

Роль окислительного стресса в трансдифференцировке клеток при патогенезе фиброза.

М.А.Виговский, О.А. Григорьева, Н.А. Александрович, Н.А. Басалова, М.А. Кулебякина, А.Ю. Ефименко

Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

The role of oxidative stress in cell transdifferentiation in the pathogenesis of fibrosis.

M. A. Vigovsky, O. A. Grigorieva, N. A. Alexandrushkina, N. A. Basalova, M. A. Kulebyakina, A. Yu. Efimenko

Institute for regenerative medicine , Medical research and educational center, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

vigovskiy_m.a@mail.ru

Обширное или хроническое повреждение тканей зачастую разрешается с потерей или ослаблением функции органа из-за патологического накопления внеклеточного матрикса (ВКМ) и развитием фиброза. Известно, что в построении ВКМ важную роль играют миофибробласты, пул которых пополняется в процессе трансдифференцировки клеток эндотелия сосудистого русла в стромальные клетки путем эндотелиально-мезенхимного перехода (эндоМП). Одним из стимуляторов данного процесса считается трансформирующий фактор роста (TGF β), однако ряд последних работ указывает на комплексность эндоМП. Так возникает необходимость выяснения роли возможных комплементарных факторов, таких как взаимодействие с окислителями, возможное в ходе воспалительной реакции, при котором происходит накопление интермедиантов кислорода и развитие окислительного стресса клеток.

Целью нашей работы стала оценка роли окислительного стресса в запуск процесса эндоМП.

Мы сравнивали влияние TGF β на эндоМП с воздействием окислительного стресса, моделируемого нами добавлением в среду перекиси водорода (H₂O₂). Для моделирования процесса перехода клетки эндотелия пупочной вены человека (HUVEC) культивировали в течение четырех суток в среде с ежедневным добавлением 5нг/мл TGF β , 100 мкМ H₂O₂ или их смеси. Для

анализа трансдифференцировки клеток эндотелия в миофибробласты оценивали уровень основных маркеров миофибробластов – альфа гладкомышечного актина (α SMA), внеклеточного домена А фибронектина (EDA FN), коллагена I типа, а также в модели направленной миграции оценивали изменение подвижности клеток эндотелия.

Методом иммуноцитохимии показано, что экспрессия одного из основных маркеров миофибробластов α SMA, в клетках эндотелия увеличивается при культивировании в среде с добавлением только H₂O₂ или смеси TGF β и H₂O₂, а согласно результатам ОТ-ПЦР уровень мРНК α SMA повышался только при добавлении смеси TGF β и H₂O₂.

При этом во всех случаях сохранялась экспрессия маркера эндотелия – CD31, при этом возрастал как уровень экспрессии генов EDA-FN и коллагена I типа, как и уровень их синтеза по результатам вестерн-блот анализа. Воздействие комбинации TGF β и H₂O₂ приводило к изменению уровня подвижности HUVEC в 2 раза по сравнению с контрольными клетками, что также является признаком эндоМП.

Полученные данные свидетельствуют о способности окислительного стресса индуцировать эндотелиально-мезенхимный переход, что может вносить значительный вклад в фиброзирование тканей. При этом следует отметить, что для эффективной трансдифференцировки эндотелиоцитов недостаточно одного фактора, а требуется создание комплекса условий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-015-0043719.