг. Үр хөврөлийн өсөлтийн явцад түүний хэрэгцээ нэмэгдэхийн хэрээр ихэс нь эрчимтэй өсөж томордог болохыг судлаачид тэмдэглэсэн байдаг[1].

Ургийн өсөлтийн үед хүний ихсийн эсийн хөгжлийг зохицуулахад SHP-2 нь чухал нөлөөтэй гэж үздэг. (Yang et al. 2006)[2].

SHP-2 уураг нь ихсийн ургалтыг дэмжихэд оролцдог[3]. Эрдэмтэд инсулин төст өсөлтийн хүчин зүйл (insulin-like growth factor) (IGF) хэмээх уургийг судалсан байна. Судалгааны дүнд ихсийн эс дэхь SHP-2 молекул нь ихэсд IGF-ийн үйл ажилагаанд гол дамжуулагч болох нь тогтоогджээ[2].

Ихсийн дутмагшил үүсэхэд өсөлтийн хүчин зүйлс нөлөөлж болно. SHP-2 нь IGF төдийгүй бусад өсөлтийн хүчин зүйлстэй уялдаж өвчний эмгэг жамд оролцдог. Эдгээрээс үзэхэд ихсийн өсөлтөд SHP-2 уураг нөлөөлдөг хэдий ч SHP-2 уургийн үүрэг тодорхойгүй хэвээр байна[4].

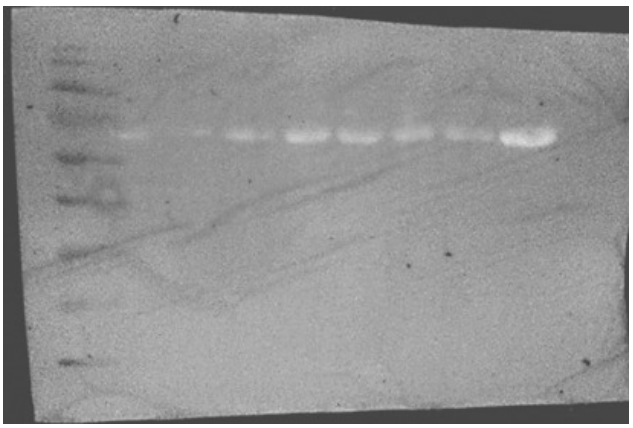
Жирэмсний 7-9 долоо хоногтойд хэт исэлдэлт ихэссэний үр дүнд p38 MAPK идэвхижснээр ихсийн эрт үеийн хөгжил, физиологийн үйл ажиллагаанд нөлөөлж ихсийн эмгэг үүсгэхэд оролцоно[5]. p38 MAPK нь ихсийн органогенез, трофобластын ялгаран хөгжилд чухал үүрэгтэй[6,7]. p38 MAPK зам нь ихсийн доторх өсөлтийн хүчин зүйлийн дохиоллын чухал дамжуулагч юм[2].

Жирэмсний тээлтийн хугацаа болон ихсийн апоптоз нь өөр хоорондоо уялдаатай байна[8]. Ургийн өсөлтийн саатлын үед ихсийн апоптоз ихэсч байгаа нь батлагдсан[9]. Жирэмсний илүү тээлтийн үед апоптозын хэмжээ ихэссэн нь ихсийн хэвийн хөгшрөлтийн явцыг хурдасгана. Хэрэв анхдагчаар апоптоз явагдвал жирэмсний илүү тээлттэй холбоотой өвчлөл нэмэгдэхэд нөлөөлж болно[10].

Эдгээр судалгаанаас үзэхэд p38 MAPK нь эсийн доторхолон төрлийн үйл ажиллагаанд оролцож ихсийн ялгаран хөгжил, илүү тээлт, жирэмсний зарим эмгэгийн үеийн ихсийн өөрчлөлтөнд нөлөөлдөг байж болох юм[10].

Зорилго: Ихсийн сорьцонд SHP2 болон p-p38 уургийн идэвхжилийг тодорхойлох

Арга аргачлал: Ихсийн эдээс ялгасан уургийн концентрацийг BCA туршилтийн цомгоор ELISA уншигч ашиглан тодорхойлсон. Уургийн суспензээс 2мкл-ийг авч 23мкл PBS-ээр шингэлж BCA-ын ажлын уусмалаас 200мкл нэмж гэрлийн шингээлтийг хэмжсэн.Уургийн концентраци нь хэвийн тээлттэй бүлгийн ихсийн эдэд 43.17-50.46 мкг/мл, илүү тээлттэй бүлгийн ихсийн сорьцонд 50.6-66.64 мкг/мл хооронд тодорхойлогдож байлаа (Хүснэгт1). Цаашид бид гелийн нүх тус бүрт 20-40 мкг уураг байхаар тооцож ашигласан.



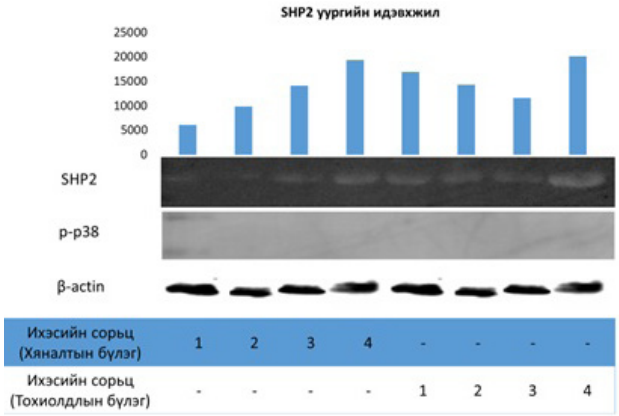
Зураг 1. Илүү болон хэвийн тээлттэй эхчүүдийн ихэс дэх SHP_2 уургийн нийлэгжлийг үнэлсэн байдал

Хүснэгт1. Ихсийн сорьцонд уургийн концентрацийг тодорхойлсон дүн

	Бүлэг	Хэмжилт1	Хэмжилт 2	Хэмжилт 3	BSA 1	BSA 2	BSA 3	Дундаж	Шингэлэлт (×12.5)	Laemmli buffer (×5)	20 мкг	30 мкг	40 мкг
Хэвийн тээлттэй бүлэг	Хэвийн тээлт-ихсийн сорьц 1	0.37	0.38	0.42	4.22	4.32	4.96	4.50	56.27	45.02	0.44	0.67	0.89
	Хэвийн тээлт - ихсийн сорьц 2	0.38	0.40	0.41	4.34	4.63	4.74	4.57	57.12	45.70	0.44	0.66	0.88
	Хэвийн тээлт-ихсийн сорьц 3	0.40	0.36	0.38	4.58	4.02	4.35	4.32	53.97	43.17	0.46	0.69	0.93
	Хэвийн тээлт - ихсийн сорьц 4	0.43	0.43	0.43	5.09	5.04	5.01	5.05	63.08	50.46	0.40	0.59	0.79
Илүү тээлттэй бүлэг	Илүү тээлт - ихсийн сорьц 1	0.43	0.43	0.43	5.01	5.07	5.11	5.06	63.26	50.61	0.40	0.59	0.79
	Илүү тээлт - ихсийн сорьц 2	0.47	0.51	0.50	5.65	6.22	6.06	5.97	74.67	59.74	0.33	0.50	0.67
	Илүү тээлт - ихсийн сорьц 3	0.50	0.51	0.54	6.00	6.28	6.71	6.33	79.11	63.28	0.32	0.47	0.63
	Илүү тээлт - ихсийн сорьц 4	0.52	0.53	0.57	6.36	6.48	7.15	6.66	83.30	66.64	0.30	0.45	0.60

Тайлбар: Хэвийн тээлттэй бүлэгт хэвийн тээлттэй, илүү тээлттэй бүлэгт илүү тээлттэй тус бүр 4 эхийг хамруулан ихсийн эдийг цуглуулсан. Уургийн концентраци тодорхойлохдоо гэрлийн шингээлтийн хэмжилтийг 3 удаагийн давтамжтай хийсэн ба гарсан үр дүнг стандарт альбумины муруйтай (BSA, Bovine Serum Albumin) харьцуулан үнэлсэн. Дундаж уттыг шингэлэлтийн факторoор (x12.5) үржүүлж, x5Laemmli buffer-т агуулагдах уургийн эцсийн концентрацийг тодорхойлсон. Гелийн нүх тус бүрт 20-40 мкг уураг байхаар тооцож ашигласан.

Ихсийн сорьцонд SHP2 болон p-p38 уургийн идэвхжилийг иммуноблотингийн аргаар тодорхойлсон дүн: Илүү болон хэвийн тээлттэй эхийн ихсийн сорьцонд SHP2 болон p-p38 уургийн идэвхжлийгантиген өвөрмөц анхдагч эсрэг бие ашиглан иммуноблотингийн шинжилгээгээр тодорхойлсон. Иммуноблотингийн үр дүнг ImageJ программ ашигла дотоод хяналтын бандтай харьцуулан графикаар харуулав. Иммуноблотинг шинжилгээний үр дүнгээс харахад хэвийн тээлттэй бүлэг буюу хэвийн тээлттэй эхийн ихсийн сорьцонд SHP2 уургийн нийлэгжилт харилцан адилгүй ихэссэн. Тухайлбал, 1 ба 2-р ихсийн сорьцонд SHP2 уургийн идэвхжил бага байсан бол 3 ба 4-р ихсийн сорьцонд SHP2 уургийн идэвхжил өндөр тодорхойлогдсон. Харин илүү тээлттэй бүлэг буюу илүү тээлтийн үед ихсийн нийт сорьцонд SHP2 уургийн нийлэгжилт өндөр байсан. Хэвийн болон илүү тээлтийн үед ихсийн сорьцонд үрэвслийн транскрипцийн фактор болох фосфоржсон p38 уургийн фосфоржилт тодорхойлогдоогүй. (Зураг 2).



Зураг 2. Ихсийн сорьцонд SHP2 болон p38 уургийн экспрессийг тодорхойлсон үр дүн.

Тайлбар: Хэвийн тээлттэй бүлэгт хэвийн тээлттэй 4, илүү тээлттэй бүлэгтилүү тээлттэй тус бүр 4 эхийг хамруулан ихсийн эдийг цуглуулсан. Ихсийн сорьцонд SHP2 болон фосфоржсон p38 уургийн нийлэжлийг иммуноблотингийн шинжилгээгээр үнэлсэн. Дотоод хяналтаар β-actin уургийг ашигласан.Иммуноблотингийн үр дүнг ImageJ программ ашиглан дотоод хяналттай харьцуулан графикаар үзүүлэв.

Илүү болон хэвийн тээлттэй эхийн ихсийн сорьцондахь SHP2 болон p-p38 уургийн идэвхжил: Ургийн өсөлтийн үед SHP-2 нь хүний ихсийн эсийн хөгжлийг зохицуулахад нөлөөтэй гэж Yang нар дурдсан байдаг[2]. Судалгааны дүнд ихсийн эс дэхь SHP-2 молекул нь ихэсд IGF-ийн үйл ажилагаанд гол дамжуулагч болохыг тогтоосон[2]. Мөн SHP-2 уураг нь ихсийн ургалтыг дэмжихэд оролцдог байна[3]. Эдгээрээс үзэхэд ихсийн өсөлтөд SHP-2 уураг нөлөөлдөг нь тодорхой боловч энэ уургийн үүрэг ялангуяа илүү тээлтийн үед одоо болтол тодорхойгүй хэвээр байна.

Мөн p38 MAPK нь эсийн доторх олон төрлийн үйл ажиллагаанд оролцож ихсин ялгаран хөгжил, илүү тээлт, жирэмсний зарим эмгэгийн үеийн ихсийн өөрчлөлтөнд нөлөөлдөг байж болох юм гэж судлаачид тэмдэглэсэн байдаг[10].

Бидний судалгааны хэвийн болон илүү тээлттэй эхийн ихсийн сорьцонд SHP2 болон p-p38 уургийн идэвхжлийг иммуноблотингийн шинжилгээгээр тодорхойлсон дүнгээс ажиглахад хэвийн тээлттэй эхийн ихсийн сорьцонд SHP2 уургийн нийлэгжилт харилцан адилгүй ихэссэн нь харагдаж байсан бол илүү тээлтийн үед ихсийн нийт сорьцонд SHP2 уургийн нийлэгжилт өндөр байсан. Харин хэвийн болон илүү тээлтийн үед ихсийн сорьцонд үрэвслийн транскрипцийн фактор болох p38 уургийн фосфоржилт тодорхойлогдоогүй. Эдгээр үр дүнгээс үзэхэд илүү тээлтийн үед SHP2 уураг идэвхждэг байж болох юм гэсэн дүгнэлтэнд хүрэхээр байна. Үүнийг нөгөө талаас нь авч үзвэл SHP-2 уураг нь ихсийн ургалтыг дэмжихэд оролцдог гэсэн зарим судлаачдын дүгнэлттэй дүйж байна[3].

Дүгнэлт: Илүү тээлттэй ихсийн сорьцонд SHP2уургийн нийлэгжилт жигд тодорхойлогдож байна. Илүү тээлтийн үед P38 уургийн ихсийн эдэд идэвхжил илрээгүй байна.

Ном зүй.

1. *А.И. Краюшкин, Е.Г. Багрий, Э.А. Алиева Морфологич ескиеособенностиплацент у многорожавшихженщин с бессимптомнойбактериурией. Волгоградскийнаучно-медицинскийжурнал 3/2014. стр.15-20.*
2. *Forbes K, Westwood M. Maternal growth factor regulation of human placental development and fetal growth. The Journal of endocrinology. 2010;207(1):1-16.*
3. *Scientists Discover Key Factor In Regulating Placenta And Fetal Growth. Biotechnology and Biological Sciences Research Council 2009; https://www.sciencedaily.com/releases/2009/09/090920204447.htm. Accessed 2020.01.21.*
4. *Обнаружен ключевой фактор регуляции роста плаценты и эмбриона. Новости. Беременность, роды 2009; https://www.med-practic.com/rus/699/7518/article.more.html. Accessed 2020.01.25.*
5. *Hernandez I, Fournier T, Chissey A, et al. NADPH oxidase is the major source of placental superoxide in early pregnancy: association with MAPK pathway activation. Scientific reports. 2019;9(1):1-12.*
6. *Adams JM. Ways of dying: multiple pathways to apoptosis. Genes & development. 2003;17(20):2481-2495.*
7. *Webster RP, Brockman D, Myatt L. Nitration of p38 MAPK in the placenta: association of nitration with reduced catalytic activity of p38 MAPK in pre-eclampsia. Molecular human reproduction. 2006;12(11):677-685.*
8. *Smith S, Baker PN, Symonds EM. Placental apoptosis in normal human pregnancy. American journal of obstetrics and gynecology. 1997;177(1):57-65.*
9. *Smith SC, Baker PN, Symonds EM. Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction. American journal of obstetrics and gynecology. 1997;177(6):1395-1401.*
10. *Smith SC, Baker PN. Placental apoptosis is increased in post-term pregnancies. BJOG: An International Journal of Obstetrics &Gynaecology. 1999;106(8):861-862.*

Evaluation of protein activity in placental specimens during normal and postterm pregnancies

Saruulsaikhan E[1], Amgalanbaatar D[1], Baljinnyam T[2], Enkhtsetseg J[1], Enebish S[1]

[1]Mongolian national university of medical science
[2]Central Scientific Research Laboratory. Institute of Medical Sceince
Emal: fbm16f005@gt.mnums.edu.mn, Tel: 99999403

Background: Although the role of SHP-2 protein in placental growth is unknown the role of SHP-2 protein remains unclear.
Objective: Determination of SHP2 and p-p38 protein activity in placental samples.
Methods: The concentration of protein isolated from placental tissue was determined using an ELISA reader in a BCA test album. The activity of SHP2 and p-p38 proteins in placental samples was determined by immunoblotting.
Results: Immunoblotting results showed that the production of SHP2 protein varied in the placental specimens of the normal and postterm pregnant group. No activity of phosphorylated p38 protein, an inflammatory transcription factor, was detected in placental specimens during normal andpostterm pregnant group.
Conclusion: SHP2 protein synthesis isuniform in placental specimens postterm pregnant. P38 protein not found to be active in the placenta items postterm pregnant.

Key words: SHP-2, P-38, protein activation.