

Секция «Фундаментальная медицина»

Участие NADPH-оксидазы в миграции фибробластов и мезенхимальных стромальных клеток под действием тромбоцитарного фактора роста

Сухова Анна Александровна

Студент

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия
E-mail: SukhovaAA@gmail.com

Направленное движение лейкоцитов и мезенхимальных клеток в участок повреждения является ключевым событием для репарации и регенерации тканей. Клетки мигрируют по градиентам концентрации хемоаттрактантов. В процессе первичной воспалительной реакции образуется пероксид водорода, вызывающий миграцию в рану первых нейтрофилов [1]. В нейтрофилах H_2O_2 активирует тирозиновые киназы Src-семейства. Фибробласты и их стромальные клетки-предшественники (МСК) попадают в рану позже, двигаясь по градиенту концентрации тромбоцитарного фактора роста (PDGF). Какую роль играет H_2O_2 в миграции этих клеток не известно. В нашей лаборатории было показано, что факторы роста стимулируют накопление в клетках H_2O_2 , который образуется в основном мембранным белковым комплексом NADPH-оксидазой [2]. Мы предположили, что H_2O_2 усиливает активацию внутриклеточных сигнальных каскадов под действием PDGF, и тем самым стимулирует миграцию клеток.

Цель работы: сравнение влияния ингибирования NADPH-оксидаз на сигнализацию от рецепторов PDGF внутри клеток и скорость движения фибробластов и МСК. **В задачи работы** входило: (1) оценить влияние PDGF, а также ингибирования NADPH-оксидазы на скорость движения линейных 3Т3 фибробластов и МСК из жировой ткани человека; (2) определить на какие сигнальные каскады влияет ингибирование NADPH-оксидазы внутри клеток.

Методы исследования. Скорость миграции клеток рассчитывали по индивидуальным траекториям их движения в модели экспериментальной раны клеточного монотипа. *Ингибиторный анализ* миграции и сигнальных каскадов клеток проводили с помощью ингибиторов: апоцинина (НАДФН-оксидазы), LY294002 (PI3-киназы), и U0126 (Erk1/2 MAP-киназного каскада). *Активацию сигнальных каскадов* измеряли с помощью вестерн-блоттинга лизатов клеток и фосфоспецифических антител против PKB/Akt (PI3-киназный каскад), Erk1/2 (MAP-киназный каскад), и кофилина (активатор динамики актина).

Результаты исследования. Ингибирование НАДФН-оксидаз плазматической мембраны клеток уменьшает стимулирующее действие PDGF на скорость движения фибробластов и МСК. С другой стороны, ингибирование NADPH-оксидаз в фибробластах и МСК влияет на активацию PI3-киназного и Erk1/2 MAP-киназного каскадов при стимуляции PDGF и не влияет на фосфорилирование кофилина. Аналогично, ингибирование PI3-киназного каскада полностью подавляет PDGF-зависимую миграцию обоих типов клеток. Ингибирование Erk1/2 MAP-киназного каскада не влияет на миграцию в отношении фибробластов, но подавляет PDGF-зависимую миграцию МСК.

Выводы. PDGF ускоряет миграцию фибробластов и МСК за счет активации НАДФН-оксидаз и PI3-киназного каскада. НАДФН-оксидаза участвует в рецептор-зависимой

активации PI3-киназного каскада под действием PDGF. Роль НАДФН-оксидазы в регуляции Erk1/2 MAP-киназного каскада в PDGF-зависимой миграции фибробластов и MSC может быть различной.

Литература

1. Niethammer, P., Grabher, C., Look, A.T., Mitchison, T.J. (2009) A tissue-scale gradient of hydrogen peroxide mediates rapid wound detection in zebrafish. *Nature*, 459, 996-999.
2. Hurd, T.R., Degenaro, M., Lehmann, R. (2012) Redox regulation of cell migration and adhesion. *Trends in Cell Biology*, 22, 107-115.