

**Индукторы Nrf2 предотвращают повышение уровня мРНК ICAM1 и IL-8,
вызванное дцРНК в клетках линии EA.hy926**

Научный руководитель – Зиновкин Роман Алексеевич

Фроленкова Марина Олеговна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: frolenkovamar@yandex.ru

Чрезмерные воспалительные реакции, вызываемые вирусами, представляют собой большую практическую проблему в здравоохранении. Для моделирования и изучения таких реакций *in vitro* широко используются различные неинфекционные модели, в частности, трансфекция клеточных линий двухцепочечной РНК (поли-инозин-цитозин). В нашей работе мы создали такую модель на культивируемых эндотелиальных клетках линии EA.hy926. С помощью обратной транскрипции и количественной ПЦР мы показали, что в модели с 4х-часовым воздействием на клетки линии EA.hy926 двухцепочечной РНК уровень мРНК воспалительных цитокинов (IL-8) и молекул адгезии (ICAM-1) возрастал в несколько десятков раз.

Известно, что активация транскрипционного фактора Nrf2 может снижать воспалительный ответ в разных моделях воспаления. Однако, его действие на эндотелиальные клетки, активированные дцРНК, до сих пор не изучено. Мы определили токсичность индукторов Nrf2 тиосульфата натрия (STS) и сульфорафана (SFN) на эндотелиальных клетках и провели первичные опыты по использованию этих соединений для предотвращения избыточного воспалительного ответа, вызванного дцРНК.

Для анализа токсичности и подбора оптимальной концентрации индукторов Nrf2 тиосульфата натрия (STS), сульфорафана (SFN) и диметилфумарата (DMF) был проведен резазуриновый тест на клетках линии EA.hy926. Результаты измеряли спустя 5 часов. Выживаемость клеток для всех выбранных концентраций составила более 75%.

С помощью обратной транскрипции и количественного ПЦР показали, что в модели с воздействием на клетки линии EA.hy926 двухцепочечной РНК уровень мРНК ICAM-1 дозозависимо уменьшается под действием индукторов Nrf2 STS, SFN и DMF относительно контрольных клеток (без индукторов). Уровень мРНК IL-8 продолжал увеличиваться при небольших концентрациях как STS, так и SF и DMF, и снижался при больших концентрациях индукторов. Действие SFN и DMF более выражено, чем действие STS.

С помощью иммуноблоттинга подтвердили, что в модели с воздействием на клетки линии EA.hy926 двухцепочечной РНК уровень белка гемоксигеназы (НО, одна из мишеней активации Nrf2) растет под воздействием SFN дозозависимо, с максимумом при 10мкМ. Ингибитор Nrf2 ML385 снижает уровень НО при индукции 20 мкМ SFN.