

Аналіз експериментальних даних впливу окситоцину та хелеретрину на скорочення міометрію

1 Візуалізація та вирівнювання даних

Слайд 1 - візуалізація даних до і після вирівнювання

Перші 20 хвилин запису – артефакти, тому ці дані були вирізані і не враховані при вирівнюванні та подальших розрахунках. Базова лінія ідентифікувалася шляхом фітування поліноміалу, після чого значення базової лінії віднімалися.

2 Автоматизований пошук піків

Слайд 2 - повне вирівнювання та знайдені піки

Слайд 3 - червоними лініями зображено ширину піків. Початок і кінець лінії – межі інтегрування

Слайд 4 - червоними лініями зображено напівширину піків.

Пошук місцезнаходження та ширини піків відбувався по повністю вирівняним даним. Мінімальна висота піків визначалася як 0.2 від максимальної. Відстань між піками – 200 точок. Значення амплітуди піків бралися з нормальних даних.

3 Розрахунок площі, розрахунок середніх значень та стандартної похибки.

Слайд 5 - стовпчикові діаграми середніх значень амплітуди скорочень, площі під піками та напівширини піків за дії різних чинників та у контролі, а також відповідні стандартні похибки середнього

4 Перевірка статистичної гіпотези

Дані перевірялися на нормальність розподілу за допомогою теста Шапіро-Уїлка, після чого у залежності від результату проводили або попарний Т-тест Стьюдента, або U-тест Манна-Уїтні. У зв'язку з множинними попарними порівняннями була використана поправка Бонфероні.

5 Висновки

	Cheler	Oxyt	Oxyt+Cheler	control
Cheler		P<0.0083	P<0.0083	P<0.0083
Oxyt			P=0.3692	P<0.0083
Oxyt+Cheler				P<0.0083
control				

Вище можна бачити таблицю зі значеннями статистичної значимості різниці в середніх амплітудах для різних груп. Для всіх пар була знайдена статистично значима різниця, крім пари окситоцин і окситоцин + хелеретрин.

По отриманих ерорбарах видно, що сам по собі хелеретрин пригнічує скорочення міометрію (зменшення амплітуди, площі), а окситоцин підсилює скорочення міометрію (збільшення амплітуди, площі). Пов'язано це з тим, що хелеретрин є інгібітором протеїнкінази C, а окситоцин збільшує внутрішньоклітинну концентрацію Ca^{2+} та активує протеїнкіназу C. Хелеретрин здатний проходити через цитоплазматичну мембрану і безпосередньо інгібувати протеїнкіназу C, таке інгібування відбувається досить швидко. Окситоцин діє на протеїнкіназу через G-білок: дисоціація α -субодиниці, активація фосфоліпази C, розщеплення PIP_2 на DAG та IP_3 , IP_3 відкриває кальцієві канали на ЕПР, виходить Ca^{2+} , кальцій зв'язується з кальмодуліном і разом з DAG цей комплекс активує РКС. За рахунок того, що в цьому каскаді багато ланок, окситоцин підвищує амплітуду скорочення з певною часовою затримкою.

РКС підвищує амплітуду скорочення за рахунок того, що вона фосфорилує проміжні філаменти, білок кальдесмон, який в дефосфорильованому стані інгібує зв'язування міозину з актином, інші актинзв'язуючі білки, фосфорилує і активує білок CPI-17, який інгібує міозин фосфатазу і таким чином не дає їй дефосфорилувати легкі ланцюгі міозину.

Але виникає питання, чому сумарна дія окситоцину і хелеретрину не особливо відрізняється від дії окситоцину окремо. По-перше, можна сказати, що протеїнкіназа C грає не першочергову роль у окситоцин-індукованому скороченні гладеньких м'язів, а, скоріше, доповнюючу, оскільки першочерговий вплив на скорочення здійснить відкриття кальцієвих каналів СПР.

Можливе ще таке пояснення: якусь частину протеїнкінази C окситоцин все таки активує і відбувається "interplay" між ефектом інгібування хелеретрину і активацією окситоцину, хоча інгібування хелеретрином мало б відбутися швидше. Також відомо, що хелеретрин інгібує Ca^{2+} -АТФази на мембрані СПР і плазматичній мембрані, при чому у випадку SERCA ефективна концентрація інгібування та ж сама, що і для протеїнкінази C. А тому за рахунок того, що окситоцин підвищує, за описаним вище механізмом, концентрацію Ca^{2+} , а хелеретрин зменшує виведення Ca^{2+} з цитозолу, спостерігається підвищення амплітуди скорочення (за рахунок активності кінази легких ланцюгів міозину). Таким чином, ці дві речовини набувають взаємодоповнюючої дії.