

## Образование нейтрофильных внеклеточных ловушек под действием сфингозина, стеариламина и финголимода

Научный руководитель – Войтенко Анастасия Александровна

*Войтенко Анастасия Александровна*

*Студент (бакалавр)*

МИРЭА - Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий, Москва, Россия

*E-mail: voitenook@mail.ru*

**Ключевые слова:** нетоз, стеариламин, сфингозин, финголиמוד

Нетоз - тип клеточной гибели, при котором образуются нейтрофильные внеклеточные ловушки, состоящие из деконденсированного хроматина и бактерицидных белков [1]. Существуют два основных механизма нетоза - с участием НАДФН-оксидазы (NOX-зависимый нетоз) и без участия этого фермента (NOX-независимый нетоз) [2].

В работе изучали нетоз, индуцированный биологически активными природными веществами: сфингозином и финголиמודом (модулятор рецептора сфингозин-1-фосфата). Сравнивали способность этих веществ к индукции нетоза с активностью структурно схожих соединений: стеариламина, стеариновой кислоты и церамида С17. Нейтрофилы выделяли из венозной крови в градиенте плотности фикола с гипотоническим лизисом. Нетоз определяли методом флюоресцентной микроскопии. Расчет количества ловушек осуществляли с помощью пакета Icy software 2.1.0. Кислородный взрыв определяли методом люминол-зависимой хемилюминесценции. Для определения участия НАДФН-оксидазы в процессе нетоза фермент ингибировали DPI (10 мкМ) или апоцинином (200 мкМ).

Было установлено, что ни одно из исследуемых веществ не вызвало кислородный взрыв. Финголиמוד в концентрации 2 мкМ и сфингозин в концентрации 33 мкМ почти полностью подавляли спонтанный кислородный взрыв (рис. 1). Стеариламин оказывал этот эффект в концентрации 330 мкМ (на рисунке не представлено). Сфингозин был наиболее эффективен в образовании нетоза (вызывал 100% нетоз при концентрации 33 мкМ) по сравнению с стеариламином (100% нетоз при 330 мкМ) и финголиמודом (19,7+10,1 % при 1,6 мкМ). Остальные вещества вызывали небольшой процент нетоза, сравнимый с контрольным (рис 2). Ингибирование НАДФН-оксидазы не влияло на образование ловушек под действием сфингозина и стеариламина, т.е. эти соединения вызывали NOX-независимый нетоз (рис. 3).

Полученные результаты позволяют сделать предположение, что сфингозин, стеариламин и финголиמוד индуцируют развитие нетоза, по механизму, отличному от механизма развития NOX-зависимого нетоза.

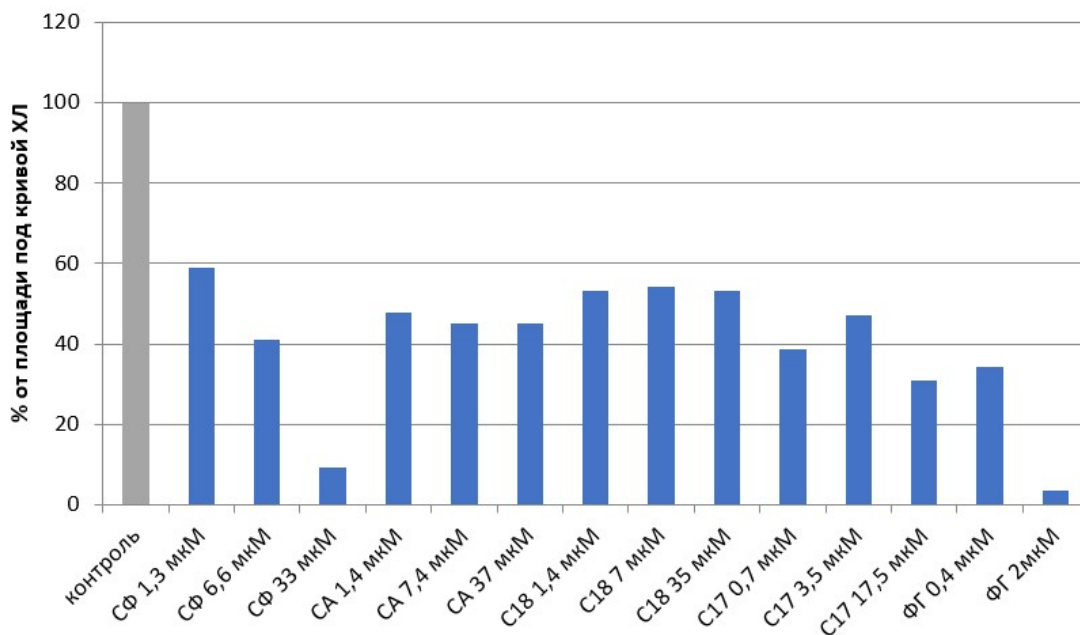
Работа выполнена при поддержке тематического плана НИЦ "Курчатовский институт" 1.8. Изучение процессов генерации, передачи и распределения энергии в живых организмах и темы № государственной регистрации 121031600197-5 МГУ им. М.В. Ломоносова

### Источники и литература

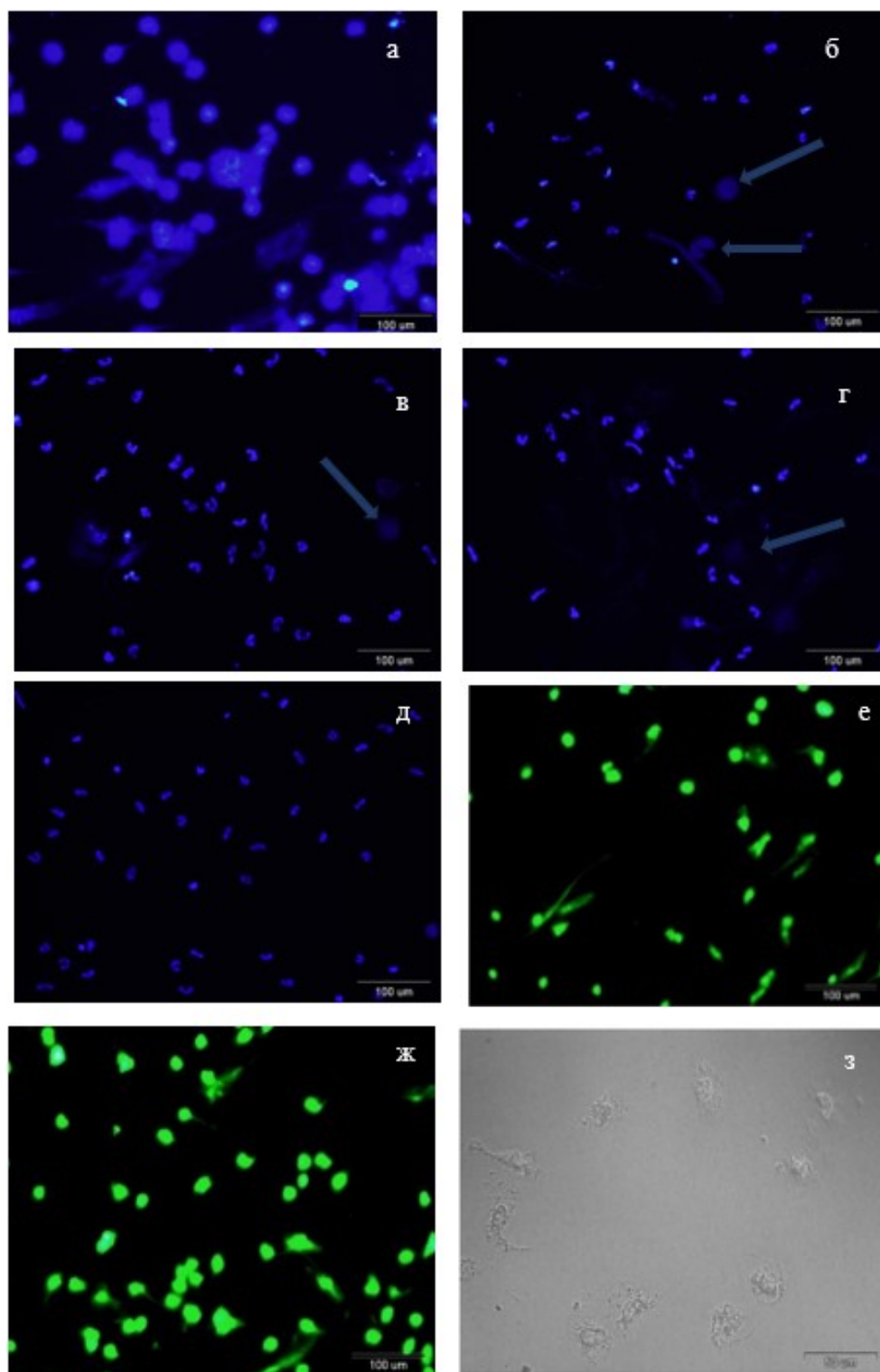
- 1) 1. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. 2004. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. Science (80- ). 303 (5663), 1532–1535.

- 2) 2. Fuchs T.A., Abed U., Goosmann C., Hurwitz R., Schulze I., Wahn V., Weinrauch Y., Brinkmann V., Zychlinsky A. 2007. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. J. Cell Biol. 176 (2), 231–241.

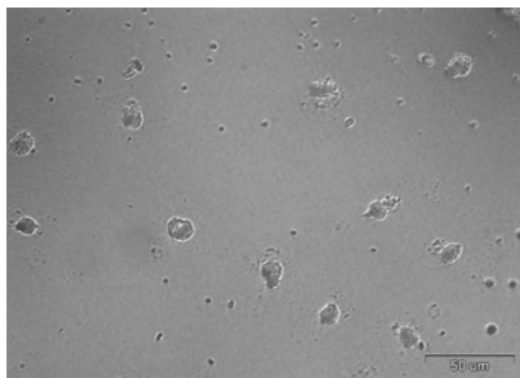
### Иллюстрации



**Рис. 1.** Рисунок 1. Относительный уровень ХЛ люминола. Влияние различных концентраций сфингозина, стеариламина, стеариновой кислоты С18 и финголимода на спонтанный кислородный взрыв нейтрофилов



**Рис. 2.** Рисунок 2. Действие сфингозина (А), стеариновой кислоты (Б), церамида С17 (В), финголимода (Г); Д – контроль, содержит 1% ДМСО. Окраска Ноеchst 33342. Действие сфингозина в присутствии блокаторов НАДФН-оксидазы DPI (Е) и апоцинина (Ж). окраска Sybr green. Все вещества, кроме финголимода, инкубировались с клетками в концентрации 330 мкМ, концентрация составила 0,4 мкМ. Инкубация в течение 60 мин (37°С, 5% CO<sub>2</sub>). Стрелки указывают на нетотические клетки. Шкала 100 мкм. В контрольном образце хорошо видно дольчатое строение ядра и грануляция в цитоплазме. В нетотических клетках наблюдается слияние содержимого ядра и цитоплазмы. Шкала 50 мкм.



**Рис. 3.** Рисунок 2