G. Somlyai, G. Jancsó, Gy. Jákli, M. Molnár, G. Laskay, L.Z. Fehér, L.G. Puskás

NATURALLY OCCURRING DEUTERIUM IS ESSENTIAL FOR THE NORMAL GROWTH RATE OF CELLS

**Встречающийся в природе дейтерий необходим для нормального роста клеток**

Леди и джентльмены, название данной презентации – «Встречающийся в природе дейтерий необходим для нормального роста клеток». В презентации будет говориться о тяжёлом водороде, дейтерии. Я хотел бы показать пару слайдов. Мы знаем, что дейтерий – это тяжёлый водород, мы знаем, что дейтерий и водород ведут себя по-разному в химических реакциях, и мы также знаем, что на нормальной поверхности воды концентрация дейтерия – примерно 150 ppm (частей на миллион), что эквивалентно 6-8 милимоль на литр.

Вопрос, который я задал себе очень давно… мы можем пронаблюдать, что концентрация дейтерия в человеческой сыворотке крови – 12- 14 ммоль/литр, и если сравнить её с концентрацией кальция или магния, получится, что концентрация дейтерия выше. Итак, вопрос: «Играет ли дейтерий какую-либо роль в жизни живых организмов?» Чтобы ответить на этот вопрос, нужно провести эксперимент и лишить организм дейтерия или сократить его количество – затем пронаблюдать, оказало ли это влияние на биологическую систему.

Итак, самый простой эксперимент – это создать для клеток среду из лёгкой воды и посмотреть, влияет ли это на их рост. Это был один из ранних экспериментов – мы использовали 929 клетки (in vitro, вне живого организма) и увидели, что лёгкая вода препятствовала росту клеток и медленно повышала деконцентрацию веществ, способствующих размножению клеток.

Другой эксперимент был проведён Габором Ласкеем. Он использовал иной тип клеток. Здесь мы видим, что клетки были перенесены из обычной воды в лёгкую воду (я имею в виду, в среду с лёгкой водой). В среде с лёгкой водой рост клеток замедлялся на какое-то время, но примерно через 12-15 часов возобновлялся.

Ещё один эксперимент с HT-29 линией клеток – это клетки колоректального рака – мы можем увидеть эффект: вначале нормальная концентрация дейтерия, затем повышение концентрации – и оно начало препятствовать развитию клеток.

Корпорация «Онкотех» в Ирвине, США, тестирующая важнейшие фармакологические соединения, провела эксперимент на 3 различных линиях клеток: PC-3 (простата), MCF-7 (молочные железы), M14 (меланома) – и так же подтвердилось, что лёгкая вода подавляет рост клеток.

Во всех этих in vitro-экспериментах мы сокращали количество дейтерия одним шагом. Далее учёные приняли решение урезать концентрацию не сразу же, а постепенно, в 5 этапов. И данная диаграмма показывает, что концентрация была снижена почти вдвое через 24 часа, втрое – в пределах 72 часов, и чем больше уменьшалась концентрация, тем больше рос фактор препятствования росту клеток. Это одна линия клеток… С другой линией клеток мы можем увидеть аналогичный результат. Эти эксперименты – что-то сродни тому, что мы могли бы наблюдать при употреблении людьми или животными лёгкой воды – постепенное снижение концентрации дейтерия.

Мы проводили опыты и на линии клеток, не являющихся опухолевыми – на миометрических клетках, - мы наблюдали определённый эффект, но он не был настолько ярко выраженным по сравнению с эффектом на опухолевых клетках.

В ранних опытах с животными мы использовали клетки рака груди, привитые мышам. В начале эксперимента у нас было 17 мышей в испытуемой группе и 11 в контрольной группе. Через 87 дней после начала эксперимента в группе, потреблявшей лёгкую воду, в живых осталось 11 мышей, не имевших никакой опухоли, в другой группе же погибли все мыши, кроме 1. Лёгкая вода давалась мышам с первого же дня после трансплантации клеток.

В другом эксперименте мы использовали по 22 мыши в каждой – контрольной и испытуемой – группе. Мышам прививались клетки рака простаты. Первые 32 дня обе группы потребляли обычную воду. И размеры опухолей у особей обеих групп были одинаковыми. Потом вода для испытуемой группы была заменена на лёгкую – в контрольной группе рост опухоли прогрессировал, в испытуемой же – замедлился, и размеры опухоли были намного меньше.

Ещё один эксперимент. Мы снова использовали клетки рака простаты. Клетки были трансплантированы. В первые 18 дней после трансплантации обе группы потребляли простую воду, затем испытуемая группа получала лёгкую воду в течение 12 дней. После этого животные были убиты и проверены на наличие в клетках митоза и апоптоза. Мы обнаружили, что в контрольной группе митозу были подвержены 3,6% клеток и только 1% - апоптозу. Средний размер опухоли составлял 3,7 кубических сантиметров. В другой группе результат был прямо противоположный – лёгкая вода стимулировала апоптоз, и размер опухоли был намного меньше – это даёт возможность предположить, что лёгкая вода каким-то образом может влиять на апоптоз.

Ласкей провёл эксперимент in vitro по похожей системе – на независимых сцепленных линиях клеток. Использование сцепленных линий означает повышение уровня апоптоза. Здесь наблюдался эффект в простой воде и в лёгкой воде. График показывает, что каким-то образом лёгкая вода усиливает апоптоз, а значит, оказывает очень важное влияние на клетки.

Вопрос в том: «Как мы можем объяснить такие результаты?» Если мы вернёмся немного назад, мы увидим, что увеличению количества клеток предшествует активация системы перемещения соединений натрия с водородом, что провоцирует повышение уровня ph – и это приводит к увеличению числа клеток. В журнале «Nature» была опубликована статья. В ней сказано, что учёные выделили гидрофильный ген ATPS из дрожжей и использовали этот ген для изменения клеточной культуры. Они смогли доказать, что клетки содержат этот ген - ATPS находится в клеточной мембране и выделяет водород; они также заметили, что произошло изменение кислотности.

Но все были удивлены тем фактом, что новообразование обладает фенотипом раковой опухоли, так что никто не мог объяснить, как вышло так, что ген ATPS ведет себя как ген, отвечающий за онкологию. Полученное нами объяснение верно, если провести ещё опыты и если предположить, что живые организмы могут различать водород и дейтерий. Когда мы исследовали различия между изотопами, мы нашли несколько документов, свидетельствующих о том, что живые организмы различают эти два изотопа водорода.

Например, значительное водородно-дейтериумное фракционирование в жирах и висцеральных жидкостях наблюдается в большинстве живых организмов. Или различия между изотопами водорода в высших растениях, зависящие от способов усвоения углекислого газа. Или же отличия в различении дейтерия в фосфоро-водородном и фосфоро-дейтериумном обмене в фосфорной кислоте. На сегодняшний день ясно, что живые организмы настолько сложно устроены, что они могут различать дейтерий и водород. Но, для нас очень важно то, что также есть документ, в котором сказано, что гидрофильная ATPS не исключает дейтерий из числа оснований. Это значит, что эти ферменты настолько сложные, что они различают водородное основание и выделяют его на мембрану, а дейтериевое - нет.

Итак, совмещая эти результаты со всеми полученными ранее, можно сказать, что существует сигнал, после которого следует выброс на мембрану и активация системы переноса водорода, мы знаем, что эта система постарается уничтожить водород, что изменит соотношение дейтерия и водорода, что послужит главным сигналом для клетки. А если использовать тяжелую воду, то даже если система активируется, клетки не смогут поднять соотношение до нужной величины, или же этот процесс займет гораздо больше времени.

И это причина того, что мы можем влиять на весь метаболизм и инициировать апоптоз. Есть другой эксперимент, подтверждающий это, Габор Ласкей позже покажет вам похожий. В этом эксперименте мы осуществили кислотную надбавку и понизили уровень pH примерно до 3,3. Затем мы пронаблюдали за антипортом соединений натрия с водородом – как он работает и как восстанавливает pH в клетке. И, как мы видим, результаты разнились в зависимости от концентрации.

Поэтому мы можем предположить, что каким-то образом антипорт натриево-водородных соединений чувс твителен к деконцентрации и может изменять активность переносной системы.

Я продемонстрирую вам, что в опытах in-vitro наблюдалось, что чем меньше была концентрация, тем сильнее шёл процесс торможения. Но настоящим вопросом остаётся то, как мы можем изменять экспрессию гена COX-2. COX-2 играет ключевую роль в развитии опухолей и отвечает на энзимы, синтезирующие простагландин. И что мы можем здесь увидеть – мы видим ясную взаимосвязь между концентрацией дейтерия и экспрессии гена COX-2. В то же время мы видим взаимосвязь концентрации простагландина и деконцентрации дейтерия. Чем ниже уровень дейтерия, тем ниже уровнь простагладина. И вопрос состоял в том, играет ли простагладин какую-либо роль в этом сдерживающем факторе. Поэтому мы поставили ещё один эксперимент – мы ввели простагладин обратно в клетку и проверили, как мы можем сократить ингибирующий эффект дейтерия. И мы сделали это, т.к. как только мы повышали концентрацию простагладина, эффект лёгкой воды сразу же исчезал. Так что это может быть 1 из примеров того, как лёгкая вода может вмешиваться в клеточные процессы и изменять экспрессии генов и энзимы, которые тесно связаны с ростом клеток.

В другом эксперименте мы просто проверили схему киназы, которая была обработана 2 минуты после того как клетка получила сигнал. И вы можете видеть, что когда мы использовали лёгкую воду, этого не произошло, т.к. мы изменили систему.

Позже мы пошли дальше и выбрали ДНК, содержащее 30000 человеческих генов – и вот результаты, которые мы получили. Что мы заметили с первого взгляда – то, что пара сотен экспрессий генов была изменена в среде с лёгкой водой. Этот результат был таким сложным, что мы решили не продолжать исследование в этом направлении и выбрали другое ДНК всего лишь с 500 различными генами и в процессе эксперимента обнаружили 7 генов, которые особо остро реагировали на снижение концентрации дейтерия – экспрессия генов то понижалась, то повышалась.

Суммировав все результаты данных экспериментов, мы можем сказать, что реакции на сокращение дейтерия в среде – сложные явления, и я думаю, что нас ждёт очень большая работа в выявлении причин и истоков этих процессов.

Итак, заключение.

- дейтерий, встречающийся в природе естественным образом, может играть ключевую роль в регуляции клеточного цикла

- изменение соотношения дейтерия/водорода может являться сигналом индукции некоторых клеточных процессов

- изменение соотношения дейтерия/водорода может одновременно видоизменять экспрессию генов и активность определённых энзимов

- результаты показывают, что в клетках может существовать не известная до этого времени субмолекулярная регуляционная система

- изучение взаимодействия дейтерия/водорода и субмолекулярной регуляционной системы может быть новой целью на пути к разработке лекарства от рака

Прежде чем я завершу свою речь, я хочу попросить вас – подумайте, насколько сложна структура клетки животного! А в клетке человека, как мы знаем, присутствует ДНК длиной 1,8 м. Геном человека включает в себя более 3 биллионов пар оснований ДНК, которые помещаются в клетке размером 30-40 микрометров в диаметре.

Мы изучили метаболические пути, они устроены очень сложно. Загадка, как жизнь смогла организовать такие сложные системы, в том числе и субмолекулярную регуляционную систему. И если мы будем двигаться в этом направлении, мы достигнем больших успехов. Используя компьютеры и хорошее оборудование, мы можем сделать пару расчетов и изобрести чип, способный быть более полезным, чем эта огромная установка.

Жизнь способна организовывать очень сложные системы; субмолекулярные системы способны синхронно видоизменять экспрессию генов и протеинов и каким-то образом гармонизировать все процессы в клетке. Это всё. Спасибо за внимание

- Спасибо за презентацию. Тема открыта для дискуссии. Какие-нибудь вопросы или комментарии? Если нет вопросов (я думаю, они появятся позже), мы продолжим. Спасибо.

- Спасибо.

- Позвольте мне представить следующего выступающего – им буду я! Моя речь будет о физиологических эффектах тяжёлой воды.