

## **Физиологическая реакция на стресс клеток нейробластомы человека SHSY-5Y в сравнении с эндотелиальными клетками человека EA.Hy 926 в условиях моделируемой микрогравитации**

**Сергеева Е.А., Соколовская А.А.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

## **Physiological response to stress of human neuroblastoma cells SHSY-5Y in comparison with human endothelial cells EA.Hy 926 in simulated microgravity**

**Sergeeva E.A., Sokolovskaya A.A.**

Institute of General Pathology and Pathophysiology,  
Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Космический полет оказывает стресс не только на организм в целом, но и способен вызывать изменения на клеточном уровне [1]. Наиболее очевидные клеточные изменения, происходящие после воздействия микрогравитации – это изменения формы, размера, и объема клеток [2, 3]. Моделирование условий микрогравитации позволяет исследовать различные клеточные функции, такие как дифференцировка клеток, клеточный цикл и апоптоз, пролиферация, экспрессия белков внеклеточного матрикса и метаболизм клеток [4, 5]. Несмотря на успехи в изучении биологических эффектов микрогравитации на клетки, некоторые вопросы до сих пор остаются малоизученными.

**Целью** работы было исследование ответа клеток на стресс в условиях моделируемой микрогравитации.

**Материалы и методы.** В работе были использованы - клеточная линия нейробластомы человека SHSY-5Y – (ATCC, США) и эндотелиальные клетки (ЭК) человека EA.Hy926 (Университет Северной Каролины, США). Моделирование эффектов проводили при помощи машины случайного позиционирования – Random Positioning Machine (RPM) (Dutch Space, Компания Astrium EADS, Лейден, Нидерланды). RPM размещали в специально отведенном для клиноста-та CO<sub>2</sub>-инкубаторе («Sanuo», Япония) при температуре 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Заполненные культурами планшеты OptiCell фиксировали на платформе прибора Desktop RPM как можно ближе к центру. Скорость вращения RPM платформы во всех экспериментах была 60°/с. Жизнеспособность клеток оценивали методом исключения красителя (трипановый синий). Процедуру окрашивания клеток буфером PI/RNase проводили по протоколу коммерческого набора (BD Biosciences, США). Сбор данных и анализ проводили на цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Сбор

данных для ДНК анализа клеточного цикла проводили в программе CELLQuest. Для морфологического анализа клетки фиксировали добавлением 100% метанола и окрашивали раствором Романовского-Гимза. Морфологические изменения образцов просматривали с помощью микроскопа Olympus, BX 50 (Olympus, Япония) и программы анализа изображений. Достоверность различий средних значений устанавливали с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между группами считались достоверными при значении  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Проведенные нами исследования клеточного цикла с помощью метода проточной цитофлуориметрии показали, что процент клеток нейробластомы человека SHSY-5Y в клеточном цикле в G0/G1 фазе изменялся незначительно через 24 и 96 ч микрогравитации. Однако после 120 ч моделированной микрогравитации, процент клеток SHSY-5Y увеличился в G0/G1 фазе и снижался в S-фазе по сравнению с контрольной группой. Напротив, процент выживших клеток EA.Hy 926 в G0/G1 фазе через 24 и 96 ч клеток в условиях микрогравитации был значительно увеличен по сравнению с контрольной группой, однако, после 120 ч моделированной микрогравитации, разница была незначительной. Наши данные предполагают, что микрогравитация ингибирует прогрессию клеточного цикла в клетках EA.Hy926 от фазы G0/G1 к S фазе на более ранних сроках экспозиции, по сравнению с воздействием на клетки нейробластомы SHSY-5Y.

Процент выживаемости как клеток нейробластомы человека SHSY-5Y, так и эндотелиальных клеток EA.Hy 926 в условиях моделированной микрогравитации существенно не отличался, по сравнению с контролем в статическом положении и оставался на уровне 90%.

Проведенные нами морфологические исследования показали характерное появление открепленных клеток от поверхности планшет OptiCell через 24 ч в условиях моделированной микрогравитации для обеих клеточных линий и SHSY-5Y. Через 72 ч большинство выживших EA.Ну926 клеток собирались в трехмерные трубчатые структуры, тогда как, образование похожих структур для клеток SHSY-5Y было отмечено через 120 ч.

**Заключение.** Таким образом, результаты наших экспериментов по исследованию эффектов микрогравитации на двух клеточных культурах показали, что, клетки линии нейробластомы человека SHSY-5Y оказались более устойчивы к стрессу по сравнению с клетками эндотелиальной линии человека EA.Ну926. Полученные данные доказывают, что неблагоприятные эффекты, оказываемые микрогравитацией, вызывают различное влияние на клетки нейробластомы человека SHSY-5Y и эндотелиальные клетки человека EA.Ну 926. Накопленные знания помогут расширить наши знания о биологических механизмах, лежащих в основе клеточной физиологии и патофизиологии человека.

## Список литературы

1. Bradbury P., Wu H., Choi J.U., Rowan A.E., Zhang H., Poole K., Lauko J., Chou J. Modeling the Impact of Microgravity at the Cellular Level: Implications for Human Disease. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020; 8:96. DOI: 10.3389/fcell.2020.00096
2. Krüger M., Pietsch J., Bauer J., Kopp S., Carvalho D.T.O., Baatout S., Moreels M., Melnik, D., Wehland M., Egli M., Jayashree S., Kobberø S.D., Corydon T.J., Nebuloni S., Gass S., Evert M., Infanger M., Grimm D. Growth of Endothelial Cells in Space and in Simulated Microgravity - a Comparison on the Secretory Level. *Cell. Physiol. Biochem.* 2019;52(5): 1039–1060. DOI: 10.33594/000000071
3. Thiel C.S., Tauber S., Lauber B., Polzer J., Seebacher C., Uhl R., Neelam S., Zhang Y., Levine H., Ullrich O. Rapid Morphological and Cytoskeletal Response to Microgravity in Human Primary Macrophages. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(10): 2402. DOI: 10.3390/ijms20102402
4. Riwaldt S., Monici M., Graver P.A., Birk J. U., Evert K., Pantalone D., Utpatel K., Evert M., Wehland M., Krüger M., Kopp S., Frandsen S., Corydon T., Sahana J., Bauer J., Lützenberg R., Infanger M., Grimm D. Preparation of A Spaceflight: Apoptosis Search in Sutured Wound Healing Models. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(12): 2604. DOI: 10.3390/ijms18122604
5. Prasad B., Grimm D., Strauch S.M., Erzinger G.S., Corydon T.J., Lebert M., Magnusson N.E., Infanger M., Richter P., Krüger M. Influence of Microgravity on Apoptosis in Cells, Tissues, and Other Systems In Vivo and In Vitro. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(24): 9373. DOI: 10.3390/ijms21249373