

# ЭКСТРАКТ ЛУГОВИКА АНТАРКТИЧЕСКОГО (DESCHAMPSIA ANTARCTICA) –

## ЭФФЕКТИВНАЯ ЗАЩИТА ОТ РЕПЛИКАТИВНОГО СТАРЕНИЯ В IN VITRO МОДЕЛИ ПЕРВИЧНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

**Э. Морель, Б. Фонтана, М. Алонсо-Хуарранц,**

**А. Замаррон, А. Хуарранц**

(факультет естественных наук, Автономный университет Мадрида, Испания)

**А. де Целикс** (Cantabria Labs, Испания)

**С. Гонсалес** (Онкологический центр им. Слоуна-Кеттеринга, США)

Луговик антарктический (*Deschampsia antarctica*) – полиэкстремофильное растение, способное жить в экстремальных природных условиях – при интенсивной инсоляции, повышенной солености, концентрации кислорода и засушливости. Все эти факторы служат причинами преждевременного репликативного старения клеток (сенесценции), инициируя накопление активных форм кислорода, мутагенез или осмотический стресс. Однако, несмотря на такую совокупность неблагоприятных факторов растение растет и размножается благодаря наличию специальных защитных механизмов, развившихся в ходе эволюции. Целью данного исследования был вопрос, сохраняет ли водный экстракт *Deschampsia antarctica* свои природные защитные свойства и проявляет ли их при контакте с клетками других типов, поддерживая их функционирование и жизнеспособность.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали растения, выращенные в регулируемых условиях микроклимата за пределами естественной среды их обитания. Перевод первичных дермальных фибробластов человека в сенесцентное состояние осуществляли культивированием методом серийных разведений (15–18 дней в культуре) в присутствии или при отсутствии различных концентраций (0,1 мг/мл и 0,5 мг/мл) экстракта *Deschampsia antarctica*.

С помощью Вестерн-блоттинга, иммунофлуоресцентного анализа и ПЦР оценивали следующие маркеры старения и параметры состояния клеток:

- бета-галактозидазу;

- p53;
- циклооксигеназу 2 (ЦОГ-2);
- коллаген I типа;
- эластин;
- металлопротеиназы.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

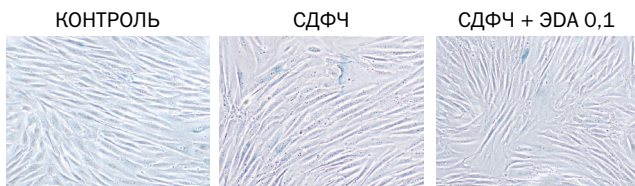
Обработка клеток экстрактом *Deschampsia antarctica* во время индукции старения предотвращала экспрессию таких маркеров этого процесса, как бета-галактозидаза, p53 и ЦОГ-2. Кроме того, экстракт *Deschampsia antarctica* замедлял угасание пролиферативной способности фибробластов, вызванное переходом в сенесцентное состояние, что проявлялось в виде увеличения экспрессии гена, кодирующего PCNA (ядерного антигена пролиферирующих клеток). Наконец, экстракт *Deschampsia antarctica* повышал экспрессию генов, ответственных за синтез коллагена I типа и эластина и снижал экспрессию матриксных металлопротеиназ (ММП). Таким образом, он препятствовал развитию характерных симптомам репликативного старения фибробластов в виде снижения способности синтезировать, секретировать и депонировать компоненты внеклеточного матрикса. Переход в сенесцентное состояние обычно плохо сказывается на способности клеток к передвижению, которая также восстанавливалась при их обработке экстрактом *Deschampsia antarctica*.

### ВЫВОДЫ

Экстракт *Deschampsia antarctica* сохраняет те свойства, которые позволяют ему жить и успешно размножаться в экстремальных природных условиях и способен оказывать защитное действие в отношении человеческих дермальных фибробластов, предотвращая их репликативное старение и минимизируя связанные с ним эффекты.

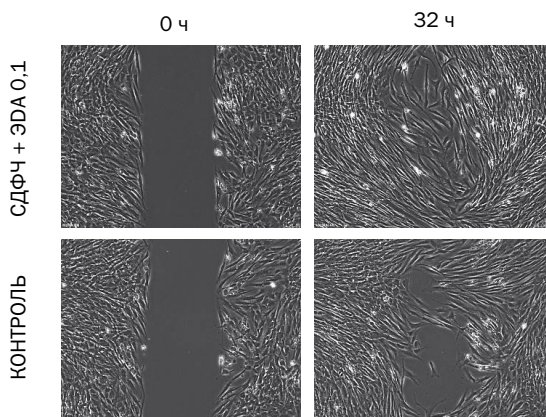
Продукты, содержащие экстракт луговика антарктического (*Deschampsia antarctica*) представлены на рисунке 11.

## БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗА



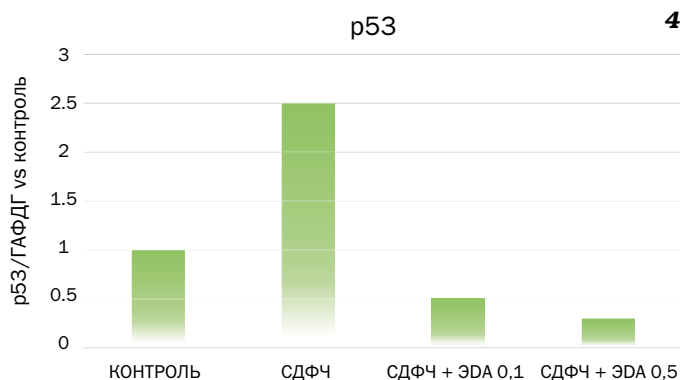
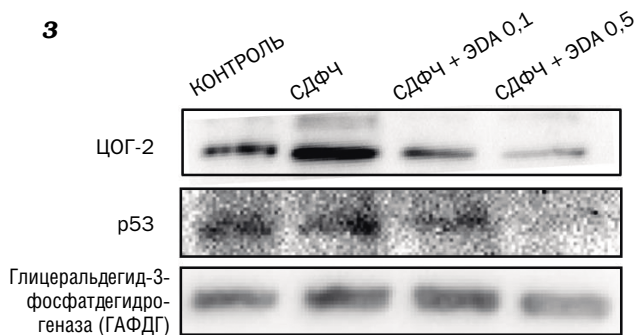
**Рис. 1.** Культуры сенесцентных дермальных фибробластов человека (СДФЧ) содержат большее количество клеток, дающих положительный ответ на присутствие бета-галактозидазы, чем контрольная культура. Обработка культур экстрактом *Deschampsia antarctica* (ЭДА) уменьшала количество клеток, содержащих этот маркер клеточного старения

## МИГРАЦИЯ

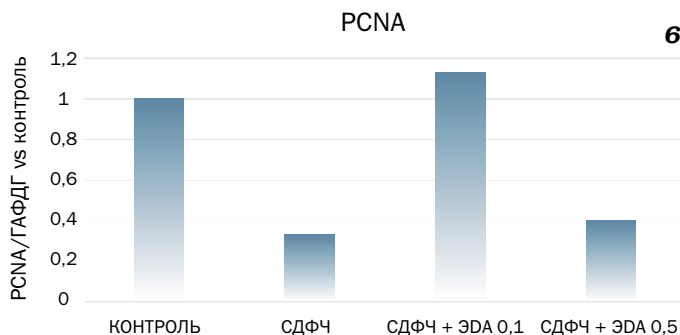
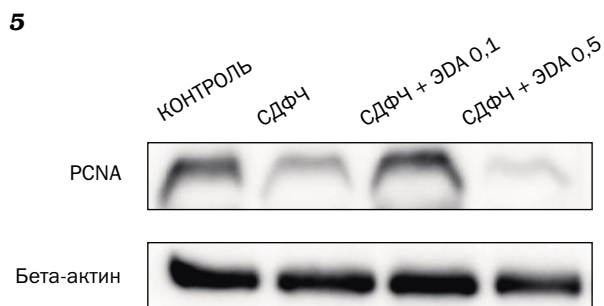


**Рис. 2.** Миграционную способность клеток оценивали с помощью анализа процесса заживления ран. Клетки, культивируемые в среде, содержащей 0,1 мг/мл ЭДА, продемонстрировали повышенную способность к передвижению (по сравнению с контрольными клетками) при анализе их состояния через 16, 24 и 32 ч

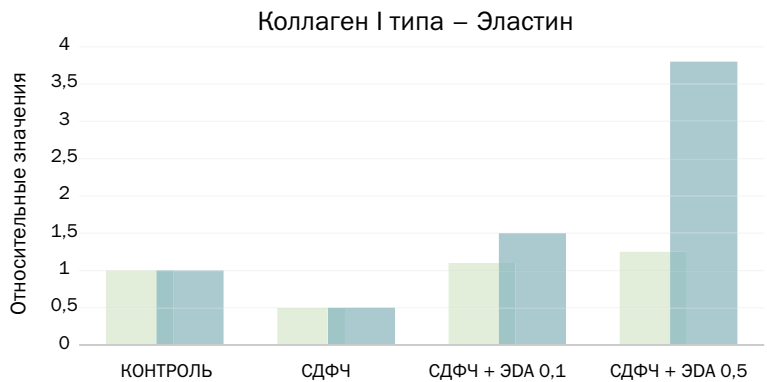
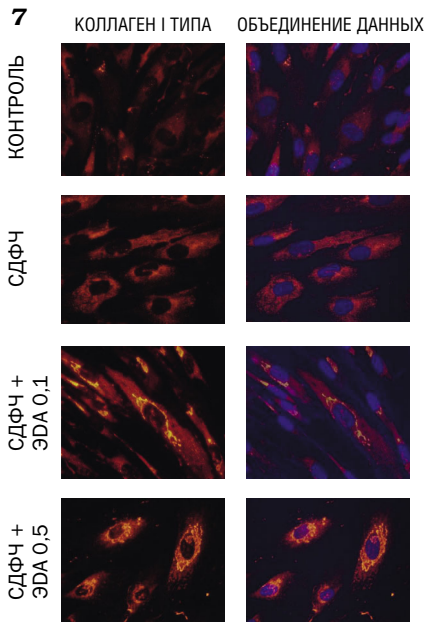
## ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС



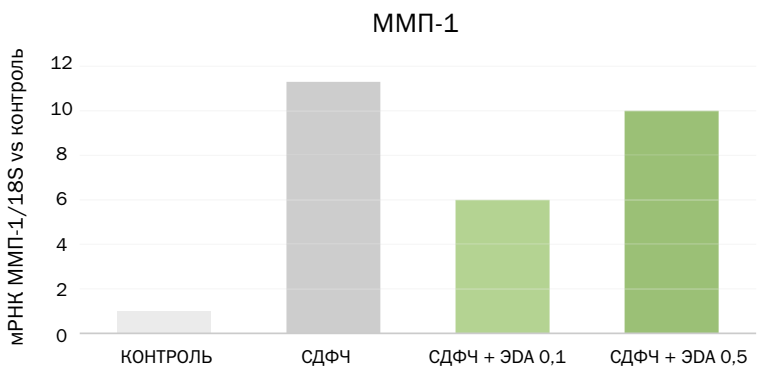
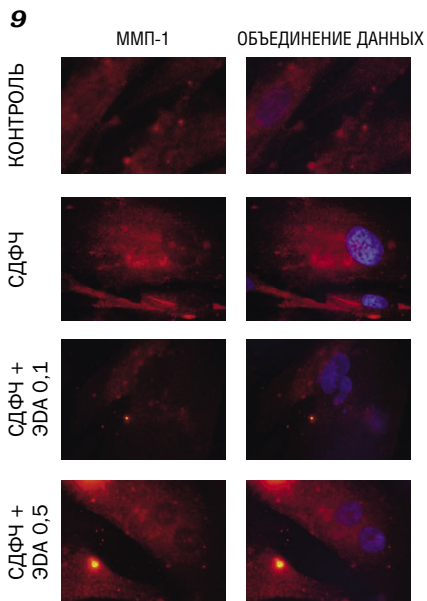
**Рис. 3–4.** Изменения в экспрессии ЦОГ-2 и p53 связаны с окислительным стрессом, обусловленным переходом клеток в сенесцентное состояние и их повреждением. В сенесцентных фибробластах (СДФЧ) наблюдались повышенные количества ЦОГ-2 и p53. Культивирование клеток в среде, содержащей 0,1 и 0,5 мг/мл ЭДА, позволило добиться значительного снижения экспрессии этих маркеров



**Рис. 5–6.** Пролиферация СДФЧ была снижена. В сенесцентных клетках уменьшается экспрессия гена, кодирующего PCNA (ядерный антиген пролиферирующих клеток). Предварительная обработка культуры ЭДА как в концентрации 0,1, так и в концентрации 0,5 мг/мл обеспечивала значительное увеличение экспрессии этих маркеров (А, Б)



**Рис. 7–8.** В норме при переходе фибробластов в сенесцентное состояние снижается секреция ими компонентов внеклеточного матрикса. Клетки, культивируемые в среде, содержащей 0,1 и 0,5 мг/мл ЭДА, экспрессировали большее количество коллагена I типа и эластина, чем не перешедшие в сенесцентное состояние контрольные фибробласты (рис. 7). Полуколичественные данные иммунофлуоресцентного анализа, отраженные в относительных значениях (рис. 8)



**Рис. 9–10.** При переходе клеток в сенесцентное состояние усиливается деградация внеклеточного матрикса. Экспрессия ММП-1 в стареющих фибробластах была выше, а в цитоплазме клеток, которые культивировали в среде, содержащей 0,1 мг/мл ЭДА, отмечены значимо более низкие количества ММП-1. Более высокая концентрация ЭДА (0,5 мг/мл) существенно не изменяла экспрессию мРНК ММП-1 (рис. 9). Данные, полученные с помощью ПЦР-ОТ-анализа (рис. 10)

**Рис. 11.** Препараты линии ENDOCARE C-Ferulic и NEORETIN Rejuvemax (Cantabria Labs, Испания), в состав которых входит запатентованный комплекс EDAFANCE® (экстракт луговика антарктического (*Deschampsia antarctica*))

