

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<sup>\*</sup>

### 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. Zinov'eva, 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 инсулинерезистентности 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 винкулином. 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  $\text{Ca}^{2+}$ -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 инсулинерезистентности 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  $\text{Ca}^{2+}$  [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 кальциевою 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.  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцируемый перенос PTEN в ядро может играть роль в регуляции клеточного цикла, препятствуя чрезмерной пролиферации, что соответствует сниженной пролиферативной активности и adipогенной 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.