

Рецептор GPR55 как новая мишень при запуске апоптоза эндованилоидами

Научный руководитель – Акимов Михаил Геннадьевич

Дудина Полина Валентиновна

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: polina.dudkinz@gmail.com

Эндованилоиды - продукты метаболизма жирных кислот; они считаются основными эндогенными лигандами ванилоидного рецептора TRPV1. Типичными представителями этих веществ являются анандамид и ацилдофамины. Одним из вариантов активности эндованилоидов является индукция клеточной смерти. В качестве рецептора при этом как правило выступает TRPV1 или, реже, каннабиноидный рецептор CB1. Однако, в ряде случаев мишень эндованилоидов при запуске клеточной смерти не установлена. Нами получены предварительные данные о том, что ацилдофамины на линии PC12 индуцируют апоптоз посредством активации неклассического каннабиноидного рецептора GPR55. Цель данной работы - выяснить, является ли GPR55 общей мишенью цитотоксичности эндованилоидов.

Для проверки выдвинутой гипотезы использовали 6 линий клеток с разным уровнем экспрессии GPR55: MCF-7, MDA-MB-231, SW620, DU145, PC-3 и PANC-1. Клетки высевали в 96-луночный планшет с плотностью 30000 на лунку на момент эксперимента для построения кривой выживаемости. В качестве модельного ацилдофамина использовали дофаминамид арахидоновой кислоты (DHA-DA). Растворы DHA-DA в диапазоне концентраций 0.05-100 мкМ готовили в DMSO, разбавляли средой и добавляли к клеткам двумя способами: 1:1 кондиционированная: свежая среды или в виде последовательного добавления 25 мкл свежей среды и 25 мкл среды с веществом с часовой инкубацией между добавлениями на 24 часа (финальная концентрация DMSO 0.8%). Выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста. После этого клетки обрабатывали концентрацией DHA-DA, вызывающей гибель 50-70% культуры, и блокаторами GPR55 CID16020046 (CID) и каннабидиолом (CBD) в концентрациях 0.4, 4 и 10 мкМ с двухчасовой преинкубацией на 24 часа.

Ацилдофамин DHA-DA был токсичен для всех линий (EC_{50} 42 ± 3 , 87 ± 1 , 15 ± 2 , 15 , 29 ± 2 , 23 ± 3 мкМ для MCF-7, MDA-MB-231, DU-145, SW-620, PANC-1, PC-3 соответственно). Из литературы известно, что экспрессия гена GPR55 наблюдается во всех используемых линиях, кроме линии MCF-7, и мы ожидали, что блокаторы этого рецептора будут активны для всех линий, кроме нее. Как и ожидалось, для клеток MCF-7 блокаторы не сработали. Для клеток MDA-MB-231 концентрации 0.4 и 4 мкМ CID и CBD обеспечили практически полную защиту от цитотоксичного агента. Концентрация 10 мкМ повысила выживаемость до 50%. Для остальных линий повышение выживаемости наблюдалось до 50% на низких концентрациях и до 40% на высоких.

В экспериментах с классическим эндованилоидом анандамидом было обнаружено, что активация GPR55 данным веществом также приводит к клеточной смерти посредством активации GPR55.

Таким образом, по результатам экспериментов наблюдается корреляция между наличием GPR55 и токсичностью через него дофаминамида докозагексаеновой кислоты и анандамида, что может свидетельствовать о том, что GPR55 является мишенью цитотоксичности биоактивных липидов семейства эндованилоидов.

Работа частично поддержана грантом РФФИ 19-04-00302