

Santrauka

Živilė Balčiūnaitė

Streso baltymo iHsp70 vaidmuo didinant triušio raumens kamieninių ląstelių atsparumą

Įvairios širdies ligos, kurių metu vyksta kardiomiocitų žuvimas, yra viena iš pagrindinių mirtingumo priežasčių visame pasaulyje. Regeneracinė ląstelių terapija, naudojant pirmines raumeninės kilmės ląsteles širdies ligų gydyme, sulaukia vis didesnio dėmesio. Dėl įvairių patologinių procesų, vykstančių pažeistame audinyje, didelė dalis transplantuotų ląstelių žūva. Todėl viskas, kas gali padėti transplantuotiems mioblastams išgyventi ir geriau prigyti, verta nuodugnesnių tyrimų.

Šiame darbe buvo tirtas streso baltymo Hsp70 vaidmuo suaugusio triušio raumens kamieninių ląstelių įvairių viduląstelinė sistemų, atsakingų už ląstelių žuvimą ar išgyvenimą, reguliacijoje. Suaugusio triušio raumens kamieninės ląstelės buvo transfekuotos plazmide, turinčia *hsp70* geną. Transfekuotų ląstelių padidėjusio atsparumo toksiniams poveikiams veikimo mechanizmai tirti lyginant jas su paprastomis kamieninėmis miogeninėmis ląstelėmis.

Gauti rezultatai parodė, kad padidėjusi Hsp70 baltymo raiška apsaugo triušio raumens kamienines ląsteles nuo apoptozinio žuvimo po poveikio cheminėmis medžiagomis (naftazarinu, vandenilio peroksidu ir natrio prusidu) generuojančiomis reaktyviu deguonies darinius (ROS) ir sukeliančiomis oksidacinį stresą. Padidintas Hsp70 baltymo kiekis po poveikio oksidacinį stresą indukuojančiomis medžiagomis keičia mitogenais aktyvinamos kinazės ERK 1,2, streso kinazės JNK trumpalaikį/pro-apoptozinį veikimą paprastose pirminėse miogeninėse ląstelėse į ilgalaikį/ani-apoptozinį veikimą transfekuotose ląstelėse ir patikimai mažina bendrą streso kinazės JNK kiekį. Transfekuotose ląstelėse taip pat stebimas ilgalaikis apsauginis transkripcijos faktoriaus c-Jun aktyvinimas po poveikio ROS sudarančiomis medžiagomis.

Hsp 70 baltymas taip pat dalyvauja ir apoptozės vidinio kelio slopinime, t.y. stabilizuoja mitochondrijų vidinės membranos potencialą ir pro-apoptozinį baltymą Bax, o taip pat slopina apoptozėje dalyvaujančios iniciatorinės kaspazės-9 ir vykdančiosios kaspazės-3 aktyvinimą. Hsp70 baltymas taip pat dalyvauja ir slopinant nespecifinį reaktyvių deguonies darinių sukeltą apoptozės iniciatorinės kaspazės-8 aktyvimą.

Oksidacinio streso sukeltų viduląstelių apotozinių pokyčių tyrimas ir Hsp70 vaidmuo jame būtų nepilnas, jei nepaminėtume viduląstelių antioksidacinių molekulių ir fermentų vaidmens. Padidintas Hsp70 baltymas kamieninėse suaugusio raumens ląstelėse stimuliuoja bendro ir redukuoto gliutationo kiekį ir gliutatuono -S-transferazės, katalazės ir superoksido dismutazės aktyvumą.

Apibendrinant galima pasakyti, kad pastoviai padidintas visuląstelinio Hsp70 baltymo kiekis apsaugo suaugusio raumens kamienines miogenines ląsteles nuo įvairių toksinių poveikių ir yra naujas ir pažangus būdas, leidžiantis pagerinti sėkmingą pirminių miogeninių ląstelių naudojimą įvairių ligų gydymui regeneracinės transplantacijos būdu.

Summary

Živilė Balčiūnaitė

Role of stress protein iHsp70 in the resistance of rabbit muscle-derived stem cells

Various heart diseases concomited with the death of cardiomyocytes is one of the major causes of death-rate. Regenerative stem cell therapy of damaged heart applying muscle-derived stem cells attains more and more attention. Pathological environment in the damaged heart is major cause of death of newly transplanted muscle-derived stem cells. Therefore, everything increasing survival of transplanted myogenic cells is of research interest.

This work has been designed to investigate role of stress protein Hsp70 in the regulation of intracellular systems responsible for the death or survival of primary myogenic cells. Rabbit muscle-derived stem cells were transfected with the plasmid carrying *hsp70* gene. Various intracellular mechanisms responsible for the resistance of transfected cells have been investigated and compared with the regular non transfected primary myogenic cells.

Our results show that Hsp70 protein protects rabbit muscle-derived stem cells from the toxic effect of compounds (naftazarin, hydrogen peroxide and sodium pruside) generating reactive oxygen species (ROS) and causing oxidative stress. Increased amount of intracellular Hsp70 protein converts transient/proapoptotic mode of action of ERK1,2 and JNK in regular primary myogenic cells to sustained/antiapoptotic action in transfected cells and significantly decreased total amount of JNK after the treatment with naftazatin. Transfected cells also showed sustained/anti-apoptotic mode of activation of transcription factor c-Jun.

Hsp70 protein participates in the suppression of internal apoptotic pathway by stabilising potential of inner mitochondrial membrane and pro-apoptotic protein Bax and suppressing an activation of initiating caspase-9 and executing caspase-3. Moreover, Hsp70 protein participates in the inhibition of unspecific activation of extrinsic apoptotic pathway and of caspase-8.

The study of intracellular changes, caused by the oxidative stress would not be complete if we would not mention the role of antioxidant molecules and enzymes. Increased amount of

intracellular protein Hsp70 increased amount of total and reduced glutathione and activated glutathione S-transferase, catalase and superoxide dismutase.

In summary we can conclude that constant overexpression of intracellular protein Hsp70 protects muscle-derived stem cells from the various toxic influences and is new and most progressive way of successful usage of primary myogenic cells in treatment of various diseases with regenerating stem cells transplantation.