

В.Д. Щербинина

ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ ГЕНОМА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК САМЦОВ МЫШЕЙ ПРИ ОЛЬФАКТОРНОМ СТРЕССЕ

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

V.D. Shcherbinina

GENOME DESTABILIZATION IN GERM CELLS OF MOUSE MALES UNDER PHEROMONAL STRESS

Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

sherbinina.veronika2014@yandex.ru

С.И. Якушов, В.В. Косенчук, И.В. Уласов
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ BECLIN-1 И BECLIN-2 В КЛЕТКАХ ГЛИОБЛАСТОМЫ ПРИ ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛИ И ПРИ ОТВЕТЕ НА ТЕРАПИЮ

ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова МЗ Российской Федерации

S.I. Yakushov, V.V. Kosenchuk, I.V. Ulasov

INTERACTION OF BECLIN-1 AND BECLIN-2 IN GLIOBLASTOMA CELLS DURING TUMOR PROGRESSION AND RESPONSE TO THERAPY

Sechenov First Moscow State Medical University Ministry of Health of the Russian Federation

sem.yakushov@gmail.com

Удобной моделью для изучения социально-индуцированных стрессов, с которыми сталкивается современный человек, является ольфакторное воздействие на мышей хемосигналами, которые выделяются стрессированными особями. Одним из таких веществ является 2,5-диметилпиразин — феромон, выделяемый с мочой самками в условиях переуплотненного содержания, и оказывающий множество негативных эффектов на репродуктивную систему особей-реципиентов, среди которых: торможение полового созревания молодых животных обоих полов, снижение массы препуциальных желез, семенных пузырьков и семенников [1]. Известно также, что после феромонального воздействия повышается частота хромосомных aberrаций в митотически и мейотически делящихся клетках, и частота аномалий головок спермиев [2]. Однако события, предшествующие перестройкам и дезинтеграциям генома половых клеток стрессированных животных, остаются неизвестными. Одним из возможных механизмов является возникновение в интерфазных ядрах щелочно-лабильных сайтов, доступных для атаки молекулами, нарушающими целостность ДНК. Для обнаружения присутствия таких сайтов используют метод щелочного кометного фореза единичных клеток.

Впервые было показано, что двухчасовое стрессирование 0,01% раствором 2,5-диметилпиразина вызывает через 2 часа увеличение доли поврежденных клеток семенников мышей линии CD1, выявляемых методом щелочного кометного фореза *in situ*, с $27.18 \pm 1.895\%$ ($M \pm SED$) у контрольных животных ($N=5$) до $51.04 \pm 2.985\%$ у стрессированных самцов ($N=6$) (t test $p=0,0001$).

Таким образом, ольфакторное воздействие социально-значимыми хемосигналами приводит к изменению функционирования и даже перестройке хромосомного аппарата половых клеток самцов мышей, что негативно сказывается на репродукции.

Изучение возможностей стрессоров социальной природы изменять стабильность генома половых клеток особенно важно, так как последствия данных воздействий могут затрагивать несколько поколений и изменять структуру популяции [3].

Литература:

1. Jemiolo B., Novotny M. *Physiol. & Behav.* 1994; 55: 519–522.
2. Даев Е.В. Генетические последствия ольфакторных стрессов у мышей. Дисс. докт. наук. СПб: СПбГУ. 2006.
3. Daev E. *Biological Communications.* 2019; 64(2): 158–165.

Глиобластома считается наиболее агрессивной и часто встречающейся раковой опухолью головного мозга. Несмотря на своевременную и максимально возможную терапию опухоль обычно рецидивирует. Аутофагия значима в формировании вторичных рецидивов глиобластомы, а также является одним из типов клеточной смерти, вызываемой темозоломидом.

Важную роль в регуляции аутофагии играют белки-паралоги Beclin1 и Beclin2. Экспрессия генов *BECN1* и *BECN2* напрямую регулируют процессы, связанные с аутофагией внутри клетки. Высокий уровень экспрессии *BECN1* способствует положительному ответу на лечение дифференцированной глиобластомы темозоломидом. Beclin1, основной регулирующий фактор аутофагии, отвечает за нуклеацию аутофагосом, посредством связывания с PI3K3. Благодаря схожести с Beclin1 строению и наличию домена CCD Beclin2 способен связываться с комплексом PI3K3, а также с другими белками, регулирующими аутофагию и непосредственно с самим Beclin1. Функции, которые при этом выполняет Beclin2 аналогичны, но отличаются в деталях. Так же Beclin2 является регулятором апоптоза.

Ранее было проведено иммуногистохимическое исследование уровня Beclin1 в образцах первичной глиобластомы с различной степенью злокачественности в сравнении с нормальной тканью головного мозга. Мы провели аналогичное исследование для Beclin2 и получили схожие результаты: в раковых клетках при второй и четвертой степенях злокачественности уровни Beclin1 и Beclin2 гораздо выше в сравнении с нормальной тканью головного мозга.

Для определения базального уровня Beclin2, мы провели вестерн блот клеток глиобластомы линии U87 в присутствии темозоломида. Нами показано, что уровень Beclin2 падает при лечении клеток темозоломидом и с ростом его концентрации. Эти данные имеют обратную корреляцию с аналогичными для Beclin1.

Далее мы провели вестерн блот анализ лизатов клеток глиобластомы U118 линии после их трансфекции антисмысловой РНК к Beclin1. Результаты показали, что уровень Beclin2 ассоциировано падает.

Исходя из вышесказанного можно утверждать о взаимосвязи между уровнями этих белков и то, что их взаимодействие в первичной ткани глиобластомы и при лечении темозоломидом отличны. Нам предстоит проверить, как клетки реагируют на терапию темозоломидом при повышенной экспрессии генов *BECN1* и *BECN2*, исходя из взаимного взаимодействия их белков друг на друга.