

MODELAREA PRIN INTEGRINE A SENSIBILITĂȚII CELULARE LA APOPTOZĂ

Adelina Curaj, Alexandra Popescu

Departament Medicină Celulară și Moleculară

UMF "Carol Davila"

Laborator Biologie Celulară

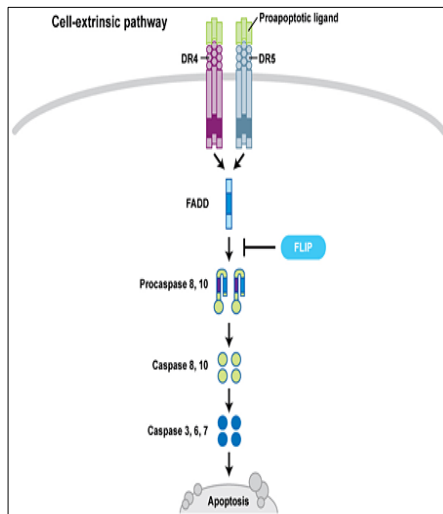
Institutul Național de Patologie "Victor Babeș"

APOPTOZA

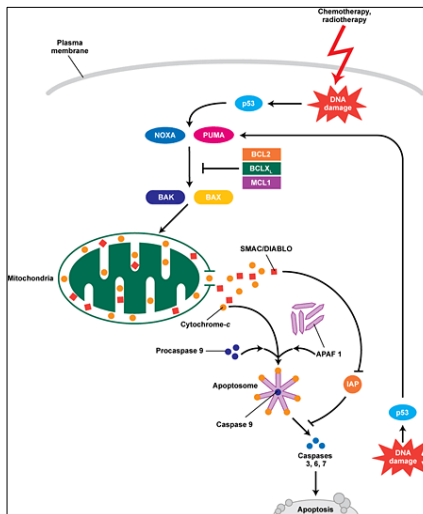
- Moarte celulară programată
- Controlează homeostazia celulară a țesuturilor în toate etapele de dezvoltare a unui organism
- Inițierea
 - mecanism extrinsec
 - mecanism intrinsec
 - efector comun: caspazele

MECANISMELE APOPTOZEI

extrinseci



intrinseci



Preluat din: www.researchapoptosis.com/apoptosis/pathways

INTEGRINELE ȘI APOPTOZA

- Integrinele – receptori la componente ale matricei extracelulare
- Apoptoza dependentă de pierderea funcției integrinelor – anoikis
- Ipoteza: tipul de interacțiune celulă-substrat influențează sensibilitatea celulelor la apoptoză

NE-AM PROPUȘ:

Investigarea efectului semnalizării prin integrine asupra sensibilității celulare la declanșarea apoptozei pentru:

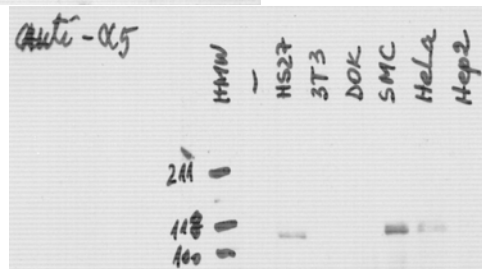
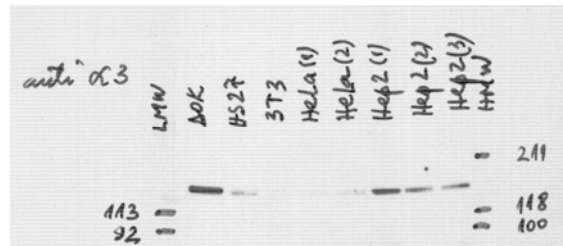
- 1) linii celulare stabilizate;
- 2) culturi celulare primare obținute în condițiile laboratorului nostru (pentru pasajele timpurii ale acestora).

MATERIALE ȘI METODE

- Linii celulare stabilizate: DOK, Hep2, HS27, HeLa, 3T3, SMC
- Culturi celulare primare: miometru, trompă uterină, placentă la termen, piele
- Suprafața de cultură a fost acoperită cu **proteină de matrice** (colagen – Col, fibronectină – Fn, laminină – Lam) sau **albumină serică bovină** – BSA, respectiv **poli-L-lizină** – PLL pentru control.
- Apoptoza a fost indusă prin privare de ser sau prin staurosporină.
- Western-blotting și test de proliferare celulară MTS.

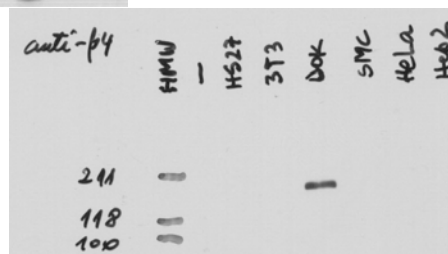
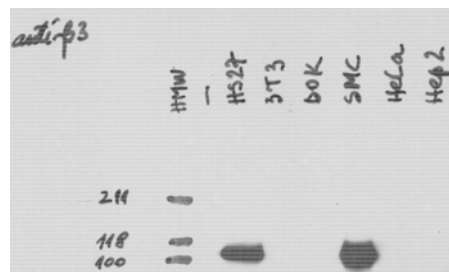
REZULTATE

EXPRIMAREA INTEGRINELOR PE DIVERSE TIPURI CELULARE ÎN CULTURĂ

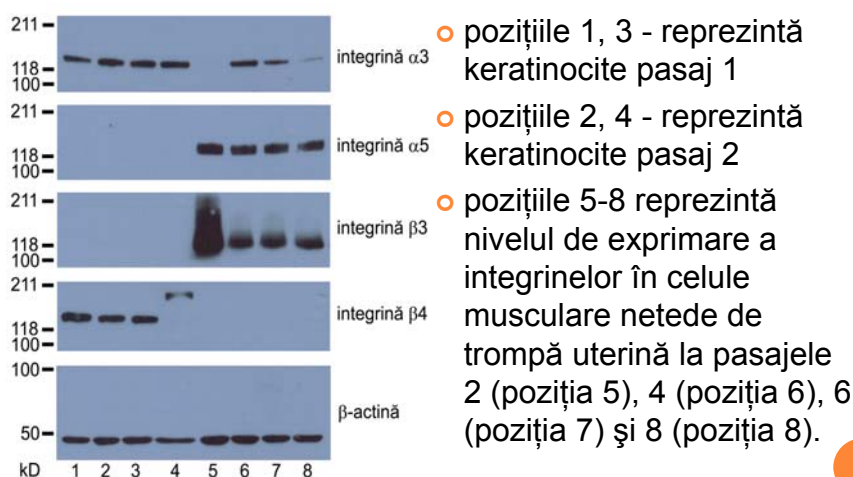


REZULTATE

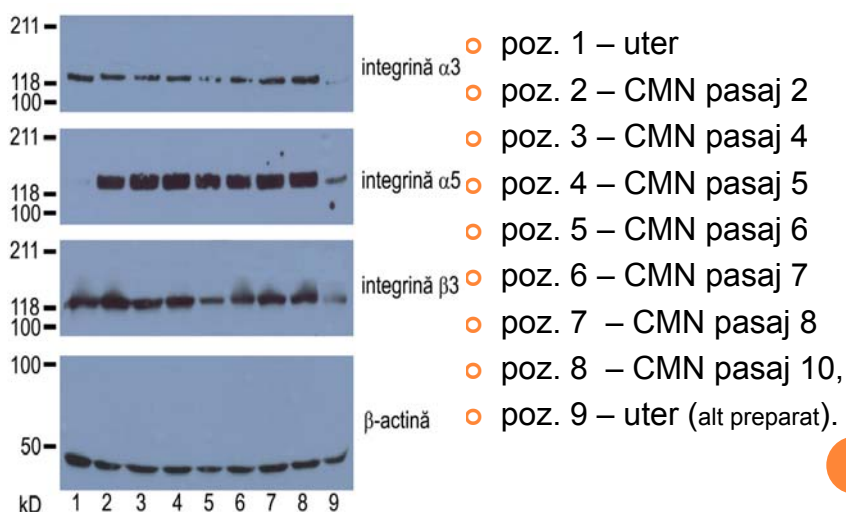
EXPRIMAREA INTEGRINELOR PE DIVERSE TIPURI CELULARE ÎN CULTURĂ



EXPRIMAREA INTEGRINELOR PE DIVERSE TIPURI CELULARE ÎN CULTURĂ PRIMARĂ SAU PASAJE MICI



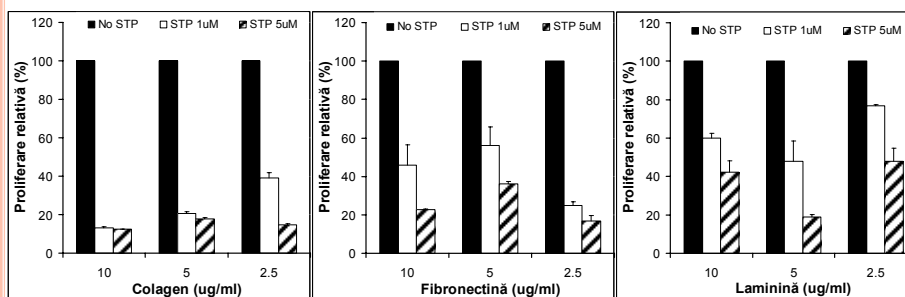
EXPRIMAREA INTEGRINELOR PE DIVERSE TIPURI CELULARE ÎN CULTURĂ PRIMARĂ SAU PASAJE MICI



INTERACȚIUNEA INTEGRINĂ-MATRICE INFLUENȚEAZĂ SENSIBILITATEA CELULARĂ LA APOPTOZĂ

	Colagen				Fibronectină			
HeLa	SF	BSA	1 μ M Stp	5 μ M Stp	SF	BSA	1 μ M Stp	5 μ M Stp
Valoare medie	3.9	10.8	20.2	22.3	9.3	6.3	7.1	28.9
Eroare standard	0.7	3.8	10.0	10.7	2.7	2.8	1.1	7.1
Hep2								
Valoare medie	1.6	9.1	56.6	71.8	1.3	1.3	33.8	95.8
Eroare standard	0.6	6.1	17.7	12.7	0.9	1.0	12.2	1.3
DOK								
Valoare medie	16.6	18.3	29.6	41.1	9.8	15.0	29.6	45.8
Eroare standard	7.1	4.7	9.9	14.9	5.2	3.3	8.8	8.1
HS 27								
Valoare medie	1.8	46.6	59.2	85.0	1.8	6.0	15.6	36.8
Eroare standard	0.4	17.0	8.5	8.5	1.6	1.4	7.0	12.4

SENSIBILITATEA CELULARĂ LA APOPTOZA INDUSĂ DE STAUROSPORINĂ DEPINDE DE INTERACȚIUNEA INTEGRINĂ-MATRICE

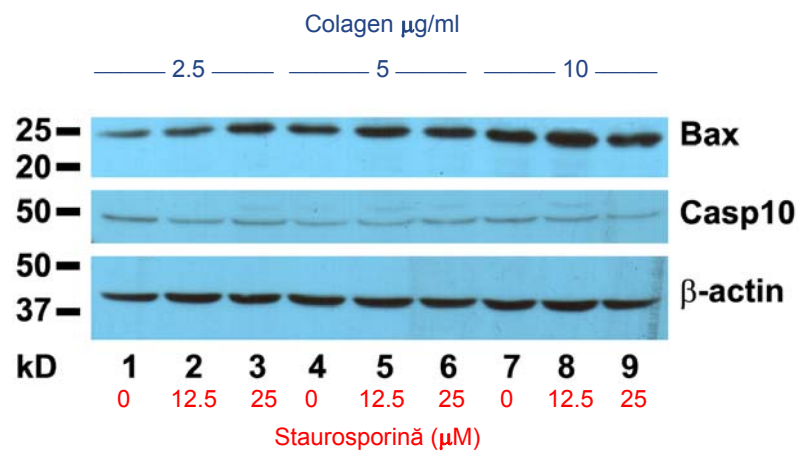


Celule musculare netede din miometru uman

EVOLUȚIA RAȚIONAMENTULUI NOSTRU

- Mecanismul inducerii apoptozei la celulele HeLa;
- Celulele atașate pe suprafețe acoperite cu collagen tip I (substrat pentru integrina $\alpha 2\beta 1$)
- Inducerea apoptozei cu staurosporină
- Western-blotting

REZULTATE



CONCLUZII

- Mecanismele apoptotice sunt dependente de integrina implicată în interacțiunile celulă-substrat.
- Pentru liniile celulare stabilizate, aderarea pe collagen determină o sensibilitate crescută la apoptoză față de aderarea pe fibronectină
- Pentru culturile celulare primare sensibilitatea cea mai ridicată la apoptoza este indusă de atașarea pe collagen
- Aderarea pe fibronectină sau laminină protejază celulele față de apoptoza indusă prin staurosporină, efectul fiind bifazic

CONCLUZII

- Staurosporina induce modificări în exprimarea factorului pro-apoptotic Bax la celulele HeLa atașate pe collagen tip I, într-o manieră dependentă atât de concentrația de collagen utilizată la acoperirea suprafețelor de cultură cât și de concentrația de staurosporină
- Concentrațiile ridicate de collagen, determină comportament celular bifazic în privința nivelului de exprimare a Bax
- Nivelul de exprimare a caspazei 10 nu se modifică
- Apoptoza indusă de staurosporină la celule HeLa atașate pe collagen urmează un *mecanism intrinsec*

