

проводили в 10 мкл смеси, которая включала в себя SYBR Green MIX (Евроген, РФ) и специфические праймеры (BioBeagle, РФ). Данные были посчитаны методом 2 $\Delta\Delta$ Ct, статистически обработаны.

Длительная алкоголизация привела к повышению содержания miR 155 в 1.41 раза. При отмене алкоголя на 7-е сут. отмечается дальнейшее повышение miR 155 в 8.89 раза.

Полученные результаты соотносятся с данными, проведёнными ранее исследований. В дальнейшем представляется интересным изучить другие потенциальные мишени miR-155 в системе TLR4 – сигналинга в исследуемых нами структурах головного мозга у длительно алкоголизированных крыс, а также исследовать вклад фармакологических агентов на данную систему.

ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ ОКИСЛЕННЫХ БИСРЕТИНОИДОВ ЛИПОФУСЦИНОВЫХ ГРАНУЛ НА РЕТИНАЛЬНЫЙ ПИГМЕНТНЫЙ ЭПИТЕЛИЙ ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

Яковлева М. А.¹, Островский Д. С.², Хубецова М. Х.², Семенов А. Н.³,
Максимов Е. Г.⁴, Мойсенович А. М.^{3,4}, Цораев Г. В.³, Рамонова А. А.^{3,4},
Ширшин Е. А.^{5,6,7}, Случанко Н. Н.⁸, Рубин А. Б.³, Кирпичников М. П.³,
Борзенко С. А.², Фельдман Т. Б.^{1,3}, Островский М. А.^{1,3}, Донцов А. Е.¹

1 - ФГБУН "Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН", Москва, Россия

2 - ФГАУ МНТК "Микрохирургия глаза" им. С. Н. Федорова, Москва, Россия

3 - ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова",
Биологический факультет, Москва, Россия

4 - Междисциплинарная научно-образовательная школа "Молекулярные технологии
живых систем и синтетическая биология", ФГБОУ ВО "Московский
государственный университет им. М. В. Ломоносова", Москва, Россия

5 - ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова",
Физический факультет, Москва, Россия

6 - Научно-исследовательский центр мирового уровня "Цифровой биодизайн и
персонализированное здравоохранение", ФГАУ ВО "Первый Московский
государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова" МЗ РФ
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

7 - ФГБУН "Институт спектроскопии РАН", Москва, Россия

8 - ФГУ "Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы
биотехнологии РАН", Москва, Россия

lina.invers@gmail.com

С возрастом в клетках ретинального пигментного эпителия (РПЭ) глаза человека накапливаются липофусциновые гранулы (ЛГ), которые содержат бисретиноиды - флуорофоры, способные при поглощении видимого света генерировать активные формы кислорода (АФК). При этом образуются окисленные продукты (окси-БисРет), в состав которых входят альдегиды и кетоны, способные диффундировать из ЛГ в цитоплазму клетки РПЭ и оказывать на неё токсическое действие уже в отсутствие света.

Целью настоящего исследования было изучение механизмов развития апоптоза при цитотоксическом (ЦТ) воздействии входящих в состав ЛГ активных

соединений, на клетки РПЭ после их облучения видимым светом и последующей темновой адаптации.

Были проведены эксперименты по исследованию ЦТ свойств окси-БисРет в темновых условиях с использованием клеточной культуры АРПЭ-19, нагруженной ЛГ (АРПЭ + ЛГ). Применяли следующие методы: тест на жизнеспособность, флуоресцентный анализ, ВЭЖХ-анализ, иммуногистохимия (апоптоз: каспаза7, каспаза8, ВАХ).

Сравнительный анализ исходных и предварительно облученных видимым светом образцов клеток АРПЭ + ЛГ показал, что в обоих случаях в клетках после темновой адаптации в течение 4-х суток запускается апоптоз. Он проходит как по митохондриальному, так и по каспазному пути, который превалирует. В случае образцов с более высоким содержанием окси-БисРет этот процесс проходит заметно интенсивнее. Можно предположить, что именно окси-БисРет оказывают ЦТ воздействие на клетку РПЭ в отсутствие света и могут рассматриваться как усугубляющий фактор развития возрастной макулярной дегенерации.

Для проверки этого предположения мы вводили в клетки АРПЭ+ЛГ антиоксидант – зеаксантин (Zea), связанный с водорастворимым белком, и показали, что это приводит к значительному снижению ЦТ влияния света на АРПЭ+ЛГ как в световой фазе, так и в последующей темновой. Это полностью подтверждает нашу гипотезу о том, что окси-БисРет токсичны для клетки. Поскольку Zea инактивировал АФК, образующиеся при действии света на ЛГ в клетках АРПЭ-19, и, как следствие, не происходило образования окси-БисРет в составе ЛГ, то не было и последующего увеличения интенсивности гибели клеток в темноте, которое мы наблюдали в отсутствии Zea.

На основании наших данных мы предлагаем схему ЦТ влияния ЛГ на клетки АРПЭ-19: 1) световая фаза, быстрая, вызванная генерацией на свету АФК и 2) темновая фаза, медленная, пролонгированная, вызванная, высвобождающимися из окисленных ЛГ, гидрофильными и токсичными альдегидами и кетонами.