

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-328

НЕКАНОНИЧЕСКИЙ КАЛЬЦИЕВЫЙ ОТВЕТ НА ИНСУЛИН В СЕНЕСЦЕНТНЫХ МСК ЖИРОВОЙ ТКАНИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ НАРУШЕННОГО ГОМЕОСТАЗА*

NON-CANONICAL CALCIUM RESPONSE TO INSULIN IN SENESCENT ADIPOSE TISSUE MESENCHYMAL STEM CELLS AS A POTENTIAL MECHANISM OF CELLULAR ADAPTATION UNDER CONDITIONS OF DISRUPTED HOMEOSTASIS

С. С. Каменков, В. И. Чечехин, А. А. Зиновьева, П. А. Тюрин-Кузьмин, К. Ю. Кулебякин, Е. С. Чечехина

Медицинский научно-образовательный институт МГУ им. М. В. Ломоносова

S. S. Kamenkov, V. I. Chechekhin, A. A. Zinoveva, P. A. Tyurin-Kuzmin, K. Yu. Kulebyakin, E. S. Chechekhina

Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University

✉ kams200303@gmail.com

Аннотация

С возрастом в жировой ткани происходит нарушение инсулиновой чувствительности мультипотентных стромальных клеток (МСК). У сенесцентных МСК отмечается переключение клеточного ответа на инсулин с PI3K/Akt сигнального пути на неканонический кальциевый, сопровождающийся ядерным накоплением PTEN. Это может отражать адаптацию клеток к нарушенному гомеостазу.

Abstract

Senescence impairs the insulin sensitivity of multipotent stromal cells (MSCs) in adipose tissue. There is a switch in the cellular insulin response of senescent MSCs, from the canonical PI3K/Akt signaling pathway to a non-canonical calcium-dependent pathway, accompanied by nuclear accumulation of PTEN. This may represent a mechanism of cellular adaptation to disrupted homeostasis.

По мере увеличения средней продолжительности жизни все более актуальным становится изучение заболеваний, связанных со старением. Старение — процесс, ассоциированный с нарушением гомеостатических и регенеративных возможностей органов и тканей, который приводит к развитию различных хронических заболеваний. Так, нарушение обновления жировой ткани при старении может приводить к развитию патологического ожирения и метаболического синдрома. В поддержании гомеостаза жировой ткани важную роль играют мультипотентные стромальные клетки (МСК), обладающие способностью к пролиферации и дифференцировке в адипоциты, а также осуществляющие паракринную регуляцию в ткани. Одним из ключевых функциональных изменений, происходящих в МСК жировой ткани с возрастом, является нарушение их чувствительности к инсулину — ключевому регулятору адипогенной дифференцировки. Развитие инсулинорезистентности МСК является одной из основных причин нарушения обмена жировой ткани при старении. В данной работе показано изменение инсулиновой чувствительности стареющих МСК за счет переключения канонического PI3K/Akt инсулинового ответа МСК на неканонический кальциевый.

МСК были получены из подкожной жировой клетчатки доноров 2 групп — молодых (< 45 лет) и пожилых (> 65 лет). В экспериментах данные клетки были обозначены как «Молодые» и «Сенесцентные» соответственно. Измерение уровня экспрессии белков участников и регуляторов инсулинового каскада проводили методом вестерн-блоттинга с нормировкой на GAPDH и винкулин. Данные о локализации белка внутри клетки были получены методом иммуноцитохимии. Изменение уровня внутриклеточного кальция в ответ на стимуляцию инсулином оценивалось по данным микроскопной съемки с использованием Ca^{2+} -чувствительного флуоресцентного красителя Fluo-8.

Ранее мы показали, что при старении снижается адипогенный потенциал МСК вследствие повышения базального уровня активации канонических инсулиновых PI3K/Akt и MAPK/Erk сигнальных путей [1]. Чтобы подробнее разобраться в механизмах формирования инсулинорезистентности МСК при старении, мы проанализировали экспрессию ключевых белков, регулирующих указанные пути. В результате было выявлено повышение уровня белка PTEN — ингибитора сигнального каскада PI3K/Akt. На первый взгляд, это противоречило ранее зафиксированному высокому базальному уровню активации Akt в данных клетках. Однако иммуноцитохимиче-

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-75-30005).

© С. С. Каменков, В. И. Чечехин, А. А. Зиновьева, П. А. Тюрин-Кузьмин, К. Ю. Кулебякин, Е. С. Чечехина, 2025

ский анализ и вестерн-блоттинг с разделением клеточных фракций показали, что увеличение содержания PTEN отмечалось исключительно в ядерной фракции МСК [2].

Известно, что функциональная роль PTEN зависит от его клеточной локализации: в цитоплазме он ингибирует PI3K/Akt сигнальный путь, а в ядре обеспечивает стабильность хромосом и репарацию ДНК [3]. Транслокация PTEN в ядро обусловлена, в частности, участием Ca^{2+} [4]. В связи с этим мы исследовали изменения уровня внутриклеточного кальция в МСК как в покое, так и после стимуляции инсулином. Было обнаружено, что сенесцентные МСК характеризуются повышенной базальной кальциевой активностью по сравнению с молодыми клетками. После добавления инсулина сенесцентные МСК демонстрировали быстрый (в течение нескольких минут) и высокоамплитудный кальциевый ответ, преимущественно в виде осцилляций, тогда как в молодых клетках подобные реакции почти не наблюдались. Для подтверждения того, что изменение кальциевого ответа способствует накоплению PTEN в ядре стареющих МСК, мы сравнили распределение этого белка между ядром и цитоплазмой до и после кратковременного воздействия инсулином. В молодых МСК добавление инсулина не вызывало изменений в локализации PTEN, тогда как в сенесцентных клетках происходило усиленное накопление PTEN в ядре.

Таким образом, нами было показано, что в процессе старения происходит переключение ответа на инсулин с канонического PI3K/Akt на неканонический кальциевый ответ. Обнаруженные осцилляции кальция, по-видимому, представляют собой один из адаптационных механизмов, способствующих поддержанию генетической стабильности в условиях нарушенного клеточного гомеостаза. Ca^{2+} -индуцируемый перенос PTEN в ядро может играть роль в регуляции клеточного цикла, препятствуя чрезмерной пролиферации, что соответствует сниженной пролиферативной активности и адипогенной способности МСК у пожилых доноров. Описанный процесс, вероятно, является одним из ключевых механизмов старения и патогенеза возраст-ассоциированных заболеваний жировой ткани и может быть использован для совершенствования стратегий воздействия на сигнальные пути в стареющих клетках.

Литература

1. Voynova E., Kulebyakin K., Grigorieva O. et al. Declined adipogenic potential of senescent MSCs due to shift in insulin signaling and altered exosome cargo // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022. Vol. 10. P. 1050489.
2. Chechekhina E., Kamenkov S., Chechekhin V. et al. Extracellular vesicles of adipose multipotent mesenchymal stromal cells propagate senescent phenotype by affecting PTEN nuclear import // *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, No. 15. P. 7164.
3. Ho J., Cruise E., Dowling R. et al. PTEN nuclear functions // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2020. Vol. 10, No. 5. P. a036079.
4. Yu Z., Fotouhi Ardakani N., Wu L. et al. PTEN associates with the vault particles in HeLa cells // *Journal of Biological Chemistry*. 2002. Vol. 277, No. 43. P. 40247–40252.