

## ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ТЕРМОСТАБИЛЬНОГО БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ЖЕЛУДОЧКОВ СЕРДЦА ВЗРОСЛЫХ КРЫС

© Н. М. Гиоргобиани,<sup>1</sup> Д. В. Дзидзигури,<sup>1</sup> Л. П. Русишвили,<sup>1</sup> Е. М. Гиоргобиани,<sup>2</sup>  
М. Р. Чхобадзе,<sup>1</sup> Г. Д. Туманишвили<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили и

<sup>2</sup> Институт экспериментальной морфологии АН Грузии им. Ал. Натишвили, Тбилиси, Грузия;  
электронный адрес: nana\_giorg@yahoo.com

Термостабильный белковый комплекс (ТСБК), полученный из желудочков миокарда взрослых крыс, ингибирует митотическую и транскрипционную активность кардиомиоцитов. При этом ТСБК проявляет большую активность на ранних стадиях постнатального онтогенеза крыс (1 и 5 сут). Тканеспецифичность при влиянии ТСБК на синтез РНК, опосредованная ядерными мембранами клеток, проявляется только на уровне терминально дифференцированных клеток.

Ключевые слова: ростовые факторы, факторы транскрипции, пролиферация миокарда, органо-специфичность.

Принятые сокращения: МИ — митотический индекс, ТСБК — термостабильный белковый комплекс.

С конца 1970-х годов отмечается бурный рост исследований, посвященных изучению механизмов регуляции пролиферации и дифференцировки клеток. В этом плане особое внимание отводилось изучению эндогенных факторов роста (Балаж, Блажек, 1982). Эндогенные регуляторы пролиферации представляют собой белковые молекулы, кодируемые регуляторными генами, главная функция которых состоит в специфической индукции (стимуляции или ингибиции) клеточной пролиферации в тканях-мишенях. Одни из описанных в литературе факторов действуют на фазу G<sub>1</sub> клеточного цикла, другие проявляют свою активность в фазе G<sub>2</sub>, а третьи влияют на синтез РНК. Наиболее подробно описано влияние на клеточный цикл эпидермального фактора роста, разные фракции которого оказывают действие на разные фазы клеточного цикла (Окулов, Кетлинский, 1975; Кетлинский, Парфенова, 1981).

В отличие от факторов, стимулирующих пролиферацию клеток, в литературе последних лет встречается все меньше сведений об ингибиторах пролиферации и в то же время сообщается о множестве белковых факторов, так называемых факторах транскрипции (Смирнов, 2002). Некоторые авторы (Балаж, Блажек, 1982) предполагают, что к факторам, контролирующим прекращение пролиферации ведущей ткани органа, относятся кейлоны, ингибирующие рост. Однако в литературе ранних лет и в современной литературе сведения о факторах, ингибирующих рост миокарда, встречаются весьма редко. Гораздо чаще можно встретить работы по влиянию различных неспецифических факторов на синтез различных белков миокарда и гипертрофию кардиомиоцитов или проявляющих действие, направленное против гибели кардиоми-

оцитов при остром инфаркте миокарда (Kardami, 1990; Parker, Schneider, 1991; Velez et al., 2000; Detillieux et al., 2003; Nishida et al., 2003; Kardami et al., 2004). Исходя из вышеизложенного изучение ростиингибирующих факторов сердечной мышцы является весьма актуальной задачей.

Еще Румянцев (1972) описал единичные митозы в предсердиях после повреждения миокарда у крыс, но в желудочковых миоцитах пролиферацию обнаружить не удалось. На основании этих данных и данных Туманишвили с сотрудниками (1981) была сформулирована гипотеза, согласно которой различия в способности предсердных и желудочковых миоцитов к пролиферации обусловлены разным содержанием (концентрацией) в них ингибиторов роста. Появившиеся позднее работы по ростовым факторам, принимающим участие в регенераторных процессах сердечной мышцы, подтвердили полученные ранее Румянцевым (1972) результаты о различном потенциале миоцитов в предсердиях и желудочках к пролиферации и синтезу ДНК (Kardami, 1990; Parker, Schneider, 1991; Ueda et al., 2001; Suzuki et al., 2003).

Ранее нами было показано, что 81%-ная спиртовая белковая фракция, выделенная из желудочков миокарда белых половозрелых крыс, снижает пролиферативную и ДНК-синтезирующую активность кардиомиоцитов в сердце 2—5-суточных животных. Было также установлено, что исследуемая фракция не обладает видовой специфичностью, а на электрофореграммах обнаруживается 18 подфракций. После термической обработки 81%-ной белковой фракции и ее электрофоретического фракционирования выделено 5 подфракций, не утративших своей биологической активности (Гиоргобиани и др., 1991; Са-

лакая и др., 1995). Комплекс из этих 5 фракций был назван нами термостабильным белковым комплексом (ТСБК).

Цель настоящей работы состояла в исследовании свойств ТСБК и механизма его действия на различные ткани крыс в течение постнатального онтогенеза.

### Материал и методика

В работе использовали сердце, печень, почки и головной мозг белых беспородных крыс различного возраста (1, 5 и 19-суточные крысята, а также взрослые животные с массой тела 130—150 г).

Для выделения ТСБК крыс забивали декапитацией после наркоза. Сердце быстро извлекали, очищали от соединительнотканной капсулы и сосудов, желудочки отделяли, промывали физиологическим раствором, измельчали и добавляли дистиллированную воду в соотношении 1 часть ткани и 8 частей воды. Полученную взвесь гомогенизировали и затем после быстрого замораживания в жидком азоте и размораживания на водяной бане при 25 °С фильтровали. Используя поэтапное насыщение 96%-этанолом, ряд экстракций при 4 °С и несколько центрифугирований (600 г, 15 мин), получали 81%-ную спиртовую фракцию. Фракцию кипятили на водяной бане (100 °С) в течение 20 мин, охлаждали и затем центрифугировали (600 г, 15 мин). Супернатант (верхняя фаза образца после осаждения денатурированных белков) замораживали в жидком азоте и затем высушивали в адсорбционно-конденсационном лиофилизаторе. Полученный в итоге материал представлял собой светло-серый порошок, легко растворяющийся в воде. Образцы хранили в холодильнике при 4 °С. Концентрацию белка в ТСБК определяли по методу Лоури и соавторов (Lowry et al., 1951).

Для определения митотического индекса (МИ) кардиомиоцитов у 1, 5 и 19-суточных крыс в контрольной (I) и опытной (II) группах использовали не менее 5 животных из одного помета. Каждому крысенку I группы внутримышечно вводили 20 мкл дистиллированной воды и за 3 ч до забоя колхицин (1 мкг на 1 г массы тела) для выявления метафазных митозов. Животным II группы вводили ТСБК (200 мкг на 10 г массы животного), растворенный в диетилированной воде, и колхицин за 3 ч до забоя в той же концентрации, что и животным I группы. Животных обеих групп забивали через 5 ч после инъекции ТСБК или дистиллированной воды.

Для подсчета МИ кардиомиоцитов сердце фиксировали в фиксаторе Карнуа, заливали в смесь воска с парафином и приготавливали срезы (5 мкм). Срезы ткани окрашивали гематоксилином—эозином и исследовали с помощью светового микроскопа (Биолам, ЛОМО, Санкт-Петербург), используя объектив 90 × 1.25 и окуляр 7×. В каждом варианте опыта просчитывали не менее 3000—5000 клеток. МИ кардиомиоцитов выражали в промилле (‰).

Для изучения транскрипционной активности ядер использовали РНК-синтезирующую тест-систему. Выделение ядер производили по методу Шово (Chauveau et al., 1956), модифицированному Георгиевым и соавторами (Георгиев и др., 1960). Инкубационная смесь (0.2 мл) содержала (в мкм): Tris-HCl (pH 8.3) — 50; MgCl<sub>2</sub> — 7.5; ATF, GTF и STF — по 0.05 каждого; [<sup>14</sup>C]УТФ (U<sup>14</sup>VVV,

Чехословакия, уд. акт. 4.3 Бк/ммоль) — 0.0013. Количество ядер соответствовало 100—120 мкг ДНК на пробу (Dzidziguri et al., 1994).

Синтез РНК оценивали по включению меченого предшественника [<sup>14</sup>C]УТФ в кислотонерастворимую фракцию (Dzidziguri et al., 1994). Изолированные ядра инкубировали с меченым предшественником в течение 15 мин. Реакцию останавливали добавлением 10%-ной трихлоруксусной кислоты, после чего пробы фильтровали через мембранные фильтры (Whatman GF/D), которые затем помещали в сцинтилляционную жидкость. Интенсивность включения метки в исследуемые образцы измеряли на сцинтилляционном счетчике SL-40.

Исследования влияния ТСБК на транскрипционную активность ядер, изолированных из различных тканей, проводили на двух группах крыс (по 5 животных в каждой) — контрольной (I) и опытной (II). В РНК-синтезирующую систему опытной группы вносили по 100 мкг ТСБК.

Статистическую обработку полученных результатов проводили используя *t*-критерий Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены результаты исследований МИ миоцитов сердца в контрольной и опытной группах крыс разного возраста. Как следует из полученных данных, значения МИ (‰) кардиомиоцитов уменьшаются с увеличением возраста крыс: 1 сут — 22.1 ± 1.9, 5 сут — 14.4 ± 0.7, 19 сут — 2.9 ± 0.3. Полученные данные хорошо согласуются с результатами исследований других авторов, которые показали, что в интервале от 1-х до 20—25-х сут (в течение 1-го мес после рождения) количество митозов в миокарде быстро снижается, а у взрослых животных митотическая активность кардиомиоцитов практически отсутствует (Румянцев, 1982).

Приведенные на рис. 1 данные указывают на то, что ТСБК оказывает существенно ингибирующее влияние на митотическую активность миоцитов в сердце 1- и 5-суточных крысят. МИ миоцитов в сердце 1- и 5-суточных крысят снижается в среднем на 60 и 50 % соответственно по сравнению с контрольными животными того же возраста. Значения МИ (‰) в сердце исследованных животных после воздействия ТСБК снижаются до 9.1 ± 1.1 (1 сут) и 6.9 ± 0.5 (5 сут). Полученные результаты свидетельствуют также о том, что ТСБК значительно подавляет

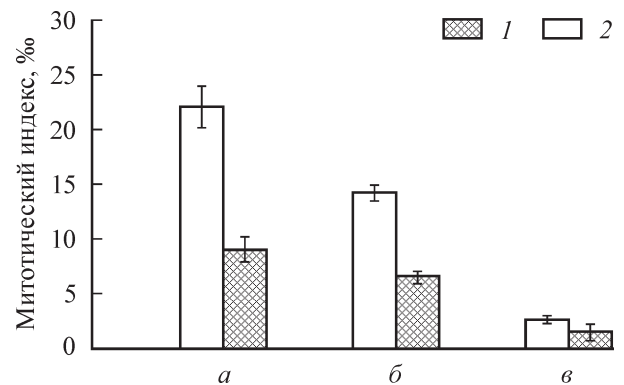


Рис. 1. Изменения митотического индекса (МИ) у крыс в возрасте 2 (а), 5 (б) и 19 (в) сут до (I) и после (II) введения ТСБК.

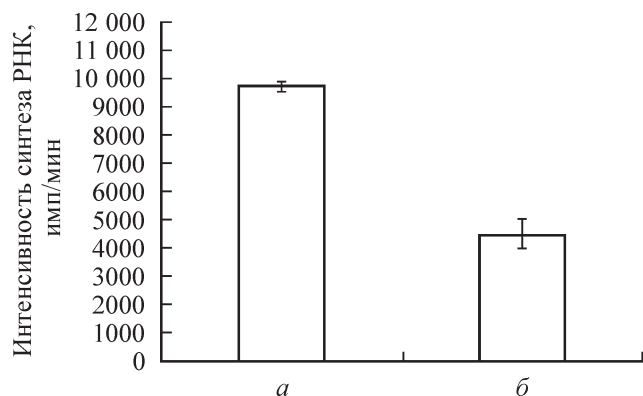


Рис. 2. Интенсивность синтеза РНК в ядрах клеток сердца у 5-суточных (а) и взрослых половозрелых (б) белых крыс.

ет митотическую активность кардиомиоцитов на ранних сроках после рождения крысят, в сердце которых сохраняется высокий уровень ДНК-синтетических процессов. В то же время у 19-суточных крысят, у которых исходный уровень митотической активности миоцитов достаточно низок, ТСБК не оказывал ингибирующего влияния. Различная чувствительность к ростовым факторам активно пролиферирующих и прекративших деление клеток продемонстрирована ранее на целом ряде тканей (Кетлинский, 1981; Мамонтов и др., 1981; Неустроев, 1982).

Было показано (Tamamori et al., 2003), что резкое падение пролиферации кардиомиоцитов после рождения млекопитающих связано с ограничением переноса циклина D1 в ядро при переходе клеток из G<sub>1</sub>- в S-фазу клеточного цикла. Данные об экспрессии циклина D1 указывают на то, что ингибирующее действие некоторых сигнальных факторов, возможно, осуществляется на уровне экспрессии генов.

Сравнительное исследование транскрипционной активности в ядрах клеток сердца в постнатальном онтогенезе крыс показало, что у 5-суточных крысят интенсивность синтеза РНК в миокарде была в среднем в 1.5 раза выше, чем у взрослых животных (рис. 2). Полученные данные достаточно хорошо совпадают с данными Явича (1981), который показал, что в растущем сердце крыс показатель синтеза РНК в 2.4 раза выше, чем у взрослых животных.

Результаты исследования влияния ТСБК на интенсивность синтеза РНК в ядрах клеток миокарда 5-суточных и взрослых крыс показали, что ТСБК оказывает ингибирующее влияние на процесс транскрипции (рис. 3). Интенсивность синтеза РНК в ядрах, выделенных из миокарда 5-суточных крысят, снижалась после введения ТСБК примерно на 25 %, а в миокарде взрослых крыс — на 19 % по сравнению с контрольными показателями. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ТСБК желудочков миокарда взрослых крыс содержит фактор, обладающий способностью подавлять синтез РНК. ТСБК проявляет ингибирующее действие в ядрах клеток миокарда как растущих, так и взрослых крыс. Однако у растущих крыс действие этого фактора оказалось более выраженным, чем у взрослых крыс (рис. 3).

Показано, что подобно ТСБК эпидермальный фактор роста (ЭФР) снижает процесс транскрипции в пролиферирующих клетках базального и шиповатого слоев многослойного плоского эпителия и не оказывает влияния

на непродлиферирующие клетки зернистого слоя (Кетлинский, 1981). Исследуя механизмы действия ЭФР, Дели (Daly, 1999) пришел к выводу о том, что активации генов, продукты экспрессии которых контролируют деление клеток, предшествует каскад реакций и белково-рецепторных взаимодействий, что в свою очередь способствует активации белка RAS и включению соответствующего сигнального пути.

Исследование органной специфичности ТСБК было проведено на сердце, печени и почках 5-суточных крысят, в которых отмечается высокий уровень пролиферативных процессов (рис. 4). Полученные данные показали, что митотическая активность миоцитов при действии ТСБК снижалась на 49 %, а гепатоцитов и нефроцитов — на 38 и 35 % соответственно (рис. 5).

ТСБК оказывает ингибирующее влияние также на транскрипцию ядер печени, почек и головного мозга 5-суточных крыс. В частности, синтез РНК в ядрах клеток сердца понижается на 50 %, печени — на 28, почек — на 25 и головного мозга — на 29 % (рис. 6, а). Оказалось, что и в этом случае ТСБК не проявляет тканевой специфичности. Вместе с тем следует подчеркнуть, что биологическая активность ТСБК по отношению к гомотипическим тканям в любом случае оказывается выше, чем к гетеротипическим.

Таким образом, вышеприведенные данные позволяют заключить, что влияние ТСБК на клеточную пролиферацию и транскрипцию в различных органах 5-суточных крыс (растущего организма) не является тканеспецифичным.

Определенный интерес представляло исследование органоспецифичности действия ТСБК у взрослых животных. Поскольку пролиферативная активность клеток в исследованных нами органах взрослых крыс находится на очень низком уровне, органоспецифичность действия ТСБК оценивали только по изменению транскрипционной активности ядер. Полученные данные свидетельствуют о том, что ТСБК-опосредованное ингибирование синтеза РНК наблюдается только в ядрах, изолированных из клеток сердца (рис. 6, б). Интенсивность синтеза РНК в этом случае снижалась на 22 % по сравнению с контрольными значениями. Ингибирующее действие ТСБК не проявлялось в ядрах, изолированных из клеток печени, почек и головного мозга (рис. 6). Полученные результаты указывают на то, что органоспецифичное

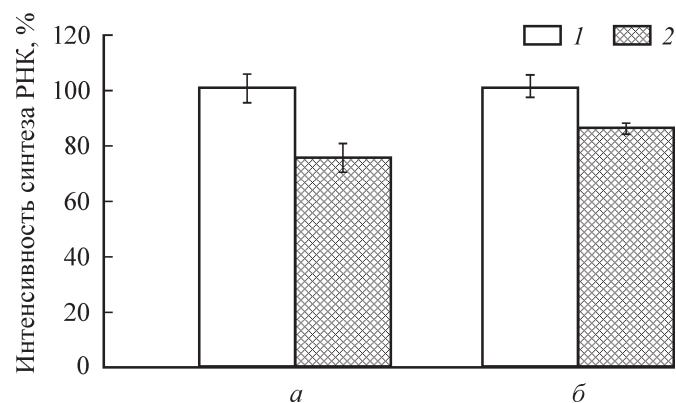
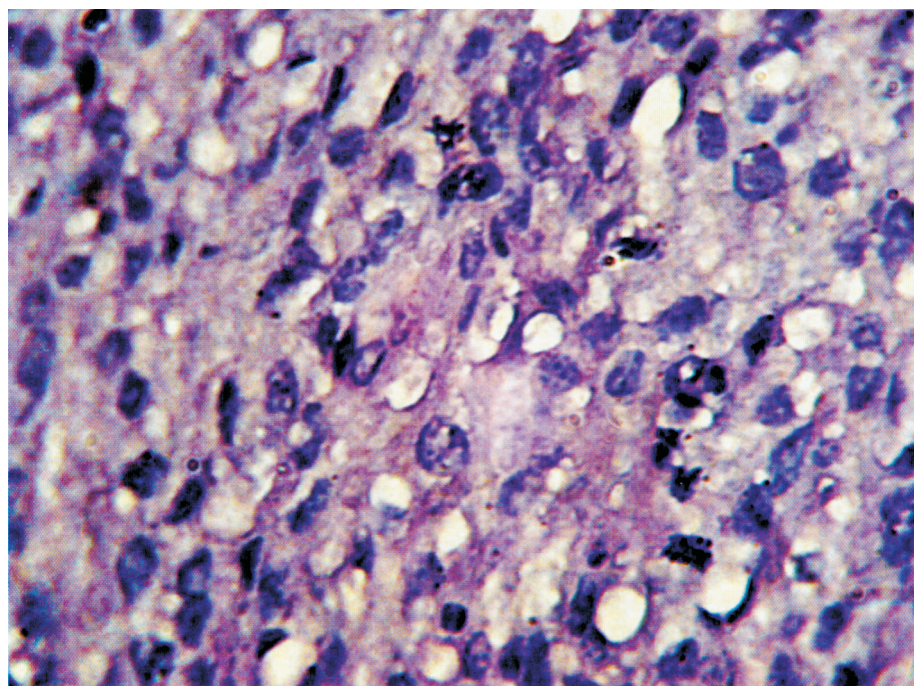
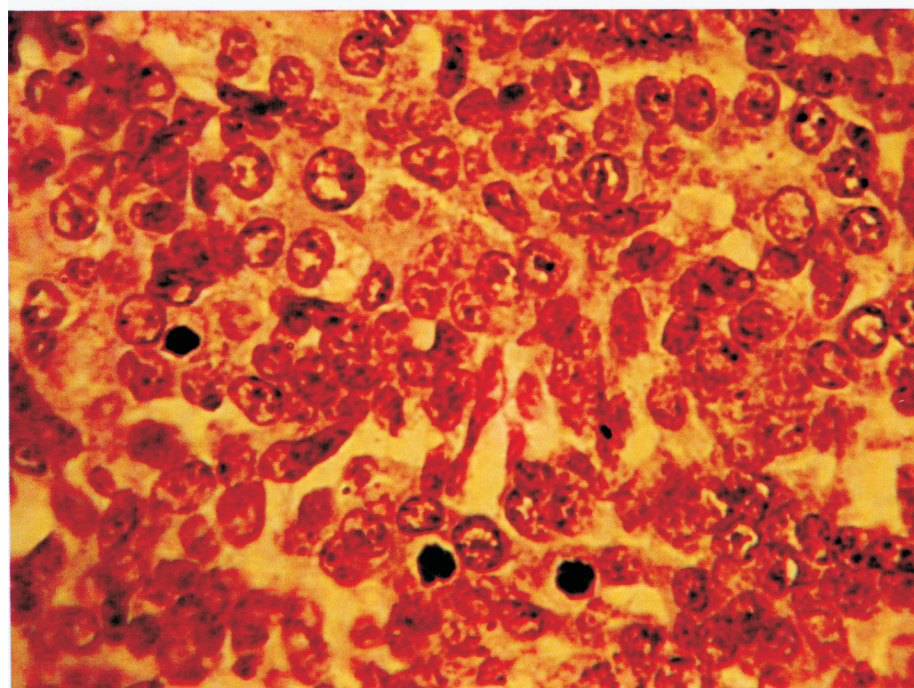


Рис. 3. Изменение интенсивности синтеза РНК в ядрах клеток сердца 5-суточных (а) и половозрелых (б) крыс в контроле (1) и при действии ТСБК (2).



а



б

Рис. 4. Митозы в тканях сердца (а), печени (б) и почки (в) 5-суточных крыс.

влияние ТСБК на синтез РНК проявляется только во взрослом организме, в органах, прекративших рост.

Ввиду того что органная специфичность действия ТСБК обнаружилась в системе изолированных ядер с сохраненной ядерной мембраной, можно предположить, что в дифференцированных клетках за специфичность ответственна ядерная мембрана.

Показано, что обработка ядерной фракции клеток детергентом Тритоном X-100 приводит к растворению их мембранных компонентов. При этом ядра сохраняют свою нативную структуру и в них не происходит нарушения синтетических процессов (Дзидзигури, 1983).

Наши исследования также показывают, что интенсивность включения меченого предшественника ( $[^{14}\text{C}]\text{УТФ}$ ) в ядрах клеток печени с растворенной и сохраненной ядерными мембранами остается на одном уровне (рис. 7), что также свидетельствует о нормальном фракционировании транскрипционного аппарата ядер, обработанных детергентом.

Результаты проведенных исследований показали, что после обработки ядер гепатоцитов Тритоном X-100 ТСБК снижает синтез РНК в них на 20 % (рис. 7). В то же время, как было уже отмечено, в печени контрольных животных показатели синтеза РНК в ядрах клеток, обра-

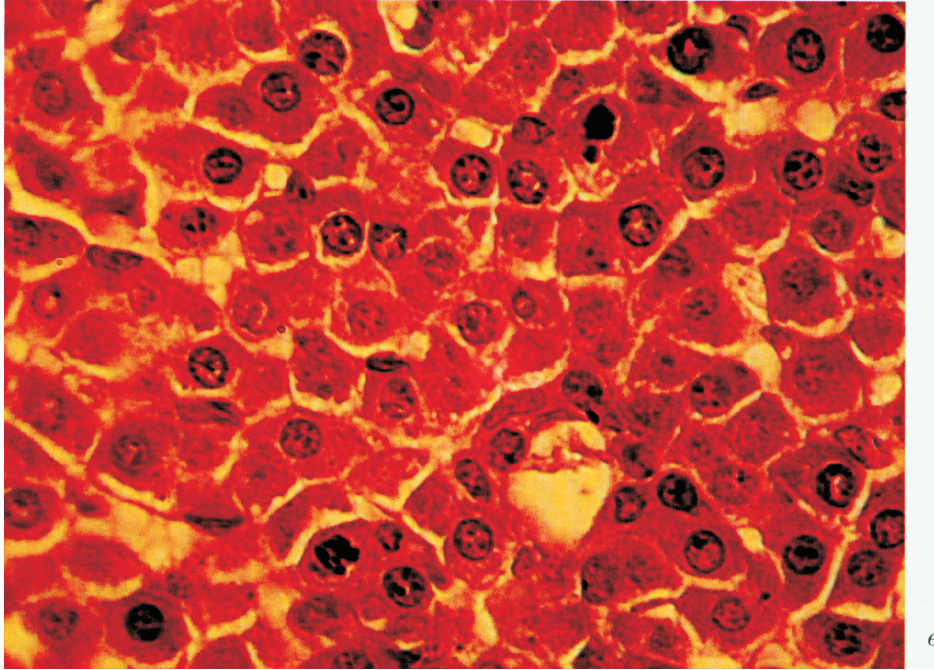


Рис. 4 (продолжение).

ботанных и не обработанных Тритоном X-100, не различались. Полученные данные указывают на то, что после удаления ядерной оболочки ТСБК ингибирует экспрессию генов-мишеней с той же интенсивностью, как в ядрах клеток гомотипических органов, таких, например, как миокард взрослых крыс. Кроме того, представленные результаты подтверждают наше предположение о том, что тканеспецифичность ТСБК в органах, прекративших рост, определяется ядерной мембраной клеток.

Органоспецифичность различных эндогенных факторов роста колеблется в широких пределах. В литературе описано множество моно-, олиго- и полиспецифичных факторов (Балаж, Блажек, 1982; Кусень, Стойка, 1985), большинство из которых не обладает органной специфичностью. Найдено, например, что такие факторы, как  $\beta$ -FGF,  $\alpha$ -FGF, EGF, TGF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , PDGF-BB и

VEGF, стимулируют рост культуры мезотелиальных клеток яичника кролика, а TGF- $\beta$  ингибирует ее рост (Piergo et al., 1996).

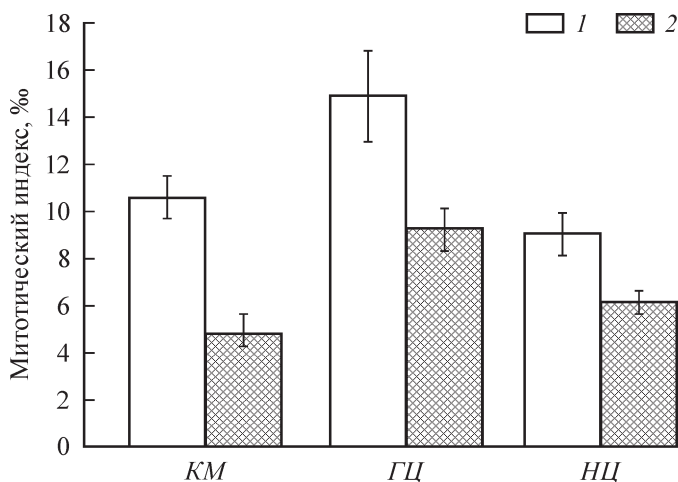


Рис. 5. Изменение митотической активности кардиомиоцитов (КМ), гепатоцитов (ГЦ) и нефроцитов (НЦ) 5-суточных крыс в контроле (1) и после действия ТСБК (2).

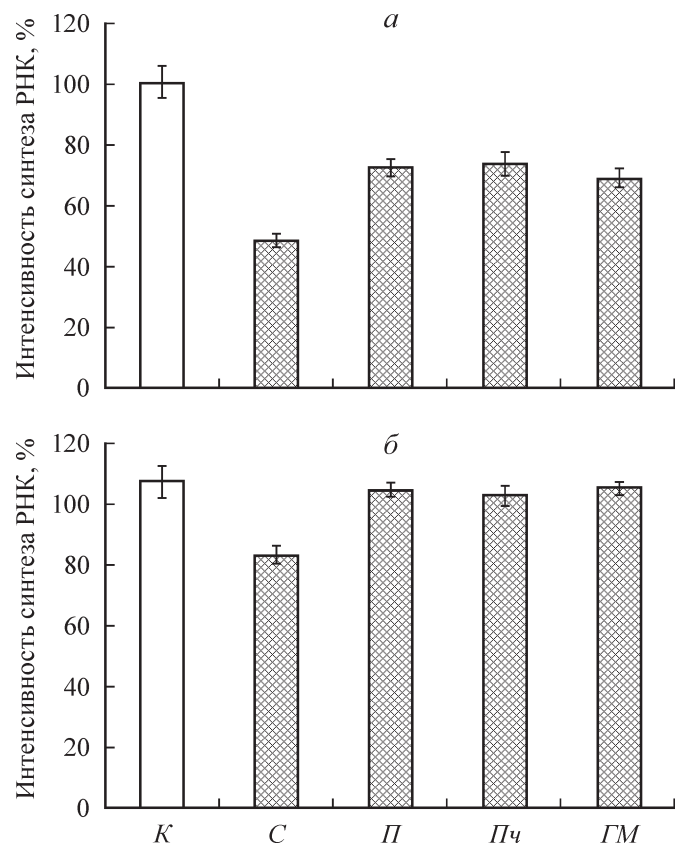


Рис. 6. Изменение интенсивности синтеза РНК в ядрах клеток сердца (С), печени (П), почки (Пч) и головного мозга (ГМ) 5-суточных (а) и половозрелых (б) крыс после действия ТСБК. К — контроль.

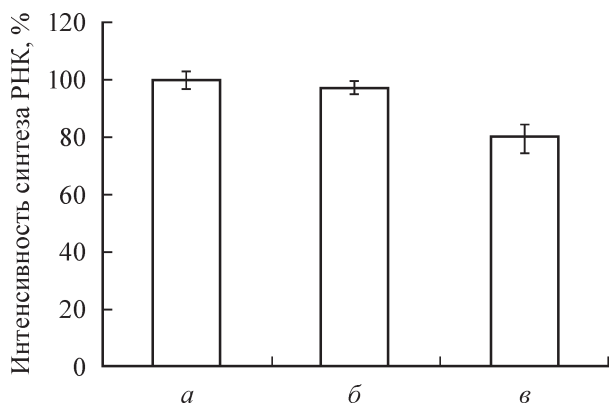


Рис. 7. Изменение интенсивности синтеза РНК в изолированных ядрах клеток печени до (а) и после (б) удаления ядерной мембраны, а также при действии ТСБК (в).

Показано также, что HGF и VEGF являются специфическими факторами для эндотелия, но при этом кардиомиоциты представляют собой потенциальные мишени для фактора HGF, по отношению к которым этот фактор проявляет антиоксидантные свойства при различных стрессовых условиях (Ueda et al., 2001; Suzuki et al., 2003).

В настоящее время почти из всех органов взрослых животных выделены рострегулирующие факторы, различающиеся по своим свойствам. В частности, из печени выделено несколько ингибиторов роста, проявляющих различную активность в гетеротипичных органах (Балаж, Блажек, 1982). Многие факторы, такие как ЭФР, фактор роста нервов NGF, фактор роста гепатоцитов HGF, трансформирующий фактор роста TNF- $\beta$ , инсулиноподобный фактор роста IGF-I и фактор роста фибробластов FGF, были изолированы из слюнных желез (Amano et al., 2001). Из головного мозга крыс получен ростингибирующий белковый фактор и исследована его фармакокинетика (Rukhadze et al., 2005).

Несмотря на широкий поток данных об эндогенных факторах роста, существует сравнительно мало сведений о тканеспецифических эндогенных факторах роста миокарда. Первые работы в этой области появились лишь в 1990-е годы, когда были описаны такие факторы роста, как TGF- $\alpha$  и TGF- $\beta$ , кислые и основные FGF (Kardami, 1990; Parker, Schneider, 1991). Этим факторам приписывали функции регуляторов экспрессии генов, но они не являлись тканеспецифическими факторами, обеспечивающими избирательную адаптацию организма.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что нами изолирован термостабильный белковый комплекс (ТСБК), который оказывает ингибирующее влияние на клеточное деление и синтез РНК в различных органах растущих и взрослых крыс. ТСБК не проявляет тканеспецифических свойств по отношению к растущим тканям, но оказывает специфичное действие на ткани взрослых животных.

#### Список литературы

Балаж А., Блажек И. 1982. Эндогенные ингибиторы клеточной пролиферации. М.: Мир. 250 с.  
 Георгиев Г. П., Ермолаева Л. П., Збарский И. В. 1960. Количественное соотношение белковых и нуклеопротеидных

фракций в клеточных ядрах различных тканей. Биохимия. 24 (2) : 318—322.

Гиоргобиани Н. М., Гогсадзе Л. А., Джапаридзе М. З., Салакая Т. М., Туманишвили Г. Д. 1991. Исследование влияния рост-ингибирующего фактора из желудочков сердец взрослых крыс на пролиферативную активность кардиомиоцитов куриных зародышей и новорожденных крыс. Изв. АН Грузии. Сер. биол. 17 (2) : 87—90.

Дзидзигури Д. В. 1983. Автореф. канд. дис. Тбилиси. 24 с.

Кетлинский С. А. 1981. Роль кейлонов в развитии тканей. В кн.: Кейлоны — значение и роль в нормальных и патологических процессах. М.: Наука. 36—43.

Кетлинский С. А., Парфенова Е. В. 1981. Действие эпидермальных кейлонов на дифференцировку эпидермоцитов. В кн.: Кейлоны — значение и роль в нормальных и патологических процессах. М.: Наука. 73—81.

Кусень С. И., Стойка Р. С. 1985. Молекулярные механизмы в действии полипептидных факторов роста. М.: Наука. 236 с.

Мамонтов С. Г., Захаров В. Б., Пухальская В. Г., Толвинская Д. С., Черемушкина Л. А. 1981. Кейлоны и опухолевый рост. В кн.: Кейлоны — значение и роль в нормальных и патологических процессах. М.: Наука. 23—27.

Неустроев Г. В. 1982. Роль кейлонов в регуляции пролиферации активности клеток костного мозга, слюнных желез, тимуса: Автореф. докт. дис. М. 46 с.

Окулов В. Б., Кетлинский С. А. 1975. Использование иммунохимических методов для характеристики и очистки тканеспецифических ингибиторов митотической активности (кейлонов). Цитология. 17 (11) : 1294—1300.

Румянцев П. П. 1972. Электронномикроскопический анализ дедифференцировки и митотического деления миоцитов предсердия при массивном инфаркте левого желудочка. Арх. анат. гистол. эмбриол. 62 (6) : 115—121.

Румянцев П. П. 1982. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. Л.: Наука. 288 с.

Салакая Т. М., Гиоргобиани Н. М., Туманишвили Г. Д. 1995. Действие и частичная характеристика спиртовых экстрактов миокарда на пролиферативную активность миоцитов. Сообщ. АН Грузии. 152 (4) : 852—855.

Смирнов А. Н. 2002. Ядерные рецепторы: номенклатура, лиганды, механизмы влияния на экспрессию генов. Биохимия. 67 (9) : 1157—1181.

Туманишвили Г. Д., Лежвава Р. А., Гогсадзе Л. А., Гиоргадзе Н. В. 1981. Внутритканевые рост-тормозящие вещества сердца. Цитология. 23 (10) : 1133—1140.

Явич М. П. 1981. Метаболизм нуклеиновых кислот и белков в сердечной мышце. Успехи соврем. биол. 91 (3) : 334—349.

Amano O., Iseki S. 2001. Expression and localization of cell growth factors in the salivary gland. Kaibogaku Zasshi. 76 : 201—212.

Chauveau J., Moule Y., Rouiller Ch. 1956. Isolation of pure and unaltered liver nuclei: morphology and biochemical composition. Exp. Cell Res. 11 : 317—321.

Daly R. J. 1999. Signal diversification by the erbB family of receptor tyrosine kinases. Growth Factors. 16 : 255—263.

Detillieux K. A., Sheikh F., Kardami E., Cattini P. A. 2003. Biological activities of fibroblast factor-2 in the adult myocardium. Cardiovasc. Res. 57 : 8—19.

Dzidziguri D. V., Chelidze P. V., Zarandia M. A., Cherkezia E. O., Tumanishvili G. D. 1994. The transcriptional and ultrastructure of various nucleolar types isolated from normal and partially hepatectomized rat hepatocytes. J. Epith. Cell Biol. 3 : 240—246.

Kardami E. 1990. Stimulation and inhibition of cardiac myocyte proliferation *in vitro*. Mol. Cell. Biochem. 92 : 129—135.

Kardami E., Jiang Z. S., Jimenes S. K., Hirst C. J., Sheikh F., Zahradka P., Cattini P. A. 2004. Fibroblast growth factor 2 isoforms end cardiac hypertrophy. Cardiovasc. Res. 63 : 458—466.

Lowry D. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265—275.

Nishida S., Nagamine H., Tanaka Y., Watanabe G. 2003. Protective effect of basic fibroblast growth factor against myocyte death and arrhythmias in acute myocardial infarction in rats. *Circ. J.* 67 : 334—339.

Parker T., Schneider M. 1991. Heart fibroblast growth factors. *M. Ann. Rev. Physiol.* 53 : 879—900.

Pierro E., Nicosia S. V., Saunders B., Fultz C. B., Nicosia R. F., Mancuso S. 1996. Influence of growth factors on proliferation and morphogenesis of rabbit ovarian mesothelial cells *in vitro*. *Biol. Reprod.* 54 : 660—669.

Rukhadze M., Dzidziguri D., Giorgobiani N., Kerkenjia S. 2005. The study of growth inhibitive protein factor by various mode of HPLC and estimation of its binding with drugs. *Biomed. Chromatography.* 19 : 36—42.

Suzuki H., Murakami M., Shoji M., Iso Y., Kondo T., Shibata M., Ezumi H., Hamazaki Y., Koba S., Katagiri T. 2003. Hepato-

cyte growth factor and vascular endothelial growth factor in ischaemic heart disease. *Coron. Artery Dis.* 14 : 301—307.

Tamamori-Adachi M., Ito H., Sumrejkanchanakij P., Adachi S., Hiroe M., Shimizu M., Kawauchi J., Sunamori M., Marumo F., Katajima S., Ikeda M. 2003. Critical role of cyclin D1 nuclear import in cardiomyocyte proliferation. *Circ. Res.* 92 : 12—19.

Ueda H., Nakamura T., Matsumoto K., Sawa Y., Matsuda H., Nakamura T. 2001. A potential cardioprotective role of hepatocyte growth factor in myocardial infarction in rats. *Cardiovasc. Res.* 51 : 41—50.

Velez C., Aranega A. E., Marcal J. A., Melgusio C., Prados J. C., Carrilio E., Aranega A. 2000. Development of cardiomyocytes: modulation of intermediate filaments by basic fibroblast and platelet-derived growth factors. *Cells Tissues Organs.* 167 : 163—170.

Поступила 4 X 2005

#### INVESTIGATION OF PROPERTIES OF THE THERMOSTABLE PROTEIN COMPLEX OBTAINED FROM THE MYOCARDIUM LEFT VENTRICLES OF ADULT WHITE RATS

N. M. Giorgobiani,<sup>1</sup> D. V. Dzidziguri,<sup>1</sup> L. P. Rusishvili,<sup>1</sup> E. M. Giorgobiani,<sup>2</sup>  
M. R. Chkhobadze,<sup>1</sup> G. D. Tumanishvili<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tbilisi State University after I. Javakhishvili, and

<sup>2</sup> Institute of Experimental Morphology after A.I. Natishvili, Tbilisi, Georgia;  
e-mail: nana\_giorg@yahoo.com

A thermostable protein complex (TSPC) obtained from the myocardium ventricles of adult rats inhibits mitotic and transcriptional activity of cardiomyocytes. At the same time this complex is more active on early stages of the postnatal ontogenesis in rats, aged 1 and 5 days. Following its action on RNA synthesis, the TSPC reveals tissue specificity only in cells with terminal differentiation, and is determined by its nuclear membranes. We continue studies for identifying the molecular weight and chemical nature of the TSPC, and the role of its different fractions in regulation of proliferation processes. Besides, it is planned to produce antibodies against TSPC fractions with the purpose to block its inhibitory effect on myocyte regeneration in the damaged myocardium.

**Key words:** growth factors, transcription factors, myocardium proliferation, organ specificity.

**Abbreviations:** TSPC — thermostable complex, cMI — colchicine mitotic index.