



Влияние 4-метилумбеллиферона на экспрессию цитокинов в условиях нейровоспаления

Факультет биоинженерии и биоинформатики Московский
Государственный Университет им. М.В.Ломоносова

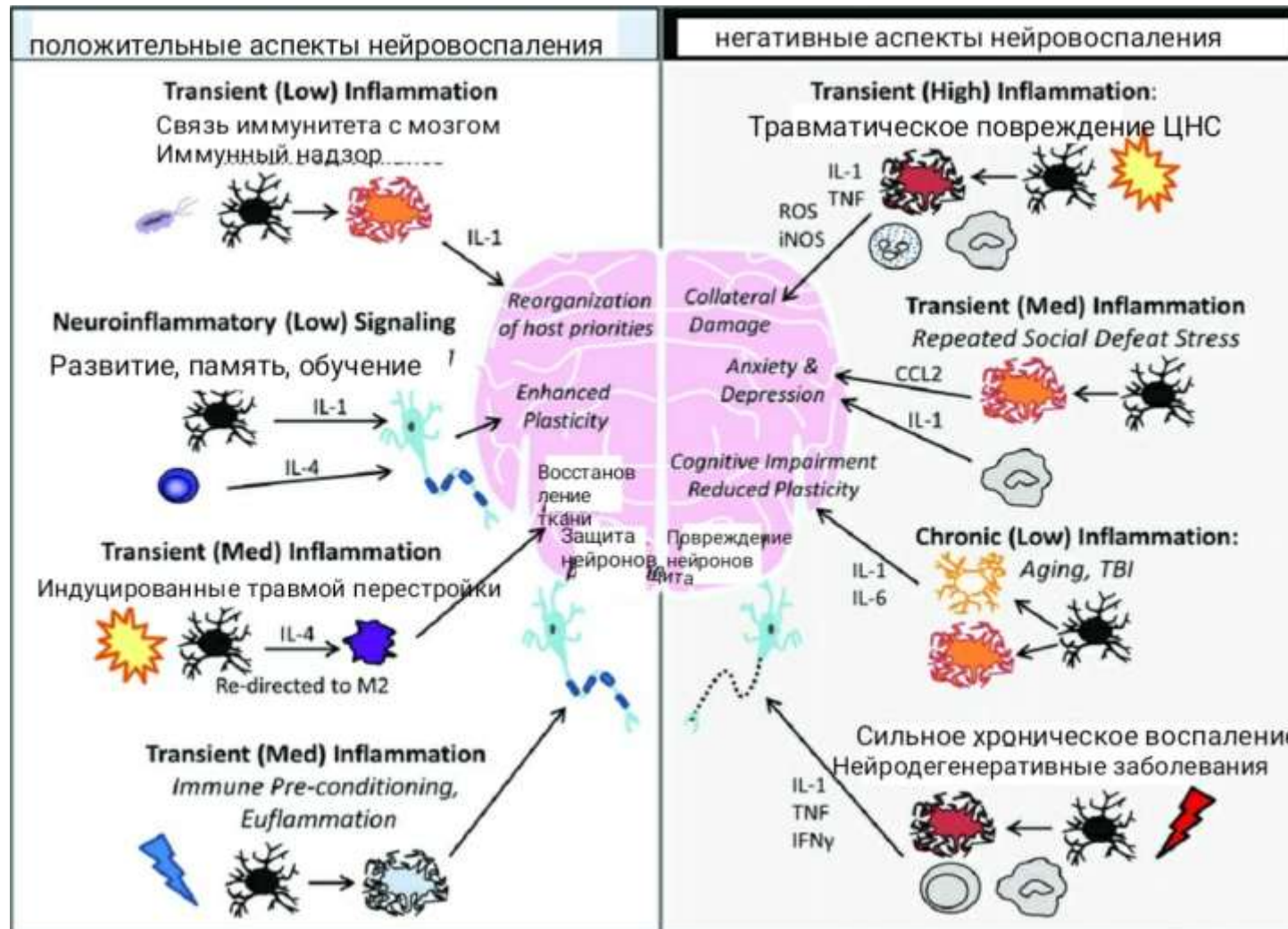
Выполнила: Рожнова Д.А., ученица 10Н класса СУНЦ МГУ

Руководитель: Гавриш Г.Е., студент 3 курса ФББ МГУ

Москва, 2020



Введение

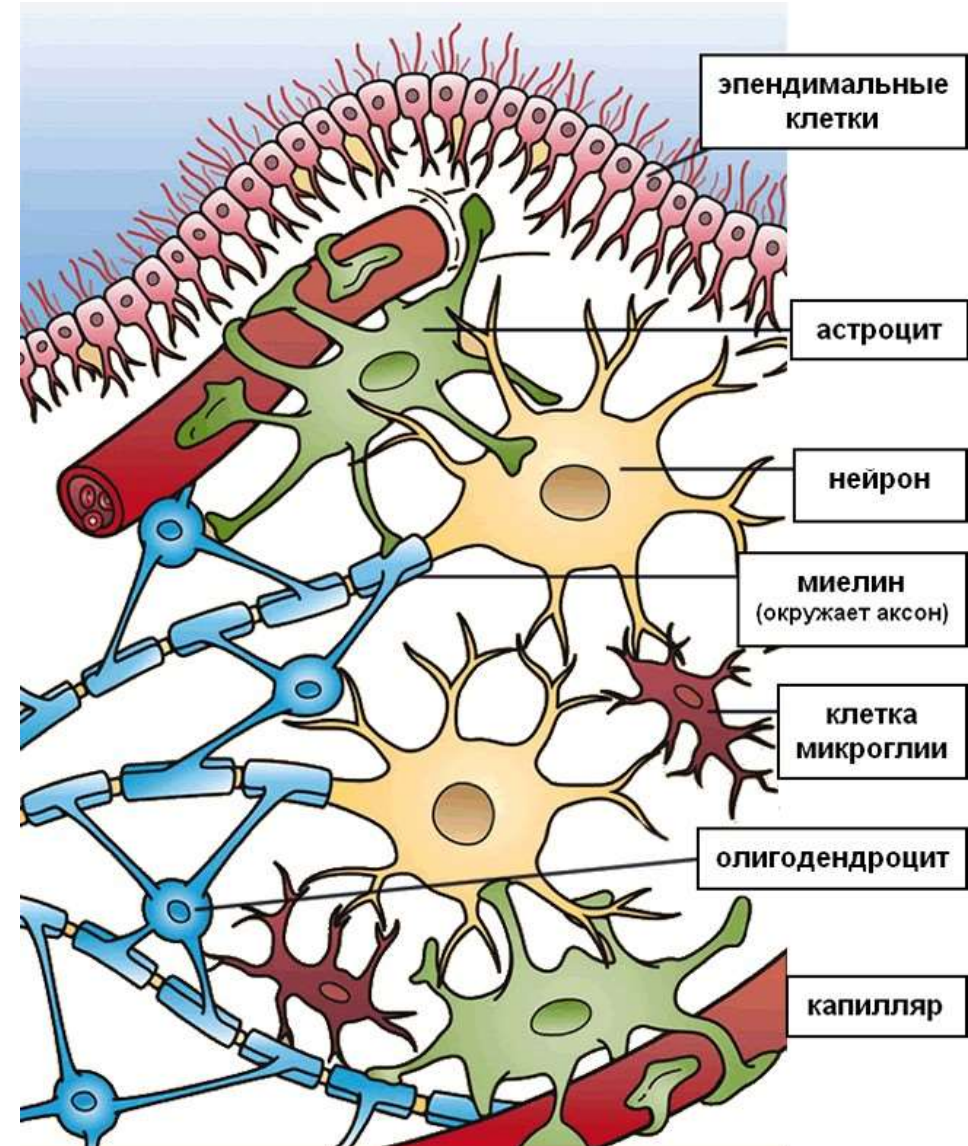




Астроциты и нейровоспаление

При повреждении реактивные астроциты являются основными производителями обильных количеств гиалуроновой кислоты, которые накапливаются в поврежденных областях.

Астроглиоз может играть патологическую роль в различных неврологических заболеваниях.

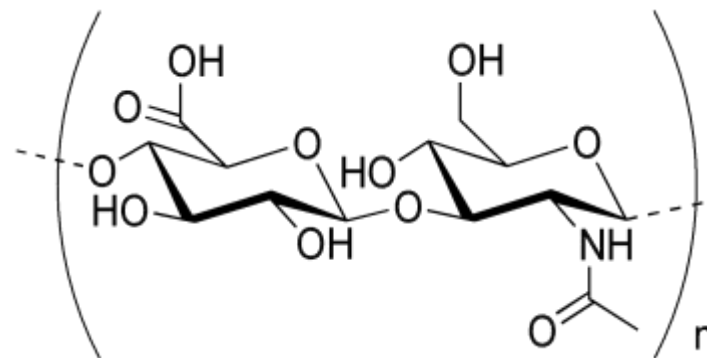




Гиалуроновая кислота

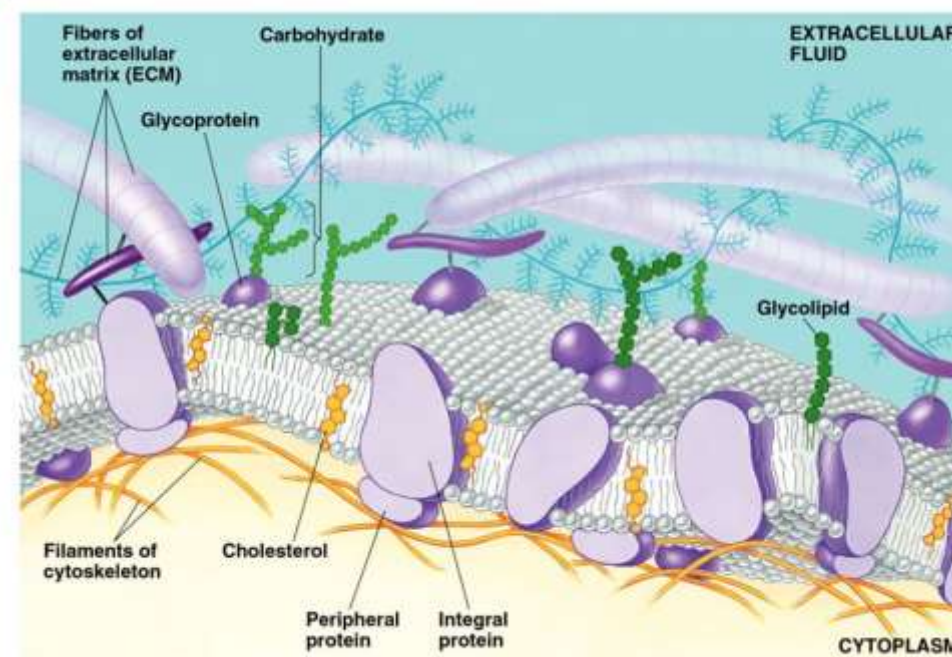
Участвует в ответных реакциях на повреждение и воспаление тканей (в т.ч. регуляция нейровоспаления).

Обнаружена в большом количестве в демиелинизированных очагах при рассеянном склерозе и экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите.



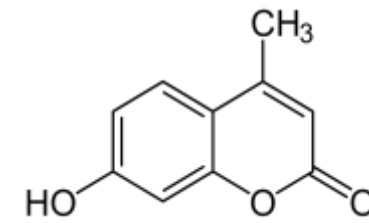
[HTTPS://RU.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/ ГИАЛУРОНОВАЯ_КИСЛОТА](https://ru.wikipedia.org/wiki/Гиалуроно́вая_кислота)

Figure 8.6 The detailed structure of an animal cell's plasma membrane, in cross section



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

4-метилумбеллиферон (4-му)

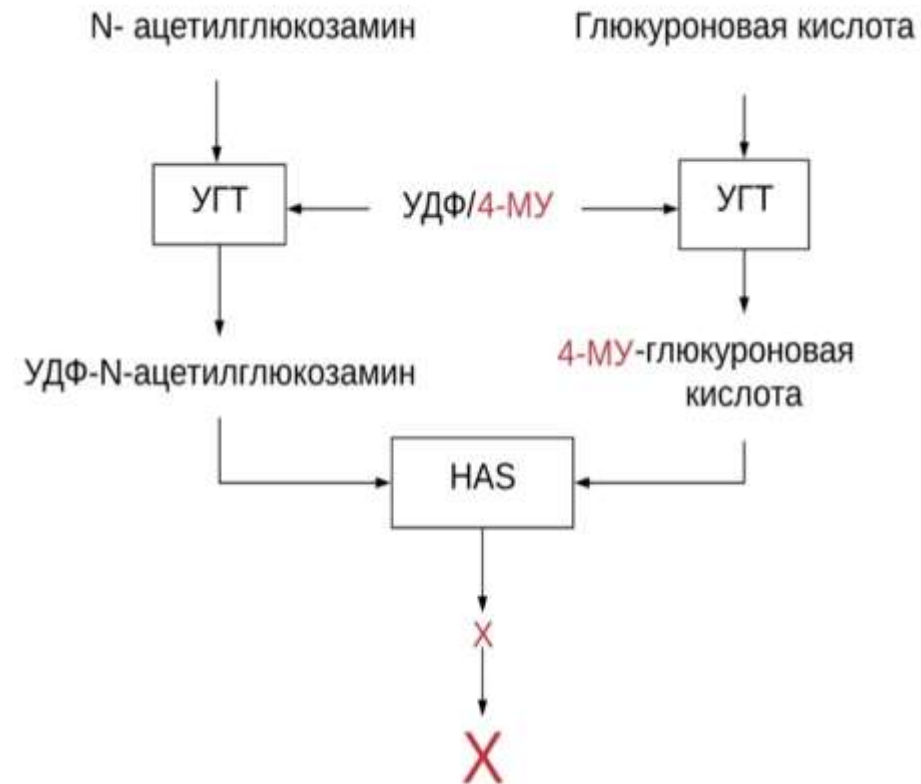


[HTTPS://DOI.ORG/10.3389/FIMMU.2015.00123](https://doi.org/10.3389/FIMMU.2015.00123)



5

- Ограничивает астроглиоз *in vitro* и *in vivo*
- Функционирует в качестве *конкурентного субстрата* для уридиндифосфат-глюкуронизилтрансферазы (УГТ), фермента, участвующего в синтезе ГК. Он связывается с глюкуроновой кислотой, концентрация UDP-GlcUA снижается в цитозоле и синтез ГК снижается.





Цель: определить влияние 4-метилумбеллиферона на экспрессию цитокинов в условиях нейровоспаления.

Задачи:

- 1) Изучить свойства гиалуроновой кислоты и 4-му, механизм ингибирования синтеза ГК с помощью 4-му
- 2) Измерить уровень экспрессии цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α в контрольной культуре астроцитов
- 3) Измерить уровень экспрессии цитокинов в астроцитах, обработанных 4-му
- 4) Измерить уровень экспрессии цитокинов в астроцитах, обработанных липополисахаридом (ЛПС)
- 5) Измерить уровень экспрессии цитокинов в астроцитах, обработанных ЛПС и 4-му



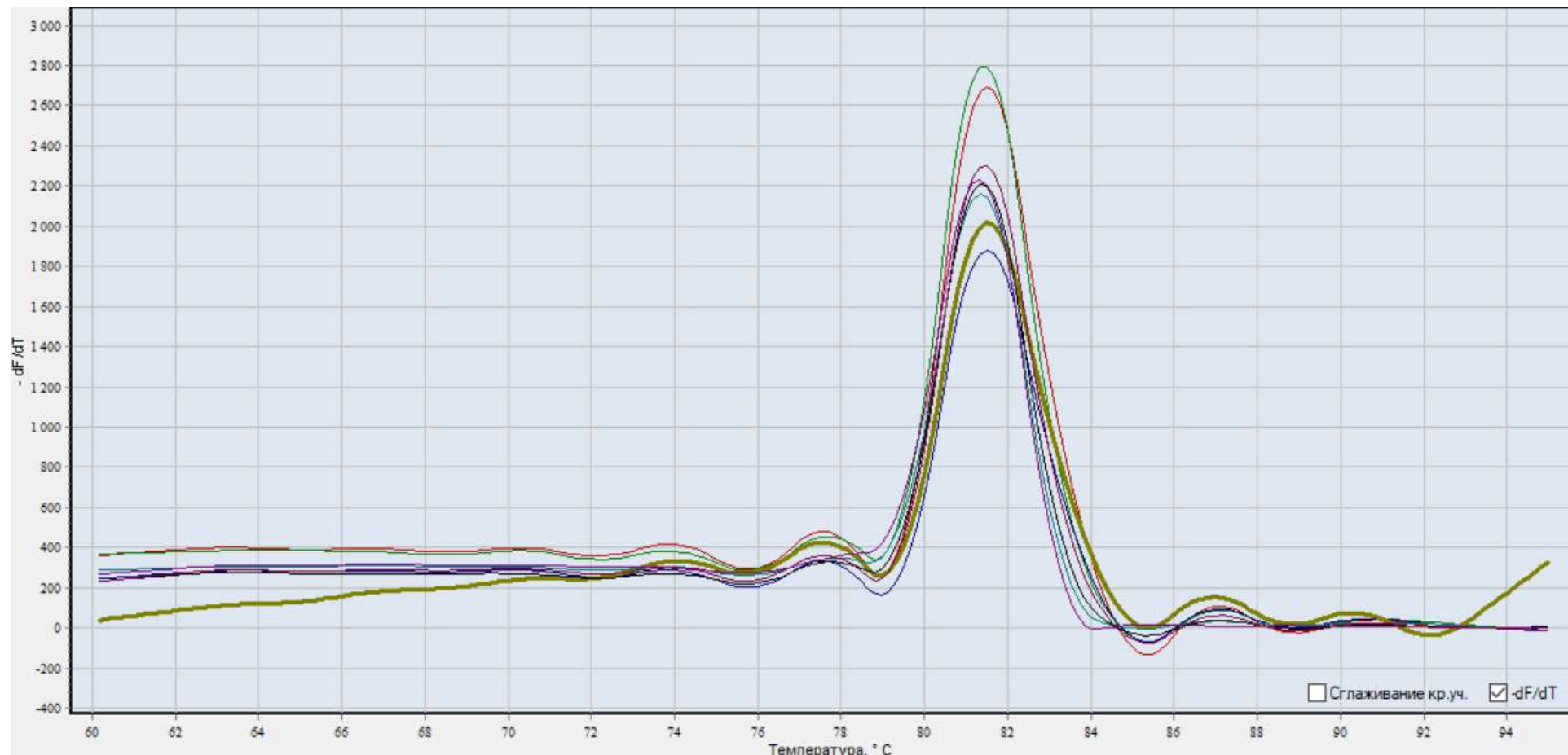
Материалы и методы

Для измерения уровня экспрессии мРНК генов IL-1 β , IL-6, TNF- α мы использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с обратной транскрипцией и ПЦР в реальном времени, данные были нормализованы до уровней мРНК β -актина.

Схема эксперимента:

1. Получение культуры первичных астроцитов
2. Приливание веществ (ЛПС, 4-му, ЛПС + 4-му)
3. Сбор РНК
4. Анализ концентрации РНК
5. Обратная транскрипция
6. Количественная ПЦР
7. Анализ экспрессии
8. Анализ кривых плавления

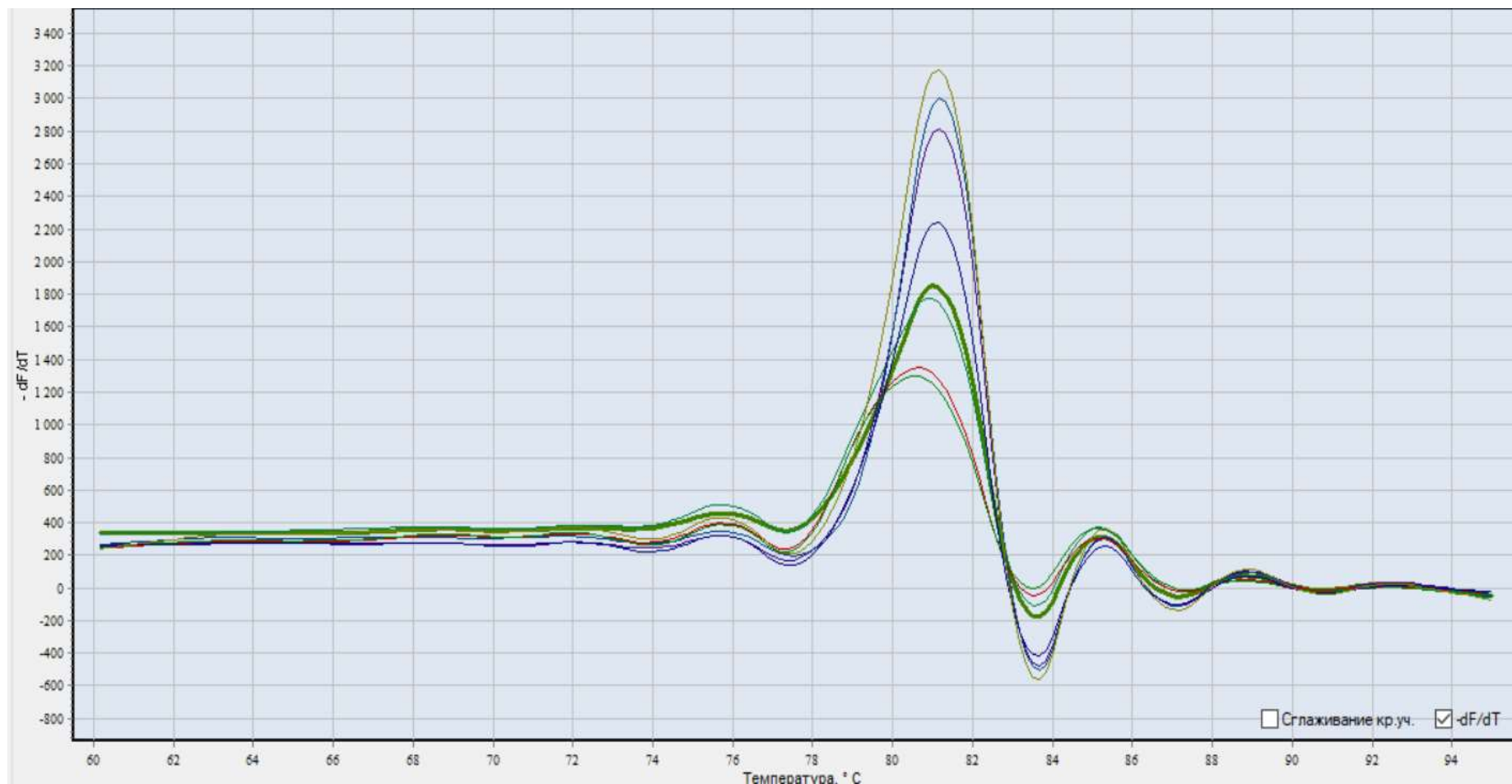
Анализ кривых плавления



Кривые плавления IL-1 β



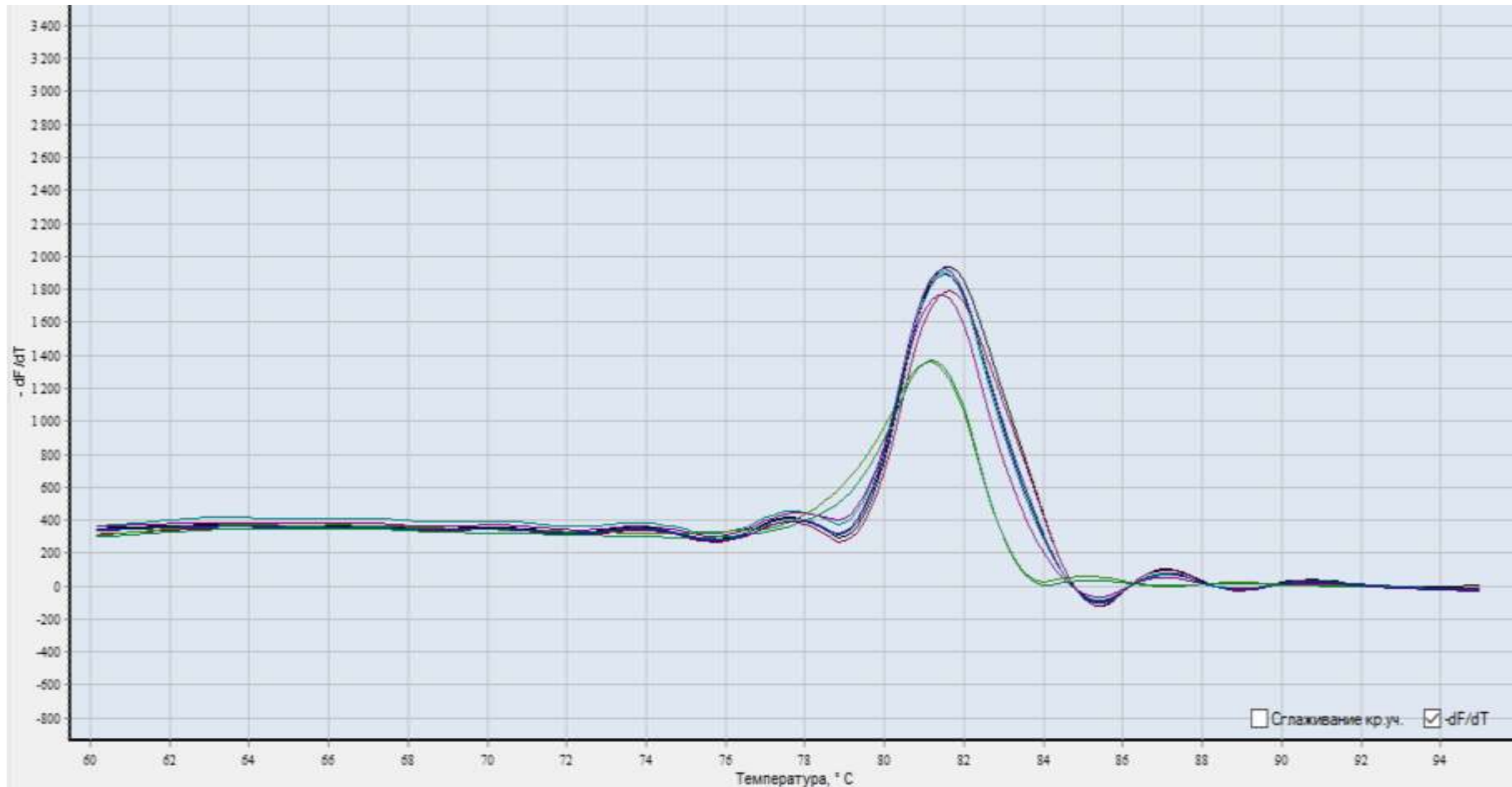
Анализ кривых плавления



Кривые плавления IL-6



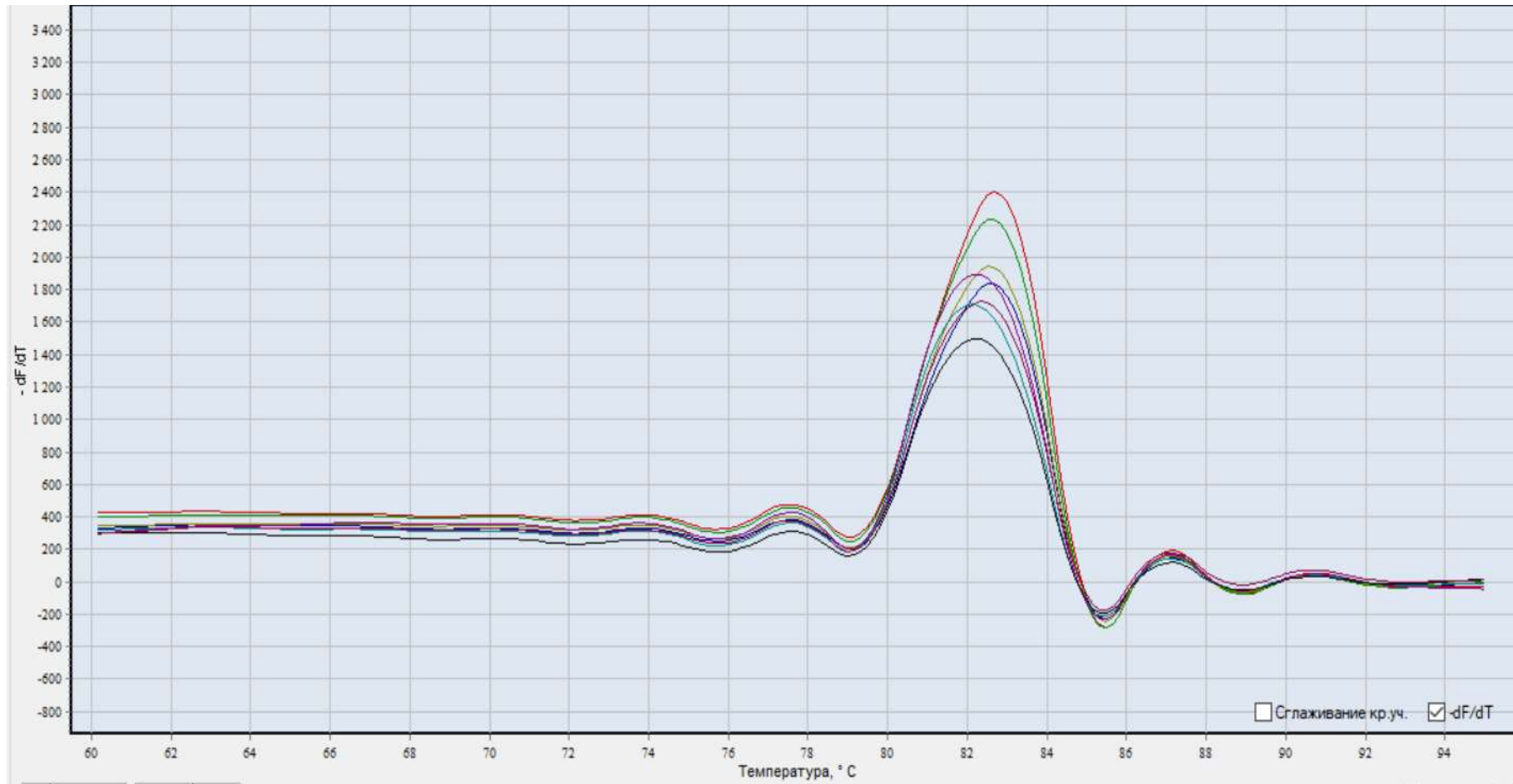
Анализ кривых плавления



Кривые плавления TNF- α



Анализ кривых плавления



Кривые плавления β -актина

Результаты

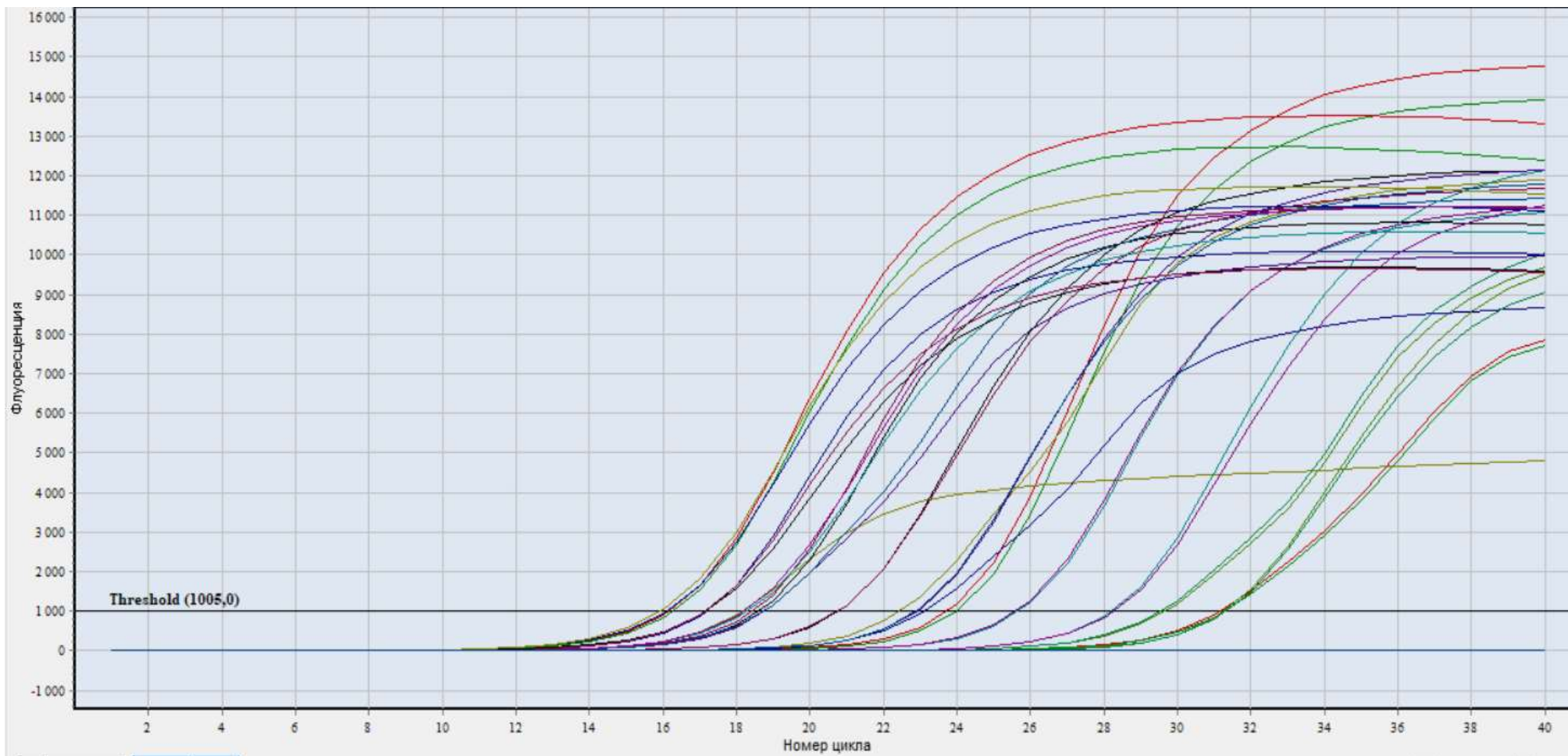
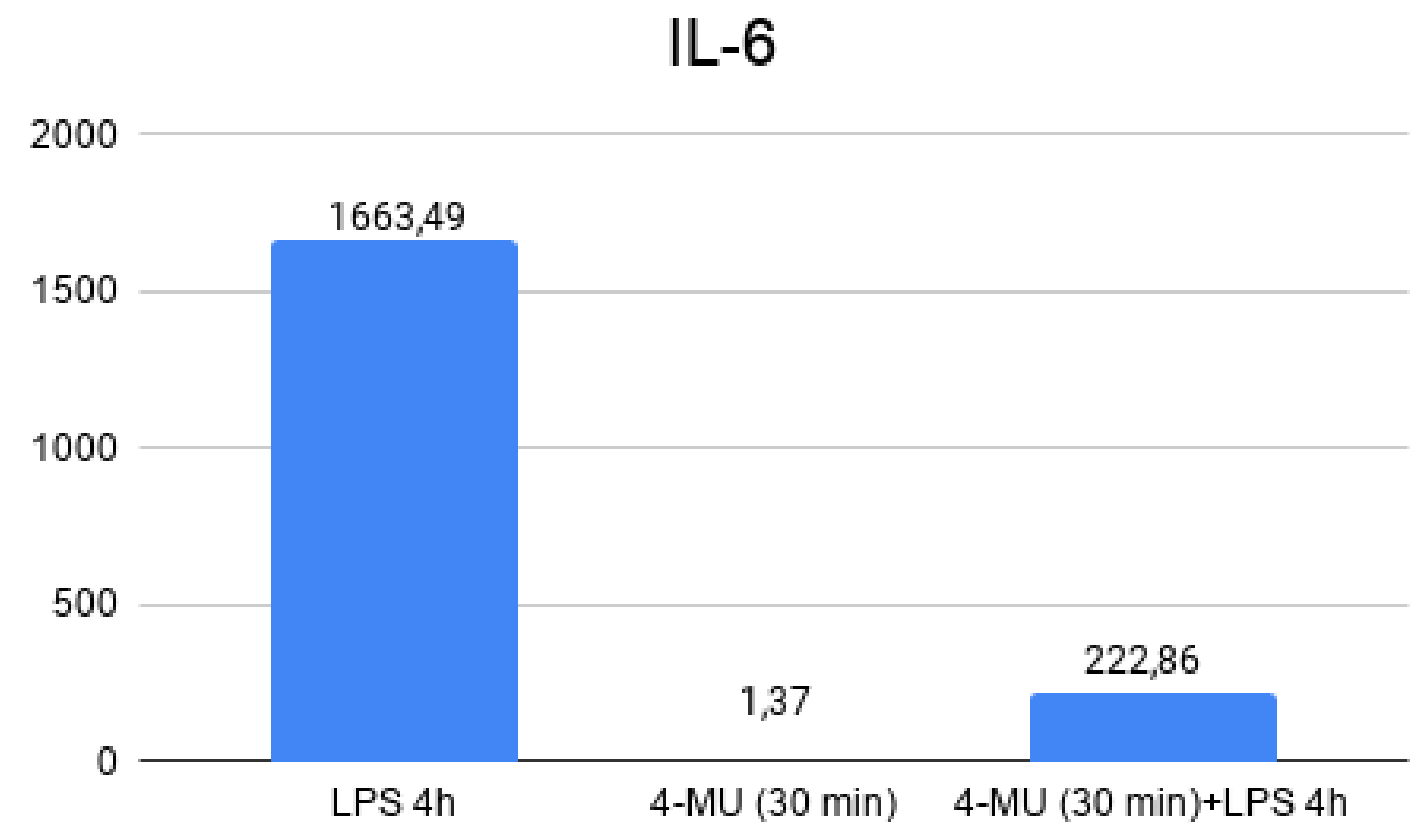


График количественной ПЦР

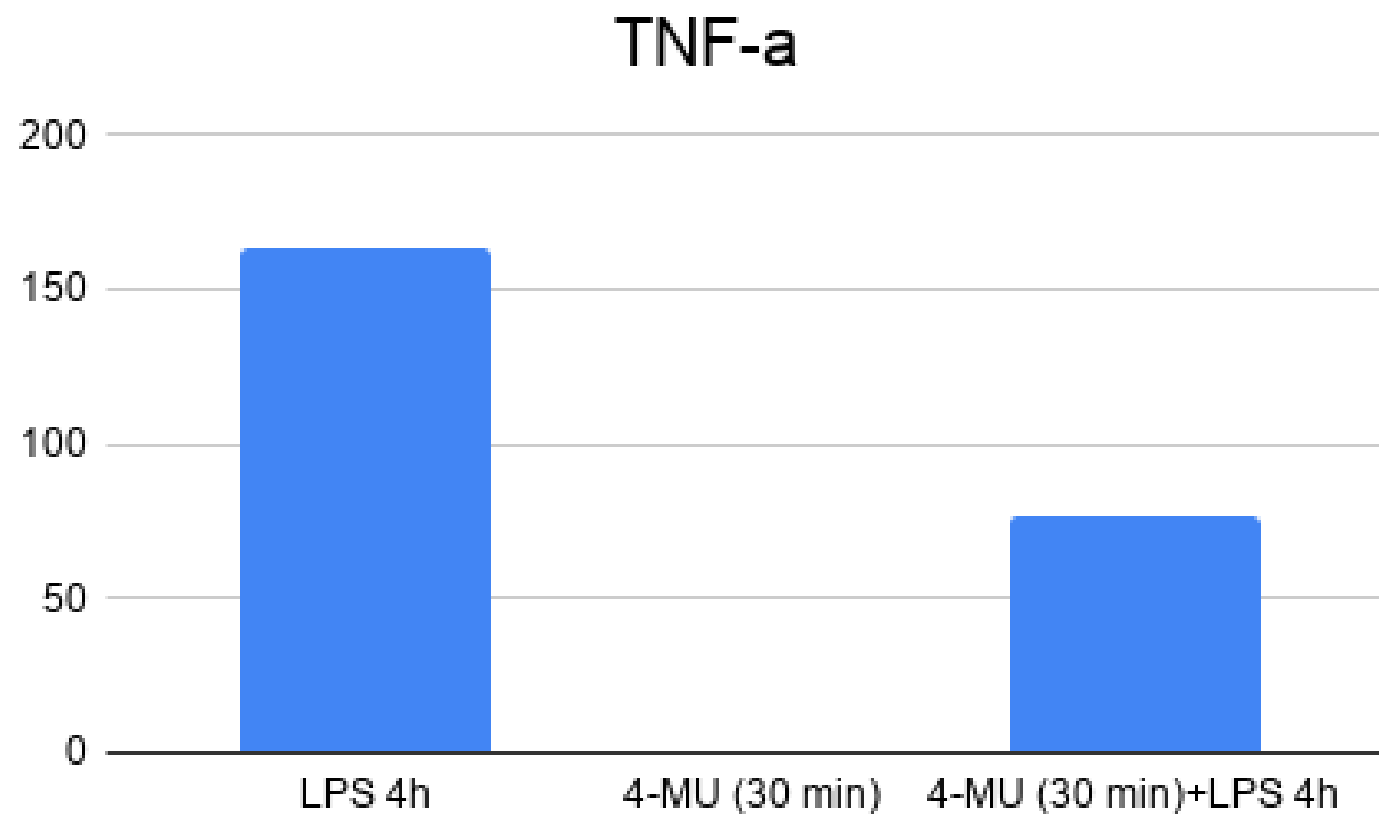
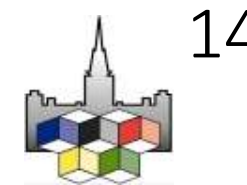


Результаты



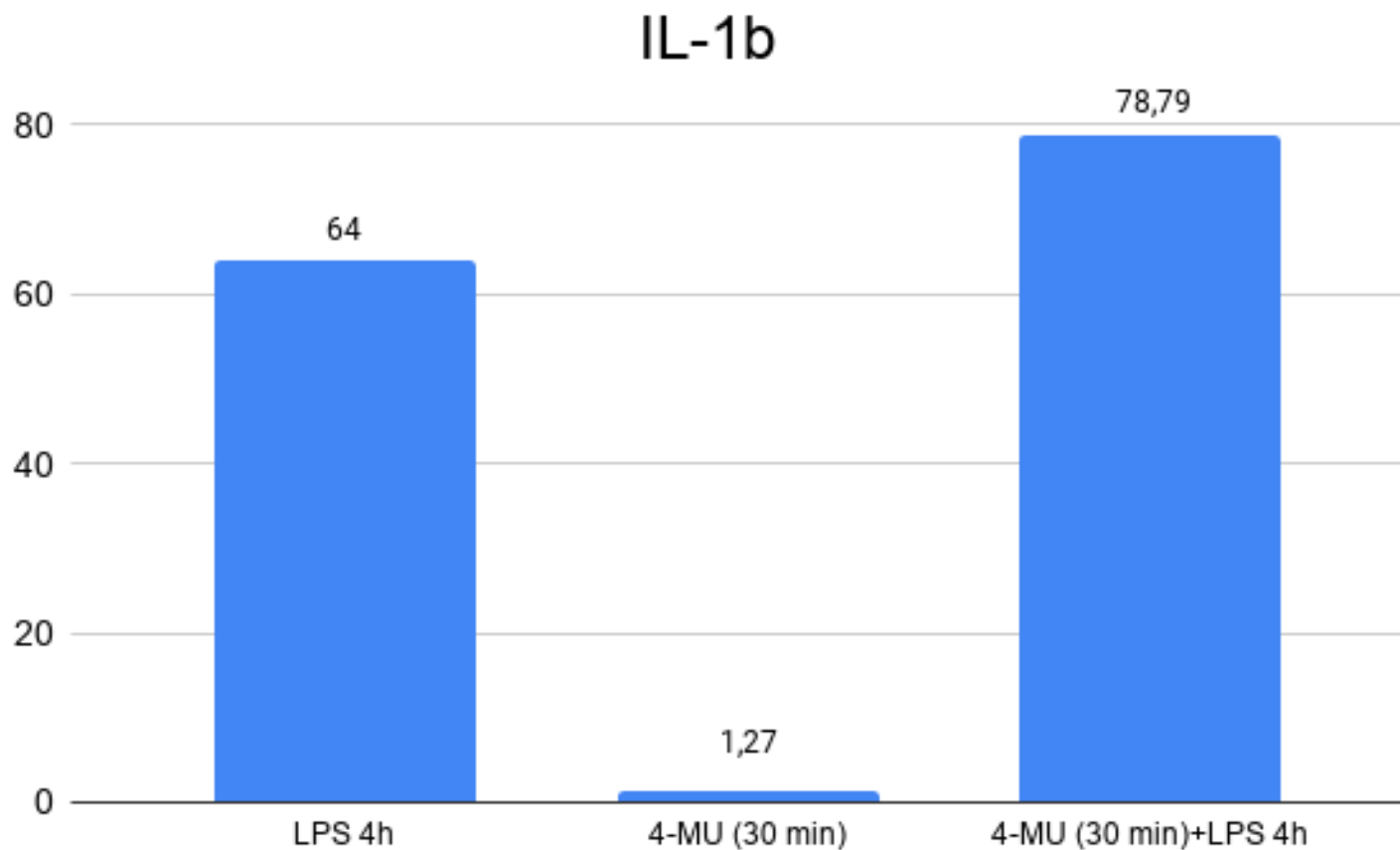
Относительный уровень экспрессии гена IL-6 при обработке клеток LPS, 4-MU, LPS+4-MU

Результаты



Относительный уровень экспрессии гена TNF- α при обработке клеток LPS, 4-MU, LPS+4-MU

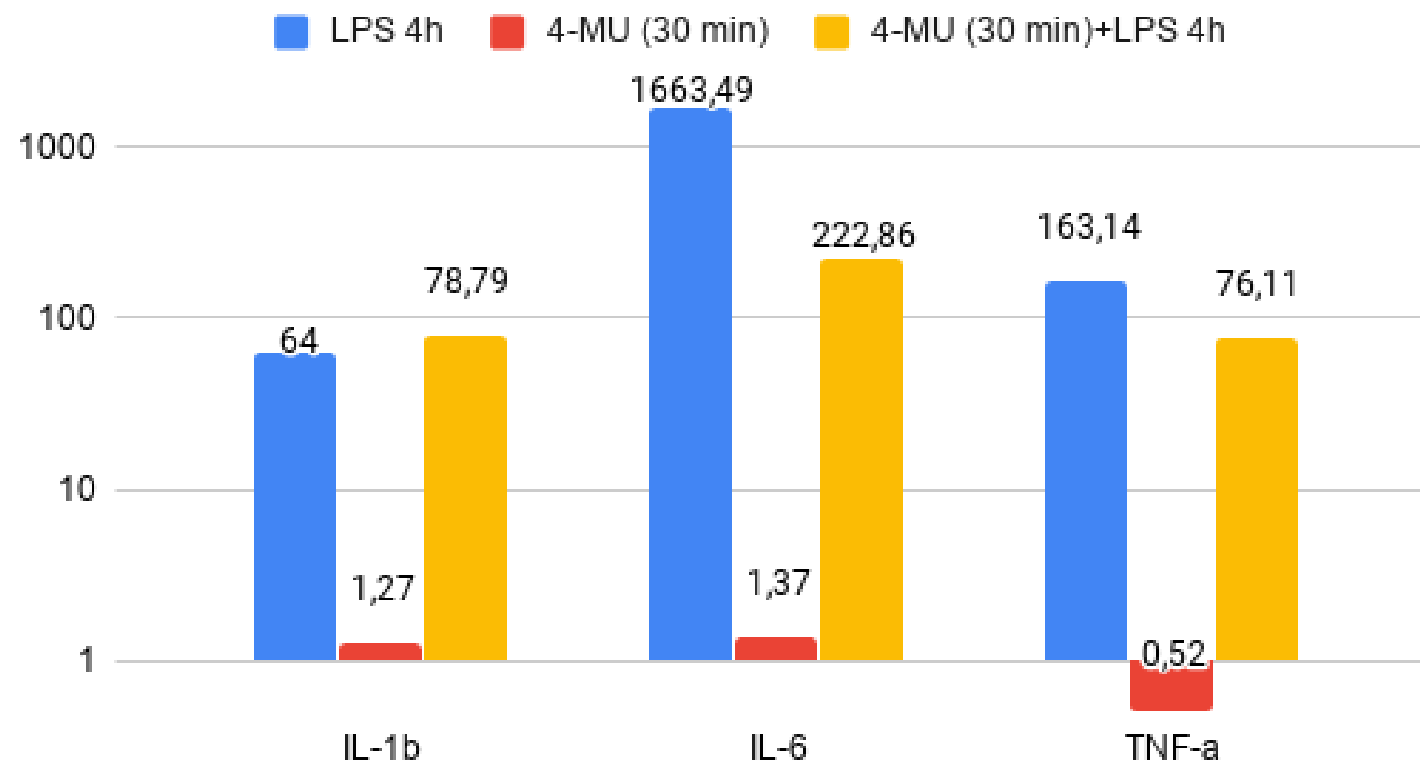
Результаты



Относительный уровень экспрессии гена IL-1 β при обработке клеток LPS, 4-MU, LPS+4-MU

Результаты

Относительный уровень экспрессии генов



4-му немного увеличивает экспрессию IL-1 β (с 64 до 78,79 раз), значительно снижает экспрессию IL-6 и TNF- α (с 1663,49 до 222,86 и с 163,14 до 76,11 соответственно)

Выводы

- 4-му по-разному влияет на экспрессию различных провоспалительных цитокинов, в зависимости от конкретного гена - значительно снижает экспрессию IL-6 (с 1663,49 до 222,86 раз) и TNF- α (163,14 до 76,11 раз), немного увеличивает экспрессию IL-1 β (с 64 до 78,79 раз).
- Нельзя однозначно сказать о влиянии данного вещества на экспрессию цитокинов в условиях нейровоспаления, что требует дальнейших исследований.

Спасибо за внимание!

