

Изучение механизмов токсичности кардиотонического стероида убаина для недифференцированной и дифференцированной культуры нейробластомы SH-SY5Y

Научный руководитель – Вольнова Анна Борисовна

Завьялов В.А.¹, Маркина А.А.², Казанская Р.Б.³

1 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: vladislavletsgo@gmail.com*; 2 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: shifu1999@yandex.ru*; 3 - Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: st059046@student.spbu.ru*

Введение: Известно, что кардиотонические стероиды (КТС), являющиеся специфическими ингибиторами Na,K-АТФазы [4] могут блокировать рост ряда опухолевых культур [3]. В частности, было показано, что 1 мкМ убаин вызывает гибель культуры нейробластомы SH-SY5Y. При этом в культуре происходит активация киназ Akt и ERK1/2, а также изменение количества белков семейства Vcl-2 в сторону преобладания проапоптотических [2]. В то же время на культуре нейробластомы SK-N-SH было показано, что 1 мкМ убаин вызывает значительно большее снижение жизнеспособности недифференцированной культуры, чем дифференцированной при помощи ретиноевой кислоты (РК) в нейроно-подобную культуру [1]. На основании представленных данных литературы было сделано предположение о том, что минимальные токсичные концентрации для дифференцированной и недифференцированной нейробластомы могут различаться.

Методы: В качестве модели для исследования была использована культура нейробластомы человека SH-SY5Y. Недифференцированную нейробластому культивировали в среде DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной сыворотки телят. Дифференцированную нейробластому культивировали в среде DMEM/F12 с добавлением 1% эмбриональной телячьей сыворотки, 1 мкМ РК, и 1% форбол-12-миристат-13-ацетата. При проведении экспериментов культуры инкубировали с различными концентрациями убаина, а также ингибиторами: протеинкиназы С (PKC), хелеритрином, MEK1/2, PD0325901, и PI3K, LY294002. Жизнеспособность культуры оценивали через 24 ч при помощи МТТ-теста.

Результаты: В данном исследовании было показано, что убаин вызывает уменьшение жизнеспособности недифференцированной культуры SH-SY5Y в концентрации 10 нМ. В то же время, жизнеспособность дифференцированной РК нейробластомы снижалась лишь при воздействии 100 нМ убаина. Также был проведен анализ того, активация каких сигнальных каскадов опосредует токсичность убаина. Было показано, что хелеритрин значительно уменьшал токсический эффект 10 нМ и 100 нМ убаина на недифференцированную культуру SH-SY5Y. В то же время, 1 мкМ PD0325901 и LY не влияли на токсический эффект убаина.

Заключение: В данном исследовании было показано, что концентрации убаина, которые необходимы для уменьшения жизнеспособности недифференцированной культуры нейробластомы человека на порядок ниже, чем для дифференцированной в непролиферирующую нейрональную культуру. Также было показано, что токсический эффект убаина на недифференцированную нейробластому опосредован активацией PKC. Таким образом, данное исследование открывает перспективу для дальнейшего исследования КТС как противоопухолевых препаратов, поскольку их токсичность для дифференцированных клеток может быть на порядок меньше, чем для активно пролиферирующих опухолевых.

Финансирование: Данное исследование поддержано проектом ID:51143531 СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия.

Источники и литература

- 1) Akkuratov EE, Wu J, Sowa D, Shah ZA, Liu L (2015) Ouabain-Induced Signaling and Cell Survival in SK-N-SH Neuroblastoma Cells Differentiated by Retinoic Acid. *CNS & neurological disorders drug targets* 14: 1343-1349
- 2) Kulikov A, Eva A, Kirch U, Boldyrev A, Scheiner-Bobis G (2007) Ouabain activates signaling pathways associated with cell death in human neuroblastoma. *Biochim Biophys Acta* 1768: 1691-1702
- 3) Mijatovic T, Van Quaquebeke E, Delest B, Debeir O, Darro F, Kiss R (2007) Cardiotonic steroids on the road to anti-cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 1776: 32-57
- 4) Schoner W (2002) Endogenous cardiac glycosides, a new class of steroid hormones. *Eur J Biochem* 269: 2440-2448