

# ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ ОБЛУЧЕНИЯ НА СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОБЛУЧЕННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РАДИОТЕРАПИИ

Выполнила: студентка 4 курса МБФ  
Колесникова Варвара

Москва 2018

# Актуальность

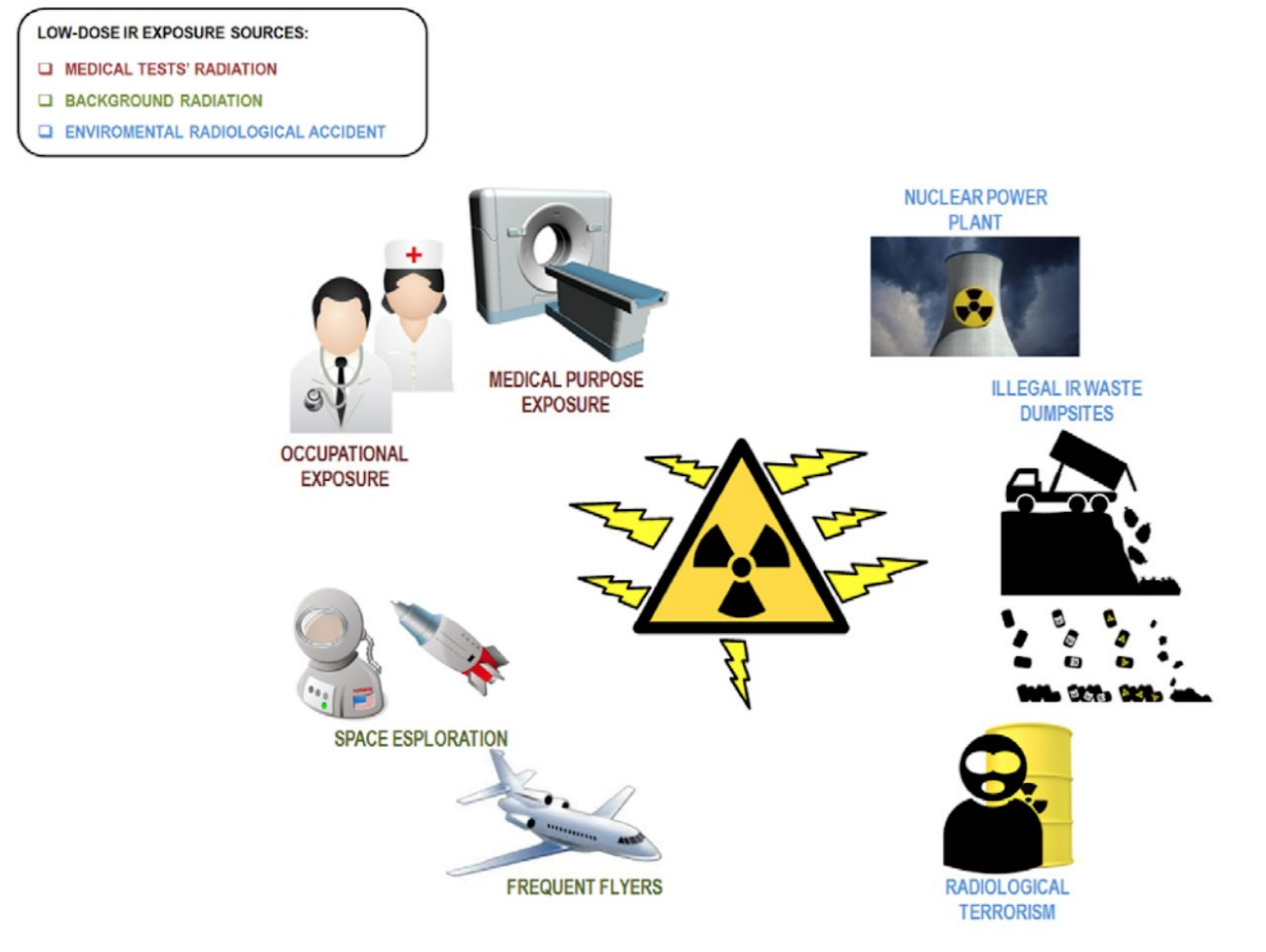
- На данный момент стремительно и продуктивно развивается направление регенеративной медицины. Основанная на применении стволовых клеток технология направлена на восстановление и обновление поврежденных тканей и органов человека.
- В то же время считается, что активное применение в медицине диагностики, основанной на ионизирующем излучении (компьютерной томографии, маммографии или рентгена), потенциально способствует образованию и накоплению повреждений в стволовых клетках и их последующей передаче клеточным потомкам, что влечет за собой гибель клеток, их преждевременное старение, а также онкотрансформацию.

# Влияние ионизирующего излучения с низкой дозой на биологию стволовых

## клеток

- Воздействие высоких уровней ионизирующего излучения отрицательно влияет на здоровье, но менее известно о воздействии ионизирующей радиации с низкой дозой. Полученные в последнее время данные свидетельствуют о том, что она может оказывать серьезное влияние на клеточные функции.

Figure 1. Sources of low dose irradiation.



# Отрицательные эффекты LDIR

- Стволовые клетки могут накапливать генотоксический ущерб, полученный от внешней низкодозовой ионизирующей радиации (LDIR), и в совокупности эти повреждения могут серьезно влиять на функционирование клеток.
- Эпидемиологические данные для человеческой популяции показали, что воздействие ионизирующей радиации при дозах выше 0,05-0,1 Гр (длительное воздействие) или 0,01-0,05 Гр (острая экспозиция) увеличивает риск некоторых видов рака.
- LDIR также может вызывать эффекты «свидетеля».

# Положительные эффекты LDIR

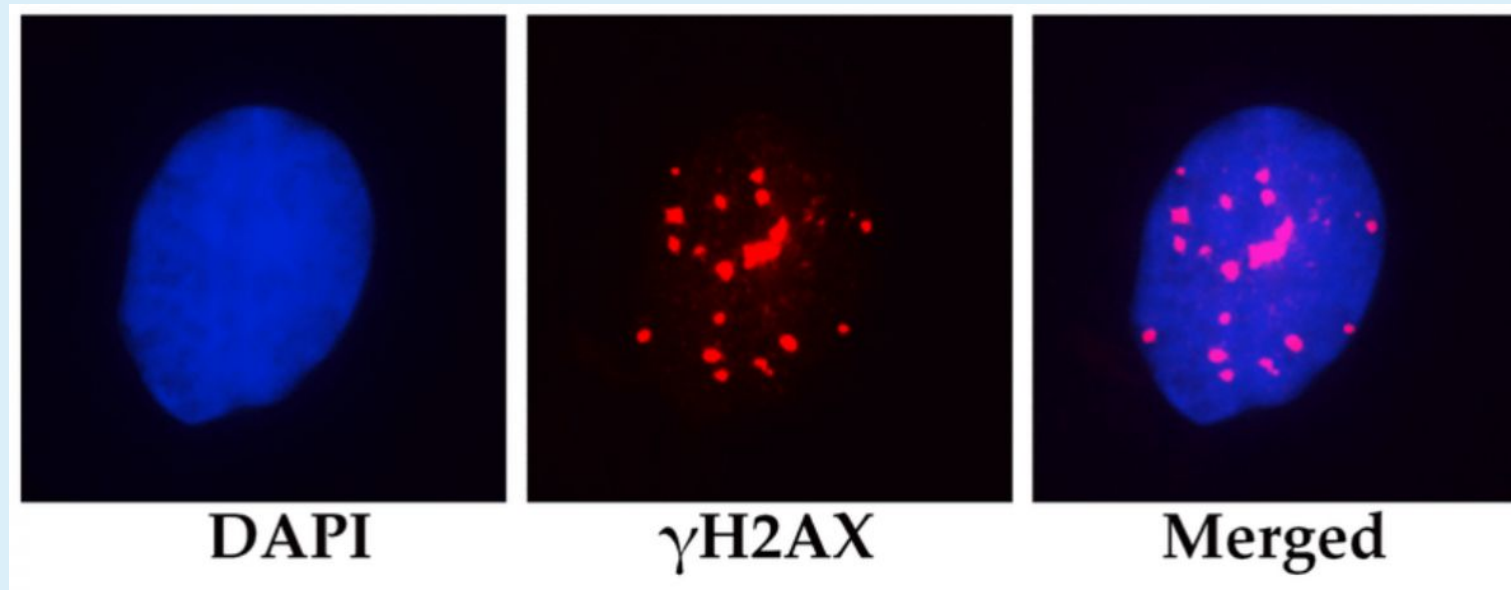
- LDIR может индуцировать благоприятные эффекты, такие как гормезис и адаптивные ответы.
- Имеются экспериментальные данные о том, что LDIR вызывает защитные реакции:
  - детоксикация активных форм кислорода (ROS)
  - высокоточная репарация ДНК-повреждений
  - защита от спонтанной мутации, возникающей *in vivo*
  - защита от спонтанного возникновения неопластических превращений *in vitro*

# Влияние остаточных $\gamma$ H2AX-фокусов на ускоренное старение в потомстве облученных клеток

- Среди повреждений ДНК, вызываемых ионизирующим излучением, именно двойные разрывы являются наиболее критичными для дальнейшей судьбы клетки.
- Двойные разрывы, не устраненные в ходе репарации, приводят к серьезным цитогенетическим нарушениям, инактивации подавляющих опухоли генов или активации онкогенов и гибели клеток.

# Метод иммуноцитохимии

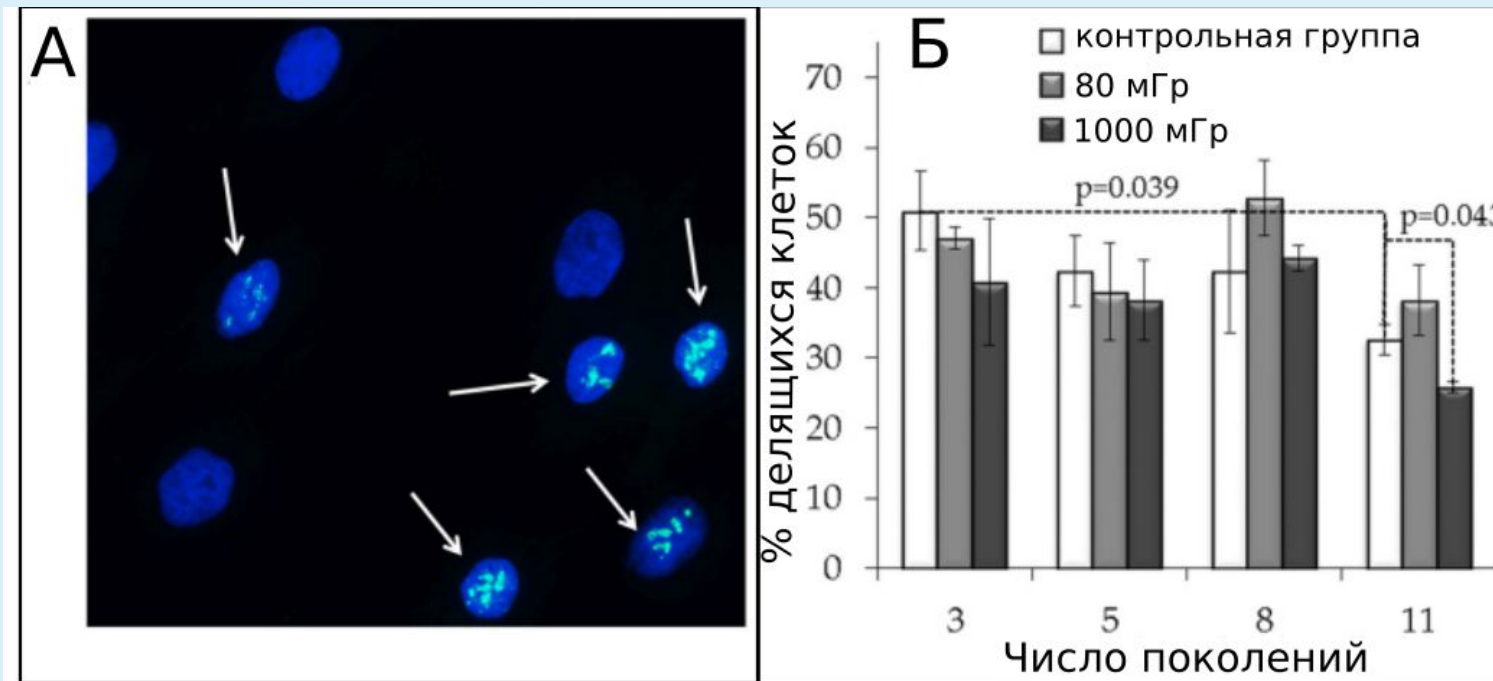
Примером белков, маркирующих повреждения ДНК, является модифицированный гистоновый белок  $\gamma$ H2AX.



Слева направо: ДНК клеточного ядра, окрашенное DAPI (синий); скопления (фокусы) белка  $\gamma$ H2AX (красные точки), маркирующего повреждения ДНК; наложенные микроизображения (merged)

# Результаты

- Двойные разрывы ДНК могут образовываться в норме в процессе клеточного деления и устраняются путем корректного способа гомологической рекомбинации.
- Повышенное содержание фокусов  $\gamma$ H2AX спустя 24 часа после облучения в дозе 80 мГр наблюдалось только в делящихся клетках и отсутствовало в покоящихся.

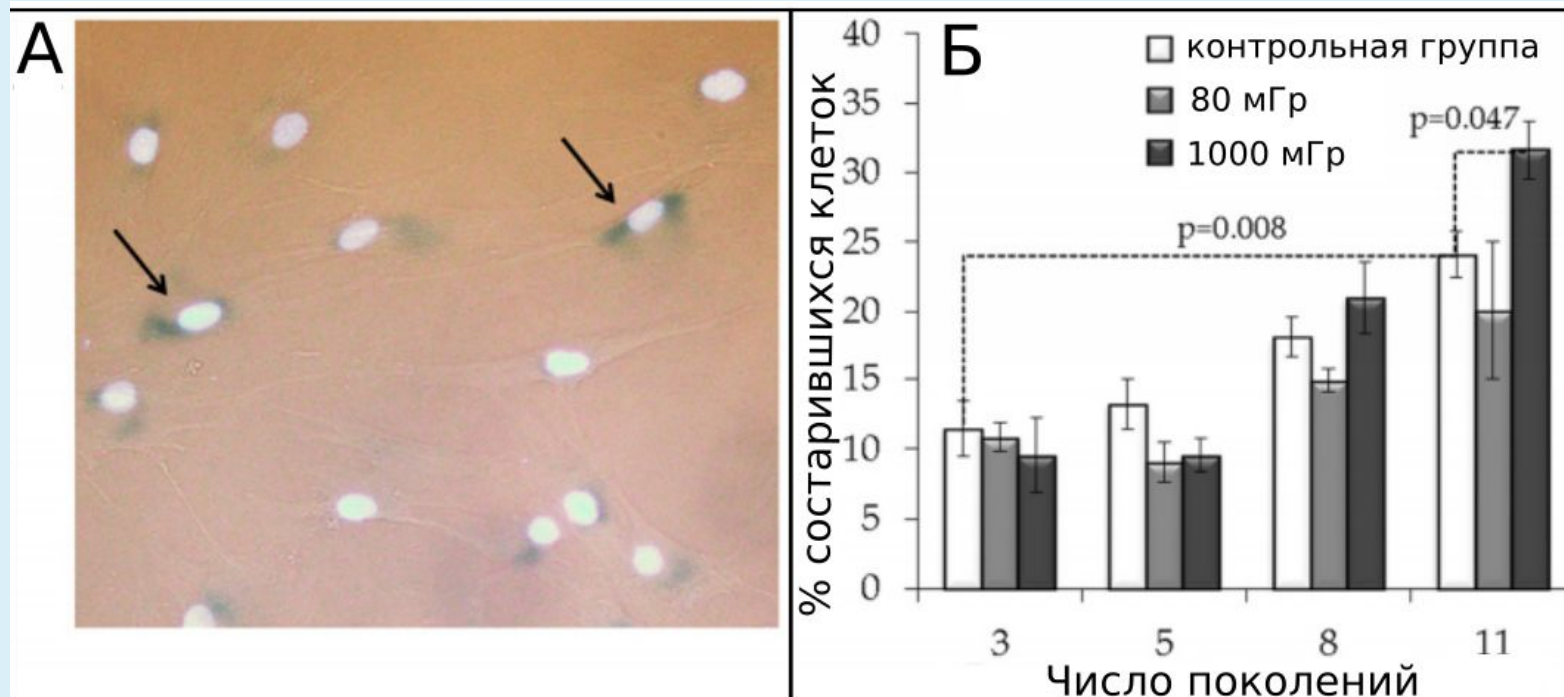


А) стрелками обозначены делящиеся клетки, помеченные флуоресцентными красителями и имеющие повреждения — двойные разрывы ДНК;

Б) зависимость количества делящихся клеток контрольной группы и клеток, облученных дозами в 80 мГр и 1000 мГр в течение 11 поколений.



- В потомстве клеток, облученных малой дозой радиации, не наблюдалось проявлений нестабильности генома, изменений в процессах деления и преждевременного старения.

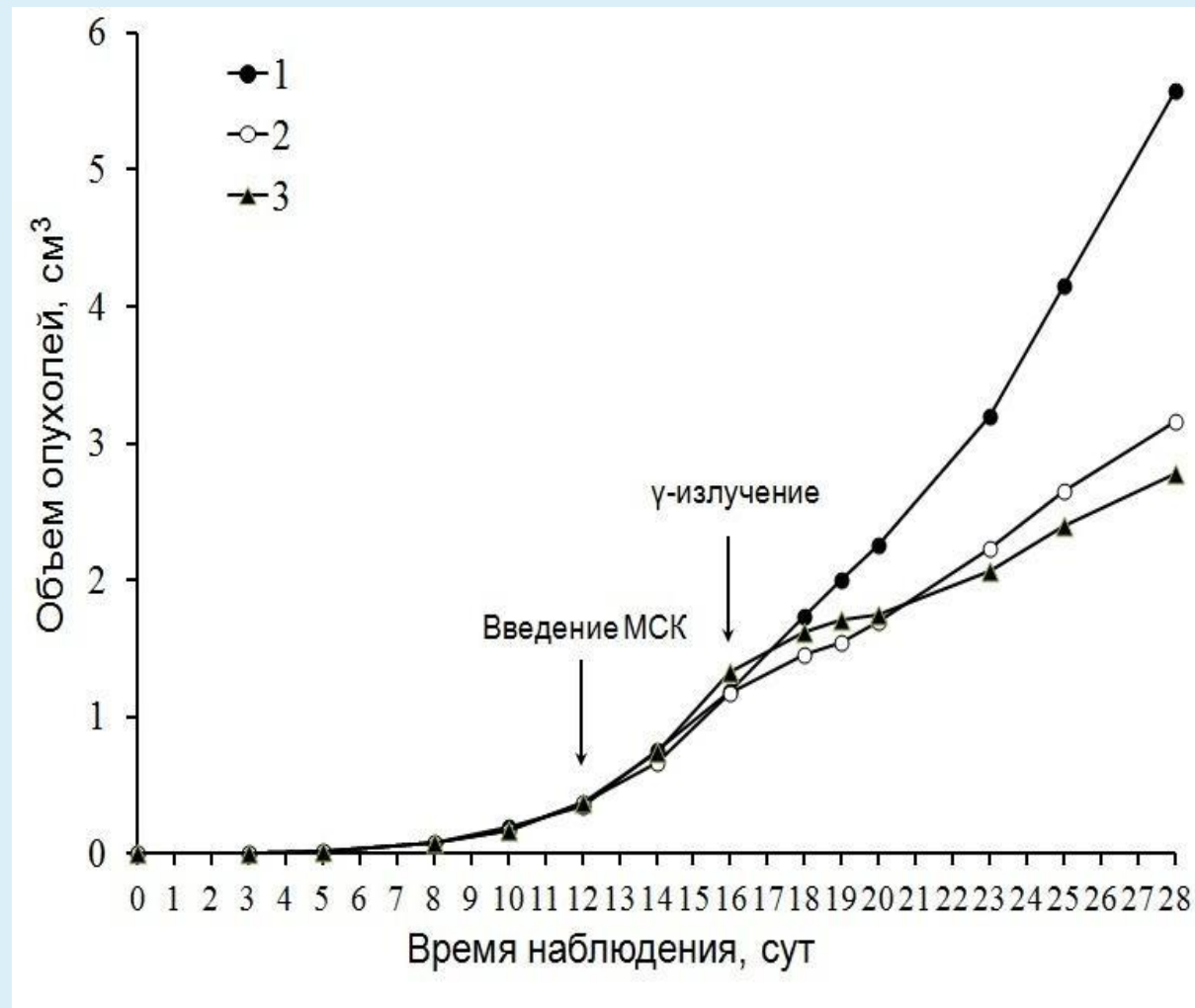


А) стрелками отмечены стареющие клетки, помеченные красителями (синим — цитоплазма, белым — клеточные ядра);  
Б) количество состарившихся клеток контрольной группы и клеток, облученных дозами в 80 мГр и 1000 мГр в течение 11 поколений.

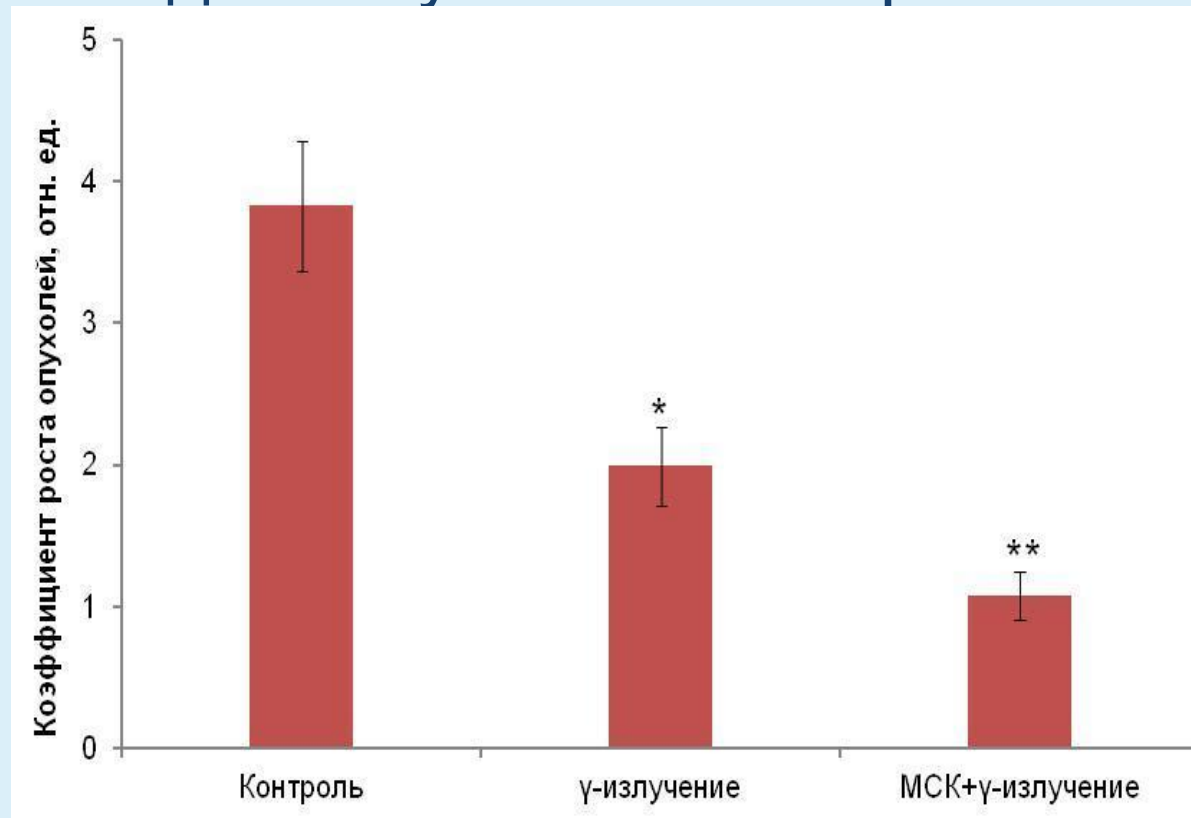
# Радиосенсибилизирующее действие стволовых клеток человека при локальном воздействии $\gamma$ -излучения на саркому M-1 крыс

- Одним из лимитирующих факторов для полной эрадикации опухолей с помощью конвенциональной лучевой терапии является наличие в солидных новообразованиях радиорезистентных гипоксических клеток.
- В этой связи обращают на себя внимание эффекты мезенхимальных стволовых клеток на перевиваемые опухоли, связанные с усилением неоангиогенеза и повышением доли пролиферирующих неопластических клеток.

Рост саркомы М-1 в контроле (1), после воздействия гамма-излучения в дозе 30 Гр (2) и на фоне введения мезенхимальных стволовых клеток человека за 4 суток до облучения (3)



# Коэффициенты роста саркомы М-1 в контроле, после воздействия $\gamma$ -излучения в дозе 30 Гр и при комбинированном применении мезенхимальных стволовых клеток человека и облучения в интервале от 16 до 28 суток после перевивки



\*коэффициент роста опухоли является критерием эффективности экспериментальных воздействий

## **Гибель клеток колоректального рака при со- культивировании со стволовыми клетками при облучении низкой дозой**

- Колоректальный рак (CRC) остается одним из наиболее распространенных видов рака во всем мире, ежегодно диагностируется ~746000 и 614000 новых случаев у мужчин и женщин соответственно.

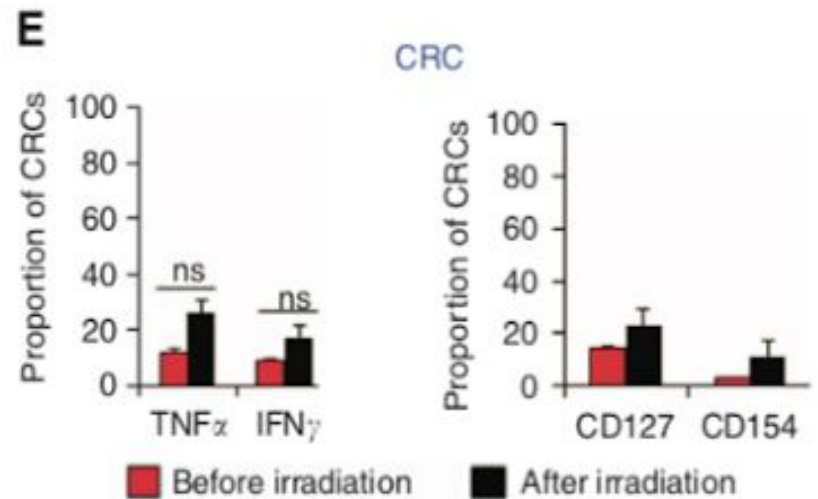
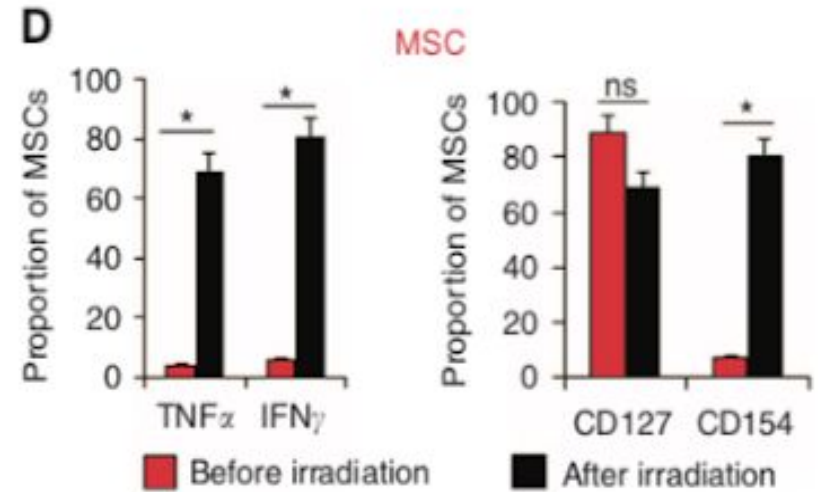
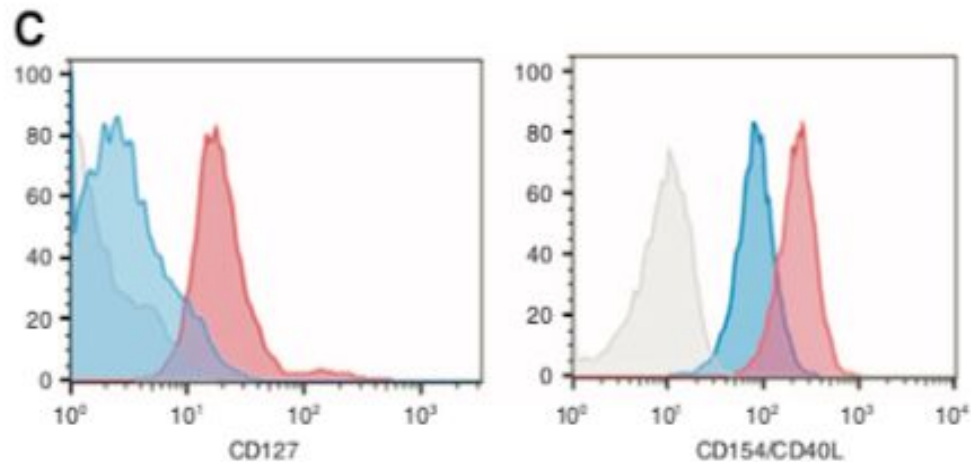
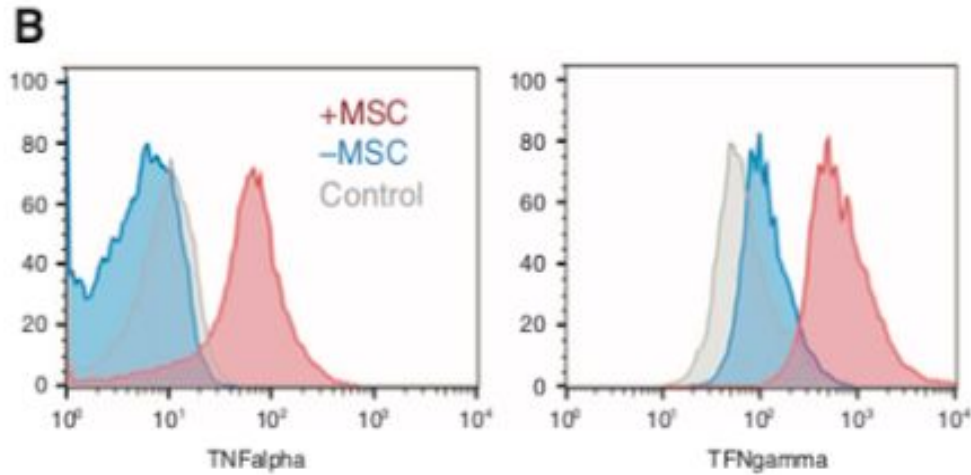
# Противоречивый эффект мезенхимальных стромальных клеток костного мозга

- Ранее было показано, что выделенные из костного мозга мезенхимальные стволовые клетки (BM-MSC) изменяют функции иммунных клеток, что приводит к нарушенной иммунологической чувствительности и вызывает повышенный риск рецидива опухоли.
- С другой стороны, они могут также выделять различные цитокины и оказывать противоопухолевое действие.

# Эффекты

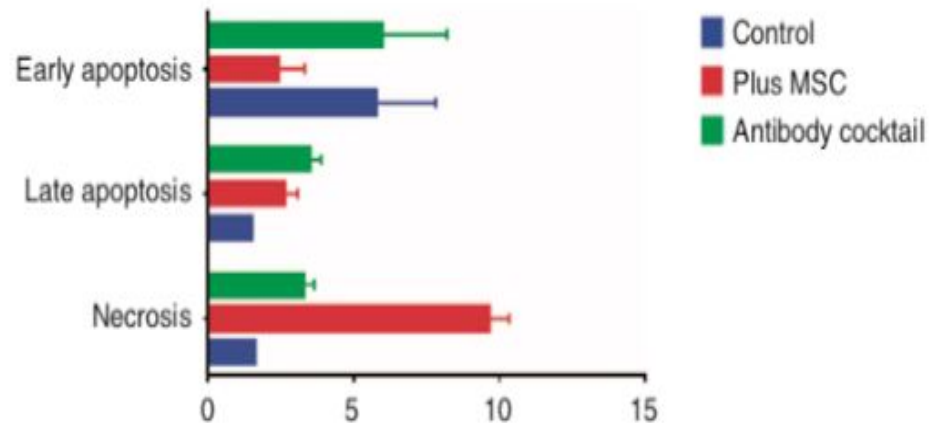
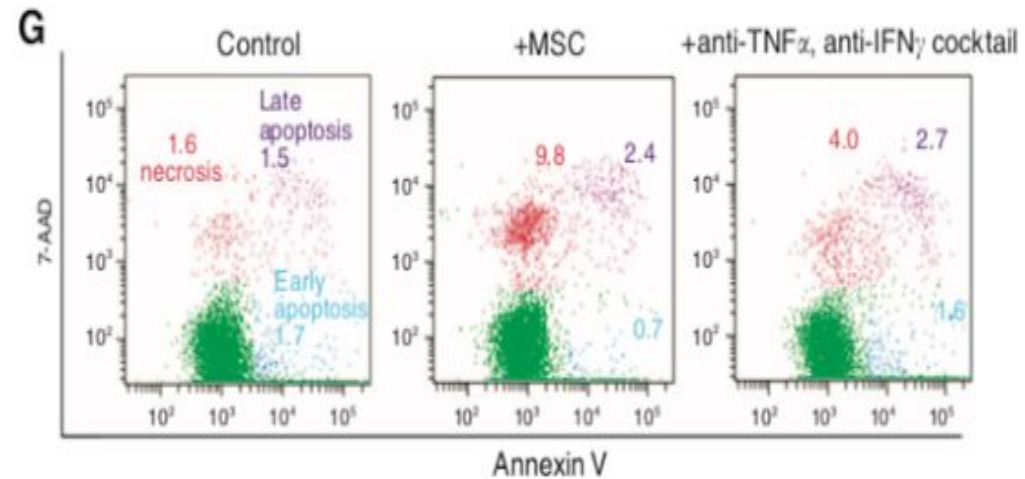
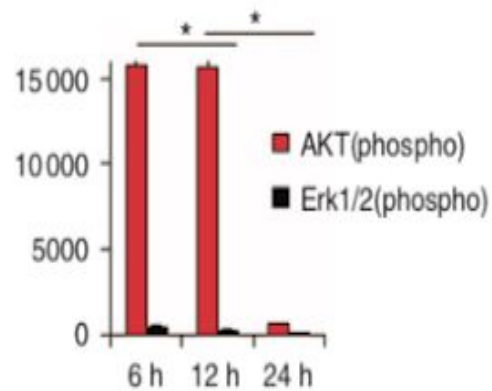
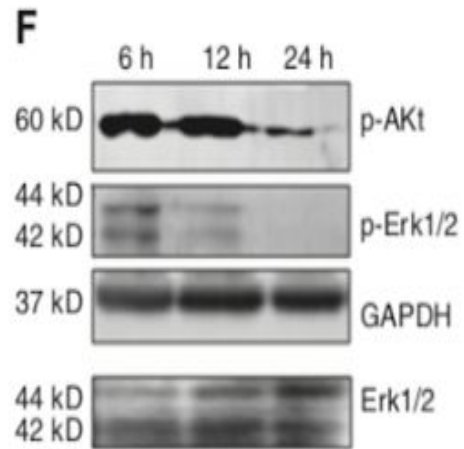
- При облучении низкими дозами ультрафиолетового излучения и рентгеновскими лучами BM-MSCs проявляют противоопухолевый эффект путем секреции определенных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), которые приводят к ингибированию пролиферации и индукции апоптоза клеток CRC.
- Облучение в системе со-культивирования приводило к расщеплению каспазы-3 и ослабляло фосфорилирование фосфатидинозитол-3-киназы (PI3K)/АКТ и внеклеточной сигнально-регулируемой киназы в раковых клетках. Эти сигнальные пути могут способствовать смерти раковых клеток.

# Изменение уровня цитокинов в MSC и клетках CRC в системе со-культивирования



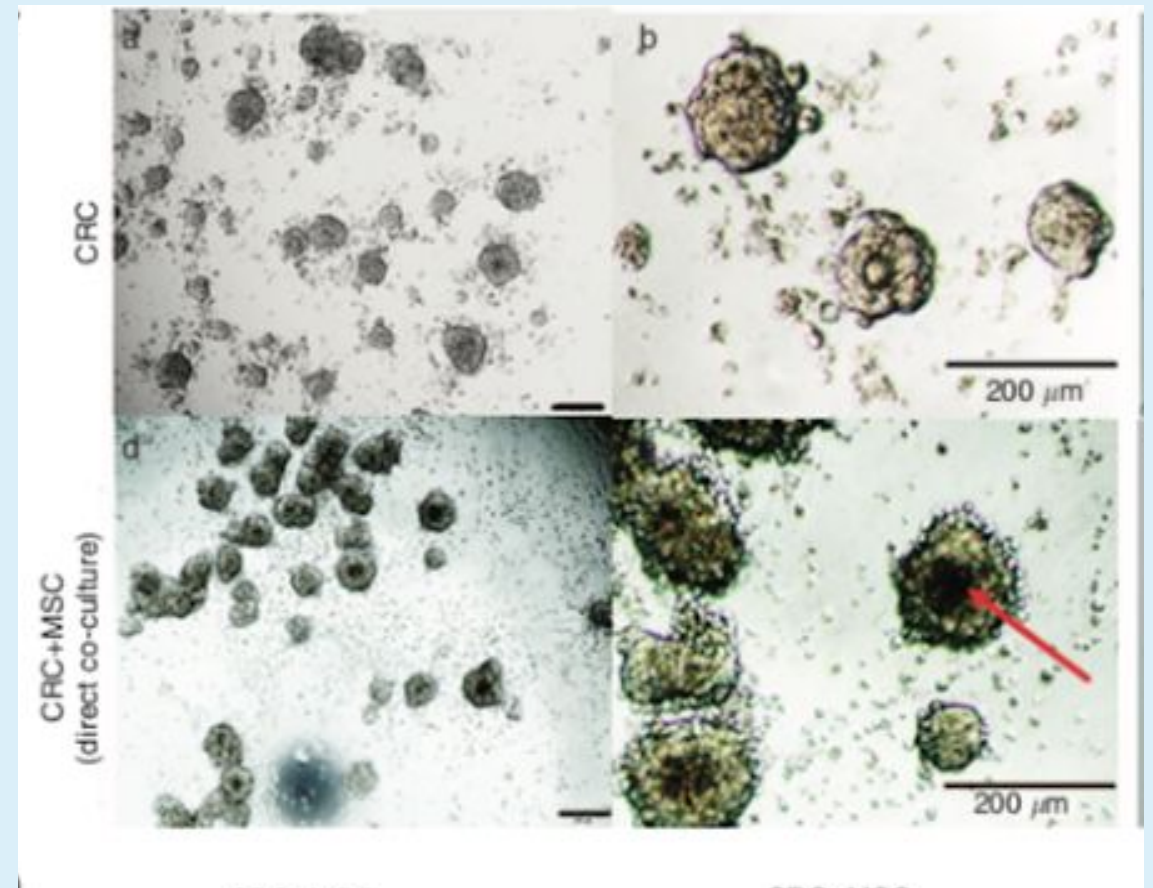
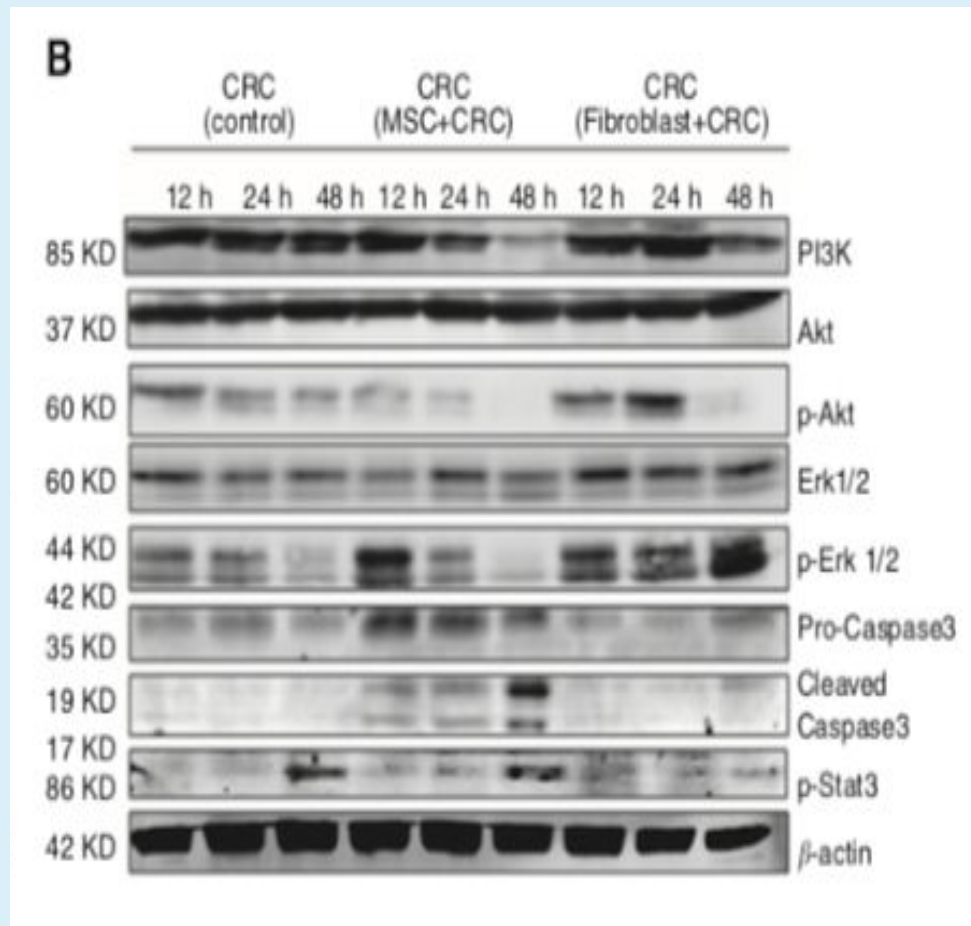


# Изменение экспрессии белка и скорости некроза в MSC и клетках CRC в системе со-КУЛЬТИВИРОВАНИЯ



В CRC сигнальные пути ERK и АКТ были подавлены в совместно культивируемой системе, каспаза 3 и p-Stat3 в клетках CRC были активированы в системе культивирования CRC + MSC

3-х мерные сфероиды. Темные ядра (красная стрелка), которые представляли собой мертвые клетки, можно было наблюдать в системе со-культивирования



# Заключение

- При действии малых доз ионизирующей радиации наличие в культивируемых стволовых клетках человека фокусов  $\gamma$ H2AX связано с процессами клеточного деления и не приводит к отдаленным последствиям облучения, связанным со старением.
- Увеличение радиочувствительности саркомы M-1 при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток до облучения обусловлено стимуляцией ангиогенеза, снижением содержания гипоксических клеток и повышением общей фракции репопулирующих опухолевых клеток в зоне лучевого воздействия.
- Стволовые клетки подавляют пролиферацию и уменьшают жизнеспособность клеток колоректального рака, секретируют IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , обладающих противоопухолевым эффектом и запускают каскадные пути, способствующие гибели клеток CRC.

Спасибо за внимание!

