

Анализ цитотоксичности ротенона на линии клеток нейробластомы человека

Научный руководитель – Кошелева Настасья Владимировна

Бикмулина Полина Юрьевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра эмбриологии, Москва, Россия

E-mail: Polina_Bikmulina@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) - сопровождающееся брадикинезией, тремором, мышечной ригидностью и общим снижением двигательной активности нейродегенеративное заболевание, от которого страдают 1-2% людей старше 60 лет. В патогенезе БП ведущую роль играет дегенерация дофаминергических нейронов в *Substantia nigra* среднего мозга, сопровождающаяся снижением уровня дофамина, нарушениями убиквитин-протеасомной системы, дисфункцией митохондрий, окислительным стрессом и апоптотической гибелью клеток [1]. Этиология БП до конца не изучена. Одной из причин спорадического паркинсонизма у людей в сельской местности является использование пестицидов, в частности, ротенона. Ротенон легко проходит через биологические мембраны, ингибирует комплекс I электронно-транспортной цепи митохондрий и вызывает симптомы БП. Исследовать механизмы БП *in vivo* практически невозможно, поэтому актуален поиск моделей *in vitro* для изучения патогенеза этой болезни. Целью работы стала разработка ротеноновой модели БП *in vitro* с применением культуры клеток.

Культуру клеток нейробластомы человека линии SK-N-BE(2) культивировали в 96-луночных планшетах в среде DMEM/F12+10%FCS+2%L-глутамин. Ротенон в концентрациях от 0,001 до 150мкМ добавляли на 24ч, после чего осуществляли фоторегистрацию клеток и для анализа их метаболической активности проводили колориметрический МТТ-тест, определяющий НАДФ-Н-зависимые клеточные оксидоредуктазные ферменты и отражающий количество жизнеспособных клеток.

Ротенон в концентрациях 0,001-5мкМ снижал жизнеспособность клеток менее чем на 20%. Полулетальная доза ротенона (LD_{50}) составила 50мкМ. Падение жизнеспособности клеток более чем на 90% показано при концентрации ротенона выше 100мкМ. Дополнительный визуальный контроль культуры подтвердил массовую гибель клеток при концентрациях ротенона 75-100мкМ. Полученные данные согласуются с результатами уже известных исследований и дополняют их. В существующей модели *in vitro* ротенон в концентрации 1мкМ в клетках нейробластомы человека SK-N-MS снижал выработку АТФ, вызывал окислительные повреждения и смерть клеток [2].

Проведенный комплексный анализ влияния широкого диапазона концентраций ротенона на жизнеспособность клеток нейробластомы человека линии SK-N-BE(2) закладывает основы новой ротеноновой модели БП *in vitro* для анализа патогенеза паркинсонизма и поиска путей терапии.

Работа проводилась при частичной поддержке грантов РФФИ № 17-02-01248 и № 17-02-00832

Источники и литература

- 1) Бунеева О.А., Медведев А.Е. Нарушение функций митохондрий при болезни Паркинсона // Биомедицинская химия. 2011. Т. 57, вып. 3. С. 246-281.

- 2) 2. Sherer T.B., Betarbet R., Testa C.M., Seo B.B., Richardson J.R., Kim J.H., Miller G.W., Yagi T., Matsuno-Yagi A., Greenamyre J.T. Mechanism of Toxicity in Rotenone Models of Parkinson's Disease // The Journal of Neuroscience. 2003. V. 23. № 34. P. 10756 –10764.