

слияния гемопоэтических клеток со специализированными клетками кишечного эпителия. При этом было показано, что этот процесс не инициирует развитие опухоли. Учитывая свойства плацентарных ММСК и ГСК, их совместное введение представляется перспективным и может обеспечить регенерацию после воздействия экстремального фактора. Эксперименты выполнены на 90 зрелых лабораторных мышах-самцах в возрасте 6–8 мес. с массой 18–22 г и 90 старых мышах-самцах в возрасте 20–22 мес. с массой 25–30 г. Зрелые и старые лабораторные животные были разделены на две группы соответственно. В каждой группе были выделены опытная и контрольная подгруппы. Животным опытной подгруппы внутривенно вводились ММСК и ГСК соответственно в дозе 6 млн клеток/кг и 330 тыс. клеток/кг, суспендированные в 0,2 мл 0,9% раствора NaCl. Животным контрольной подгруппы вводили 0,9% раствор NaCl. Внутривенные введения осуществлялись через 1 ч. после облучения однократно. Забой животных осуществлялся на 1 и 7 сут. после облучения. Получение клеточной культуры ММСК и ГСК производилось из хориона плаценты лабораторных животных. Выделение ГСК осуществлялось методом позитивной иммуномагнитной сепарации по антигенам SCA-1. Мощность поглощенной дозы ИИ составила 4,0 Гр. Оценка регенераторных процессов в слизистой оболочке тощей кишки осуществлялась с помощью расчетов индекса пролиферации, апоптотического индекса, средней клеточности в одной крипте. Верификация выраженности апоптоза осуществлялась с использованием метода Aror Tag® Peroxidase In situ Oligo Ligation (ISOL). В физиологических условиях и в условиях воздействия ИИ сочетанная трансплантация плацентарных ММСК и ГСК у зрелых и старых животных сопровождается увеличением содержания эпителиоцитов крипт тощей кишки. В физиологических условиях у зрелых животных этот эффект реализуется через увеличение пролиферативной активности эпителиоцитов, в то время как у старых — через ингибирование апоптоза. В условиях воздействия экстремальных факторов увеличение содержания клеточной популяции крипт у зрелых животных достигается за счет повышения пролиферативной активности и угнетения апоптоза эпителиоцитов, а в старом организме — за счет ингибирования апоптоза.

Финансирование исследования: *ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий.*

Максимчик П.В.¹, Абдрахманов А.А.², Животовский Б.Д.^{1,3}, Гогвадзе В.Г.^{1,3}

¹ МГУ им. М.В. Ломоносова,

Факультет фундаментальной медицины

² МГУ им. М.В. Ломоносова,

Факультет биоинженерии и биоинформатики

³ Каролинский институт,

Отделение токсикологии, Факультет медицины окружающей среды

pollymailbox@gmail.com

ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ В КАЧЕСТВЕ МИШЕНИ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ГИБЕЛИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Метаболическое репрограммирование большинства типа опухолей можно охарактеризовать двумя основными изменениями в энергообмене клеток:

преобладанием гликолиза над окислительным фосфорилированием и повышением потребления глутамина в качестве энергетического субстрата. В связи с тем, что большинство опухолей характеризуются значительным гликолитическим сдвигом, во многих случаях ингибирование метаболизма опухолевых клеток путем подавления гликолиза считается перспективным подходом к терапии опухолей. Так, 2-дезоксиглюкозу (2-ДГ), ингибитор гексокиназы, рассматривают как потенциальный агент для комбинированной противоопухолевой терапии. Однако, в последнее время выявлены новые механизмы действия 2-ДГ и показано, что 2-ДГ помимо энергетики клетки затрагивает процессы N-гликозилирования белков, что также необходимо учитывать при выборе мишенной противоопухолевой терапии. В работе использовались человеческие клеточные линии нейробластомы SK-N-BE (2) и колоректального рака HCT 116. Для индукции апоптоза были использованы применяемые в клинике цитотоксические препараты цисплатин и этопозид. Для оценки клеточной гибели были использованы методы проточной цитофлуориметрии (анализ SubG1, окраска Аннексин V-пропидий йодид), вестерн-блот анализ (оценка расщепления каспаз и их субстратов, выход цитохрома с из митохондрий), оценка энергетики опухолевых клеток была проведена с помощью анализатора SeahorseXF96 и хемилюминесцентного анализа уровня АТФ. Воздействие 2-ДГ вызывало апоптоз в клетках нейробластомы SK-N-BE (2) и усиливало клеточную гибель, вызванную цисплатином. Однако, в клетках HCT116 2-ДГ не вызывала клеточную смерть и, напротив, подавляла апоптоз, вызванный цисплатином и этопозидом. При сравнении энергетики опухолей было выявлено, что SK-N-BE (2) значительно чувствительнее к подавлению продукции АТФ 2-дезоксиглюкозой, чем HCT116, а клеточное дыхание HCT116 значительно превышало дыхание клеток нейробластомы. Согласно анализу накопления маркера эндоплазматического стресса Bip/GRP78 в обеих линиях 2-ДГ вызывала стресс эндоплазматического ретикулума (ЭПР) — через нарушение N-гликозилирования. Добавление маннозы, ингибитора ЭПР-стресса, подавляло апоптоз в SK-N-BE (2), вызываемый 2-ДГ, из чего следует, что стимуляция клеточной гибели является следствием индукции стресса ЭПР. В клетках HCT116 индукция стресса ЭПР при воздействии 2-ДГ приводила к аутофагии (оцениваемой по накоплению второй формы белка LC3-II и деградации белка p62). Добавление маннозы отменяло защиту клеток HCT116 от апоптоза. Данные о роли аутофагии были подтверждены использованием ингибитора процесса бафиломицина, который отменял защиту 2-ДГ в клетках HCT116 и активатора аутофагии рапамицина, который подавлял апоптоз, вызванный цисплатином и 2-ДГ, в клетках SK-N-BE (2). Таким образом, сочетанное действие традиционно применяемых противоопухолевых препаратов вместе с модуляторами клеточной энергетики и аутофагии может служить эффективной стратегией элиминирования опухолевых клеток.

Финансирование исследования: *Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00768 «Дыхательная цепь митохондрий — мишень противоопухолевой терапии».*