Секреция и уровень экспрессии генов цитокинов в культурах эндотелиоцитов, экспонированных доксорубицином

Синицкая А.В. (cepoav1991@gmail.com), Синицкий М.Ю., Поддубняк А.О., Хуторная М.В., Асанов М.А., Понасенко А.В.

Исследование выполнено в рамках комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0001

Цель: оценка влияния доксорубицина на первичные эндотелиальные клетки коронарной артерии в эксперименте in vitro.

Материалы и методы

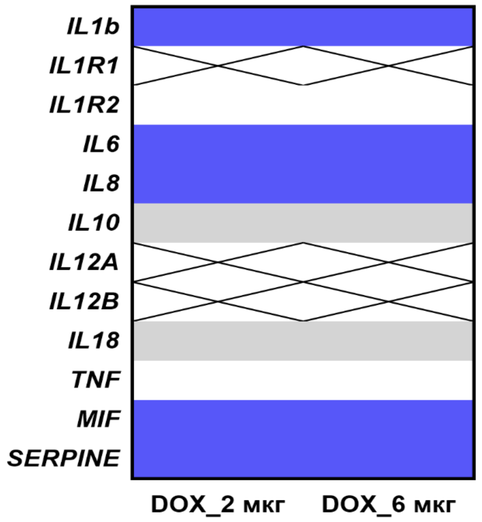
В исследовании использованы коммерческие культуры первичных эндотелиальных клеток коронарной артерии человека (300K-05a, Cell Applications). При достижении 80% конфлюэнтности в культуральные флаконы с клетками добавляли раствор доксорубицина гидрохлорида (D1515-10MG, Sigma Aldrich) в концентрации 2 мкг/мл или 6 мкг/мл, с дальнейшей инкубацией клеток в течение суток. Выделение РНК проводили коммерческим набором RNeasy Plus Universal Mini Kit (Qiagen, Германия) по протоколу производителя. Экспрессию генов оценивали методом кПЦР с обратной транскрипцией. Секрецию цитокинов в эндотелиальных клетках, культивируемых в присутствии доксорубицина, анализировали путем измерения их содержания в культуральной среде при помощи дот-блоттинга (ARY005B, R&D Systems). Статистическую обработку данных выполняли в программе GraphPad Prism 7 (GraphPad Software).

Выводы

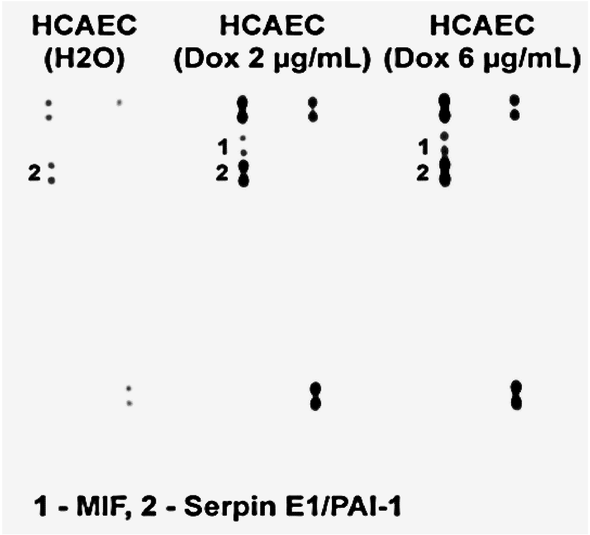
В результате проведенного исследования установлено, что первичные эндотелиальные клетки коронарной артерии человека, культивируемые в присутствии доксорубицина в различных концентрациях, характеризуются изменением уровня экспрессии генов цитокинов.

Результаты

Культивирование эндотелиальных клеток в присутствии доксорубицина в различных концентрациях стимулирует секрецию фактора ингибирования миграции макрофагов (MIF) и ингибитора активатора плазминогена (PAI-1/SERPINE). Показано изменение профиля генной экспрессии при культивировании клеток с доксорубицином в концентрации 2 мкг и 6 мкг. Выявлено значительное повышение уровня экспрессии генов *IL6, IL1B, IL8, MIF, PAI (SERPINE)* и снижение экспрессии генов *IL10* и *IL1R2*. Гены *IL1R1*, *IL12A* и *IL12B* не экспрессировались в исследуемых образцах.



Уровень экспрессии генов некоторых цитокинов. Фиолетовым цветом обозначены гены с повышенной экспрессией, белым – пониженной. Сравнение относительно контроля.



Оценка профиля цитокинов, выделяемых первичными эндотелиальными клетками в культуральную среду при культивировании с доксорубицином