

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-345

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВАЦИЯ ИНДУЦИРУЕТ ДИСФУНКЦИЮ МИТОХОНДРИЙ И ЛЕКАРСТВЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ У КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА***PRO-INFLAMMATORY ACTIVATION INDUCES MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION AND DRUG RESISTANCE IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA CELLS**Е. И. Мещерякова^{1,2}, И. В. Одинокова¹, М. И. Кобякова¹, Р. С. Фадеев¹¹*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино*²*Институт биофизики клетки РАН, Пушкино*E. I. Meshcheriakova^{1,2}, I. V. Odinokova¹, M. I. Kobyakova¹, R. S. Fadeev¹¹*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino*²*Institute of Cell Biophysics RAS, Pushchino*

✉ elena.mesh2311@gmail.com

Аннотация

В представленной работе показано, что в условиях септической и асептической провоспалительной активации у клеток ОМЛ ТНР-1 изменяется митохондриальная функция и формируется лекарственная устойчивость на фоне изменения экспрессии генов антиапоптотических белков семейств BCL-2/IAP. Полученные данные важны для понимания механизмов формирования устойчивости клеток ОМЛ и разработки новых терапевтических стратегий.

Abstract

The presented work shows that in conditions of septic and aseptic proinflammatory activation, the mitochondrial function of TNR-1 cells of AML changes and drug resistance is formed against the background of changes in the expression of genes of antiapoptotic proteins of the BCL-2/IAP families. The data obtained are important for understanding the mechanisms of the formation of resistance of AML cells and the development of new therapeutic strategies.

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) представляет собой агрессивное злокачественное заболевание кроветворной системы, характеризующееся нарушением дифференцировки и пролиферации миелоидных предшественников. Одной из основных проблем в лечении ОМЛ является развитие резистентности к химиотерапии, механизмы которой остаются недостаточно изученными. В последние годы особое внимание уделяется роли провоспалительного микроокружения в формировании лекарственной устойчивости лейкозных клеток. Известно, что митохондриальная дисфункция играет ключевую роль в регуляции провоспалительной клеточной активации и апоптоза и может быть связана с формированием лекарственной устойчивости.

Цель данного исследования состояла в изучении влияния различных типов провоспалительной активации на повышение резистентности и изменения митохондриальных функций клеток ОМЛ.

В качестве *in vitro* моделей септического воспаления использовали клетки ТНР-1, обработанные 150 мкг/мл зимозана А (ТНР-1З) или 10 мг/мл липополисахарида (ТНР1-ЛПС) в течение 24 ч. В качестве *in vitro* модели асептического воспаления использовали клетки ТНР-1, которые культивировали в долговременных трехмерных высокоплотных культурах (ТНР-1ВПК). Для этого клетки высевали в количестве 5×10^5 в 100 мкл питательной среды в лунки U-образного 96-луночного планшета и культивировали 5 суток без смены питательной среды, количество клеток в лунке вырастало до 1×10^5 . Все сравнения проводили относительно клеток ТНР-1, которые культивировали в стандартных условиях — в условиях низкой плотности (ТНР-1НПК). Жизнеспособность клеток оценивали после 24 ч инкубации с химиотерапевтическими агентами с помощью резазурина на спектрофлуориметре Infinite F200. Митохондриальный потенциал, внутриклеточную продукцию активных форм кислорода и поверхностную экспрессию маркеров провоспалительной активации определяли методом проточной цитометрии с помощью флуоресцентных зондов DiOC6, DCFDA и антител CD11b-APC, CD11c-FITC и HLA-DR-PE соответственно. Концентрацию лактата, ФНО-альфа, ИЛ-6 и ИЛ-1бета в супернатанте определяли на спектрофотометре iMark. Клеточное дыхание исследовали *in situ* после пермеабиллизации дигитонином в среде с сукцинатом, оценивая базальное, АДФ-зависимое и разобщенное дыхание. Определение содержания мРНК антиапоптотических белков семейств BCL-2 и IAPs проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе QuantStudio 5.

* Исследование выполнено в рамках государственного задания № 075-00223-25-03.

© Е. И. Мещерякова, И. В. Одинокова, М. И. Кобякова, Р. С. Фадеев, 2025

Показано, что обработка клеток ОМЛ ТНР-1 липополисахаридом, зимозаном-А или культивирование в трехмерных высокоплотных культурах приводили к появлению у них маркеров провоспалительной клеточной активации. Выявлено, что в условиях как септической (ТНР-1ЛПС и ТНР-1Z), так и асептической (ТНР-1ВПК) провоспалительной активации у клеток ОМЛ ТНР-1 снижались активность дыхательной цепи митохондрий и митохондриальный потенциал на фоне повышения внутриклеточной продукции активных форм кислорода и содержания лактата в культуральной среде. В то же время только для клеток ТНР-1ВПК и ТНР-1ЛПС, но не ТНР-1Z, было характерно повышение устойчивости к химиотерапевтическим агентам, таким как этопозид, цитарабин и доксорубин, на фоне изменения содержания мРНК антиапоптотических белков семейств BCL-2 и IAPs. В клетках ТНР-1ЛПС существенно увеличивалось содержание *BCL2A1*, *cIAP2* и снижалось содержание *BCL2* и *XIAP*. В клетках ТНР-1ВПК повышалось содержание *BCL2*, *BCL2L1* и *Livin*. В клетках ТНР-1Z достоверных изменений в экспрессии генов семейств BCL-2 и IAP не обнаружено.

Полученные данные свидетельствуют, что формирование лекарственной устойчивости у клеток ОМЛ может зависеть от типа провоспалительной активации и реализовываться за счет разных механизмов. Полученные данные важны для понимания механизмов формирования устойчивости при ОМЛ и разработки новых терапевтических стратегий.