

Влияние α -липоевой кислоты на клетки культуры эпидермоидной карциномы A431.

Тишковская Анна Валерьевна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

a.tishkovsky@gmail.com

Основные метаболические пути в клетках основаны на окислительно-восстановительных реакциях, побочным продуктом которых часто являются активные формы кислорода (ROS), токсичные для клеток. Их накопление приводит к патогенезу и прогрессии опухолей, диабета, нейродегенеративных заболеваний. В норме ROS уничтожаются внутриклеточными антиоксидантами. При терапии заболеваний часто используются экзогенные антиоксиданты. Одним из таких препаратов является α -липоевая кислота. Известно, что некоторые антиоксиданты, не влияя на состояние нормальных клеток, вызывают апоптотическую гибель трансформированных клеток. Однако влияние α -липоевой кислоты на пролиферативную активность клеток практически не изучено. Наши исследования проводились на клетках культуры эпидермоидной карциномы человека A431. Для исследования влияния α -липоевой кислоты на клетки A431 были использованы следующие методы: МТТ-тест, метод проточной цитофлуориметрии, иммуноцитохимические окрашивания. Подсчитывались митотический и апоптотический индексы, было проанализировано содержание в популяции полиморфноядерных клеток. Исследование выживаемости клеток A431 с помощью МТТ-теста при воздействии α -липоевой кислоты в течение 72 часов показало, что гибель клеток начинается при введении 200 мкМ. Данные проточной цитофлуориметрии показывают, что в контроле 53,04 \pm 2,86 % клеток находятся в G1 периоде; 19,02 \pm 0,62% - в S-периоде; 17,38 \pm 3,56% - в G2 периоде. Апоптотические клетки составляют 3,52 \pm 0,2%, полиплоидные клетки – 1,44 \pm 0,88 % в популяции. При воздействии 200 мкМ происходит изменение распределения клеток по стадиям клеточного цикла и накопление клеток на одной из стадий (51,95 \pm 2,1%). Однако график распределения не позволяет точно идентифицировать, на какой именно стадии происходит остановка клеточного цикла. Морфологические исследования показывают, что размер ядер при воздействии 200 мкМ увеличен по сравнению с контролем. Подсчет митотического индекса не выявляет значительного увеличения митотической активности. Анализ включения BrdU показывает уменьшение включения метки в ядро. Окрашивание клеток антителами к белку p53 не выявляет накопления этого белка в ядрах. На основании вышеизложенного мы предполагаем, что воздействие 200 мкМ α -липоевой кислоты вызывает блок клеточного цикла в G2 периоде. При воздействии 300 мкМ блок сохраняется. Доля апоптотических клеток увеличивается, что также подтверждается подсчетом апоптотического индекса. Блок клеточного цикла является обратимым. Клетки культуры A431 характеризуются высоким содержанием в популяции полиморфноядерных клеток (микроядра, гигантские ядра и ядра неправильной формы). Высокое содержание таких клеток отражает генетическую нестабильность клеток A431. Воздействие α -липоевой кислоты в концентрациях от 5 до 200 μ М приводит к достоверному снижению в популяции доли клеток с микроядрами. Окраска клеток антителами к p53 демонстрирует накопление p53 в полиморфных ядрах, что может свидетельствовать о последующей активации апоптоза в этих клетках. В целом, можно высказать предположение о том, что воздействие α -липоевой кислоты приводит к элиминации клеток A431 с генетической нестабильностью. Клетки, не имеющие значительных генетических дефектов, блокируются на стадии G2 клеточного цикла, полиморфноядерные клетки продолжают движение по циклу и могут элиминироваться либо в G1 периоде клеточного цикла, либо в результате митотической катастрофы.

Работа поддержана грантами: РФФИ 05-04-49248, РНП.2.1.1.7842.