

УСТОЙЧИВОСТЬ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК К ДЕЙСТВИЮ ГЛЮКОЗНОЙ ДЕПРИВАЦИИ В УСЛОВИЯХ СНИЖЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ КИСЛОРОДА

© 2018 г. М.В. Лобанова, А.Ю. Ратушный, М.И. Ездакова, Л.Б. Буравкова

ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76а

E-mail: pogodina_m@mail.ru

Поступила в редакцию 18.12.17 г.

После доработки 02.02.18 г.

При исследовании действия глюкозной депривации на мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки было показано, что культивирование клеток в условиях снижения содержания кислорода до 1% способствует поддержанию их жизнеспособности, а также сдерживает рост внутриклеточных активных форм кислорода. Сохранение жизнеспособности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в данных условиях может быть обусловлено действием кислород-зависимого транзиторного увеличения уровня индуцированного гипоксией фактора 1 α и увеличением экспрессии генов-мишеней данного транскрипционного фактора, продукты которых являются ключевыми ферментами гликолиза.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, гипоксия, глюкозная депривация, активные формы кислорода, экспрессия генов.

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) являются перспективным инструментом, применяемым в регенеративной медицине при лечении заболеваний, связанных с нарушением кровообращения [1–5]. ММСК вырабатывают паракринные факторы, которые, помимо стимуляции ангиогенеза, способствуют повышению выживаемости поврежденных и активации резидентных прогениторных клеток. Кроме того, показано участие мезенхимальных прогениторов в репаративном remodelировании тканей за счет активной пролиферации и дифференцировки [2,6–9]. Однако после хоуминга в ишемизированные области ММСК сталкиваются с неблагоприятными условиями микроокружения, которые могут приводить к гибели значительной части клеток в течение нескольких суток после трансплантации [10]. Показано, что основную роль в повреждении клеток при заболеваниях с нарушением кровотока играют отсутствие поступления энергетических субстратов, ростовых факторов и окислительный стресс, механизм возникновения которого в данном случае связан со сменой гипоксии реперфузией, когда в клетке происходит мощная генерация активных форм ки-

слорода (АФК) компонентами дыхательной цепи и некоторыми другими системами [11,12]. Чувствительность к данным неблагоприятным факторам, помимо физиологических особенностей типа клеток, может определяться степенью адаптации к парциальному давлению кислорода в среде культивирования *in vitro* [13,14].

Целью данной работы являлась оценка устойчивости ММСК, культивируемых в среде с содержанием кислорода от 1 до 20%, при действии кратковременной глюкозной депривации и снижении уровня O₂, а также изучение уровня АФК и экспрессии генов гликолиза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ММСК из жировой ткани человека выделяли по методу, описанному в работе [15] с модификациями из работы [16], и культивировали в среде α -MEM (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки и раствор антибиотиков пенициллина/стрептомицина (с конечной концентрацией в среде 50 ед/мл и 50 мг/мл соответственно). Содержание глюкозы в среде составляло 1 г/л. В работе использовали ММСК второго–шестого пассажа.

Клетки культивировали в стандартных условиях CO₂-инкубатора (5% CO₂, 95% воздуха,

Сокращения: ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, АФК – активные формы кислорода.

37°C, влажность 100%) или гипоксических (5% CO₂, 5 или 1% O₂, 90 или 94% N₂, 37°C, влажность 100%). Гипоксические условия создавали с помощью мультигазового инкубатора (Sanyo, Япония), поддерживающего содержание кислорода на уровне 5%, и герметичной камеры (Stem Cell Technologies, Канада), которую после установки в нее чашек Петри с культивируемыми ММСК продували газовой смесью (95% N₂, 5% CO₂) до установления концентрации кислорода в среде 1% и помещали в термостат (37°C).

ММСК, постоянно культивируемые в среде с содержанием кислорода 20, 5 и 1%, подвергали кратковременному (72 ч) снижению уровня глюкозы в среде до 10% от контроля и изменению концентрации O₂ с 20 и 5 до 1%. При этом среду культивирования заменяли на среду DMEM (Sigma, США) без глюкозы и L-глутамина, содержащую 10% эмбриональной телячьей сыворотки и раствор антибиотиков пенициллина/стрептомицина (с конечной концентрацией в среде 50 ед/мл и 50 мг/мл соответственно). В культурах клеток контрольной группы использовали среду аналогичного состава с добавлением глюкозы (1 г/л) и L-глутамина.

Жизнеспособность ММСК оценивали по количеству апоптотических и некротических клеток методом проточной цитофлуориметрии с использованием набора Annexin V-FITC/PI (Immunotech, Франция) согласно инструкции производителя.

Для детекции активных форм кислорода в ММСК использовали 2'7'-дихлорфлуоресцеина диацетат (Sigma, США). Для окрашивания клеток 2'7'-дихлорфлуоресцеина диацетат, растворенный в диметилсульфоксиде, вносили в среду культивирования ММСК в конечной концентрации 20 мкМ. Инкубацию проводили в течение 30 мин при 37°C в соответствующей газовой среде. Количество АФК на клетку определяли по средней интенсивности флуоресценции на проточном цитофлуориметре Accuri C6 (BD Biosciences, США).

Выделение тотальной РНК проводили с использованием лизирующего реагента QIAzol (Qiagen, США) согласно инструкции производителя. Получение кДНК на основе выделенной РНК в реакции обратной транскрипции осуществляли с помощью набора QuantiTect Reverse Transcription Kit (Qiagen, США). Реакцию обратной транскрипции проводили в течение 30 мин при 42°C, после чего обратную транскриптазу QuantiScript Reverse Transcriptase инактивировали 4 мин при 95°C.

Для определения уровня экспрессии генов индуцированных гипоксией факторов *HIF-1α* и *HIF-3α*, гена изоформы М2 пируваткиназы *PKM2*, генов 6-фосфофрукто-2-киназы/фруктозо-2,6-бифосфатазы 3 *PFKFB3* и 6-фосфофрукто-2-киназы/фруктозо-2,6-бифосфатазы 4 *PFKFB4* использовали пары соответствующих праймеров QuantiTect Primer Assay (Qiagen, США) и набор реактивов для проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени в присутствии SYBR Green 1 («Синтол», Россия). Конечный объем реакционной смеси составлял 25 мкл, количество кДНК в пересчете на одну реакцию – 0,5 мкг. Ген гипоксантингуанин-фосфорибозилтрансферазы (*HPRT*) был использован в качестве хаускиппинг-гена для определения относительного значения изменения уровня экспрессии *HIF-1α*, *HIF-3α*, *PKM2*, *PFKFB3* и *PFKFB4*, так как в условиях длительной гипоксии экспрессия традиционно используемых генов «домашнего хозяйства», к примеру гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, может измениться [17].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 7.0. В качестве характеристик полученных выборок использовали среднее, стандартное отклонение и стандартную ошибку среднего. Для оценки относительного уровня экспрессии генов использовали метод 2^{-ΔΔC_t}. Достоверность различий между группами оценивали на основе критерия Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ жизнеспособности ММСК не выявил достоверных отличий между клетками, постоянно культивируемыми при 20, 5 и 1% кислорода (таблица). Ранее нами было показано, что и кратковременное изменение содержания кислорода не оказывает влияния на жизнеспособность ММСК. Кратковременная глюкозная депривация (72 ч) приводила к гибели значительной доли клеток, постоянно культивируемых при 20, 5 и 1% O₂ (таблица). Резко возросло количество ММСК, окрашенных AnnV-PI⁺ и AnnV⁺PI⁺. Изменение количества клеток, окрашенных AnnV-PI⁺, в условиях пониженного содержания кислорода было несколько меньшим и отличалось от такового при 5% кислорода. В данной группе также наблюдалось некоторое повышение количества апоптотических клеток, достоверно отличающееся от ММСК при 5% кислорода (таблица). Необходимо отметить, что при одновременном действии глюкозной депривации и снижении

Жизнеспособность ММСК при постоянном культивировании в среде с различным содержанием кислорода

Среда культивирования	Содержание O ₂ в среде культивирования	AnnV-PI ⁻ , %	AnnV+PI ⁻ , %	AnnV-PI ⁺ , %	AnnV+PI ⁺ , %
Глюкоза+, L-глутамин+ (контроль)	20%	98,40 ± 0,19	0,85 ± 0,17	0,35 ± 0,06	0,45 ± 0,17
	5%	98,90 ± 0,10	0,50 ± 0,06	0,35 ± 0,05	0,27 ± 0,07
	1%	97,15 ± 0,88	2,00 ± 0,82	0,27 ± 0,08	0,58 ± 0,08
Глюкоза-, L-глутамин-	20%	32,82 ± 2,33**	0,90 ± 0,36	19,10 ± 9,11**	47,17 ± 8,08**
	5%	33,72 ± 4,21**	0,65 ± 0,19	23,65 ± 3,89**	42,02 ± 6,92**
	1%	44,75 ± 11,28**	2,92 ± 1,50#	7,32 ± 3,64##**	45,05 ± 10,79**
Глюкоза-, L-глутамин-	20% – 1%, 72 ч	93,35 ± 0,75++	0,57 ± 0,13	2,77 ± 0,67+	3,22 ± 1,03++
	5% – 1%, 72 ч	93,55 ± 1,60++	0,57 ± 0,15	1,85 ± 0,36++	4,02 ± 1,28++

Примечание. В виде $M \pm m$ ($n = 4$) представлено количество живых (AnnV-PI⁻), апоптотических (AnnV+PI⁻), некротических (AnnV-PI⁺) клеток и клеток в состоянии постапоптотического некроза (AnnV+PI⁺); # – $p \leq 0,05$ относительно клеток в аналогичной среде культивирования при 5% O₂, ## – $p \leq 0,01$ относительно клеток в аналогичной среде культивирования при 5% O₂, ** – $p \leq 0,01$ относительно клеток в контрольной группе в аналогичных по содержанию O₂ условиях, + – $p \leq 0,05$ относительно клеток в аналогичной среде культивирования при 20% или 5% O₂ соответственно, ++ – $p \leq 0,01$ относительно клеток в аналогичной среде культивирования при 20% или 5% O₂ соответственно.

содержания кислорода с 20 и 5 до 1% жизнеспособность культивируемых клеток поддерживалась на достаточно высоком уровне и доля ММСК, окрашенных AnnV-PI⁺ и AnnV+PI⁺, значительно снижалась.

Определение содержания АФК в ММСК также не выявило достоверных различий между клетками, постоянно культивируемыми в условиях 20, 5 и 1% O₂ (рис. 1). Однако при этом наблюдалась тенденция к увеличению их содержания при пониженном содержании O₂ (1%) по сравнению с 20% O₂ и условиями, близкими к физиологическим (5% O₂). Сходные данные были получены в экспериментах на ММСК, выделенных из вартоновского желе пупочного канатика. Так, авторы работы [18] продемонстрировали, что данные клетки являются более чувствительными к сыворочной депривации, чем к парциальному напряжению кислорода в среде. В этой работе не было выявлено изменения содержания АФК при культивировании в условиях 21 и 2% O₂. Увеличение значений данного показателя наблюдалось только в условиях сыворочной депривации.

Снижение содержания глюкозы в среде на 72 ч приводило к достоверному увеличению продукции АФК клетками в два раза при 20% кислорода и в полтора раза – при 5% кислорода (рис. 2). В условиях пониженного содержания кислорода (1%) не было обнаружено достоверных различий с контрольной группой, однако наблюдалась тенденция к уменьшению продукции АФК.

Снижение содержания кислорода при действии глюкозной депривации сдерживало рост АФК. Значение данного параметра при изменении содержания кислорода от 20 до 1% составляло $73 \pm 7\%$ от количества АФК при 20% кислорода в условиях глюкозной депривации и $77 \pm 7\%$ при снижении уровня O₂ с 5 до 1% по сравнению с клетками в аналогичной среде при 5% O₂.

Нами было показано, что при длительном культивировании ММСК в условиях 5%-го содержания кислорода достоверного изменения экспрессии *HIF-1α* и *HIF-3α* не происходит, в то время как при 1% O₂ количество мРНК *HIF-1α* уменьшается, а экспрессия *HIF-3α* уве-

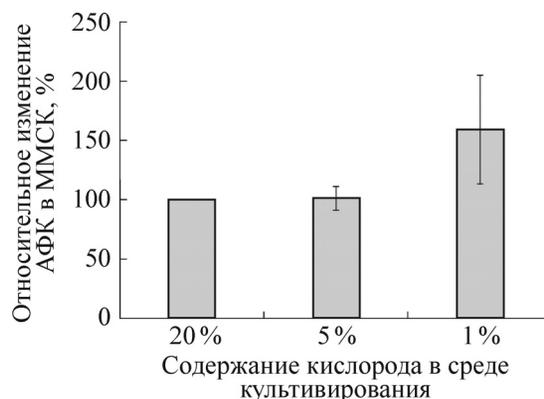


Рис. 1. Содержание АФК в ММСК при постоянном культивировании в среде с различным содержанием кислорода относительно клеток в 20% O₂. Данные представлены в виде $M \pm m$, $n = 4$.

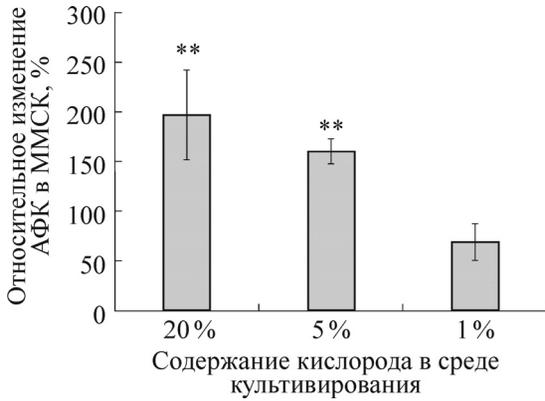


Рис. 2. Изменение количества АФК в ММСК при действии глюкозной депривации (72 ч) в среде с различным содержанием кислорода ($M \pm m$, $n = 4$); ** – $p \leq 0,01$ относительно клеток в контрольной группе в аналогичных по содержанию O_2 условиях.

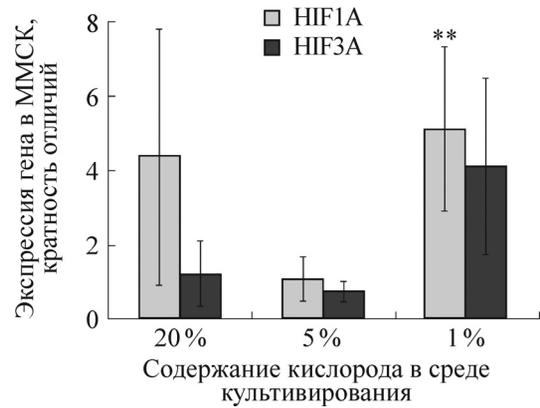


Рис. 4. Изменение экспрессии генов *HIF-1α* и *HIF-3α* в ММСК при действии глюкозной депривации (72 ч) в среде с различным содержанием кислорода ($M \pm m$, $n = 3$); ** – $p \leq 0,01$ относительно клеток в контрольной группе в аналогичных по содержанию O_2 условиях.

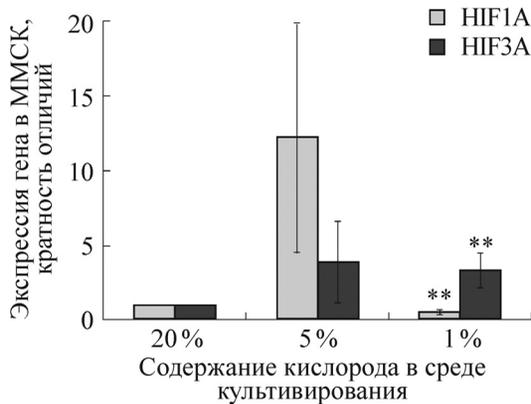


Рис. 3. Экспрессия генов *HIF-1α* и *HIF-3α* в ММСК при постоянном культивировании в среде с различным содержанием кислорода относительно клеток в 20% O_2 ($M \pm m$, $n = 3$); ** – $p \leq 0,01$ относительно клеток при 20% O_2 .

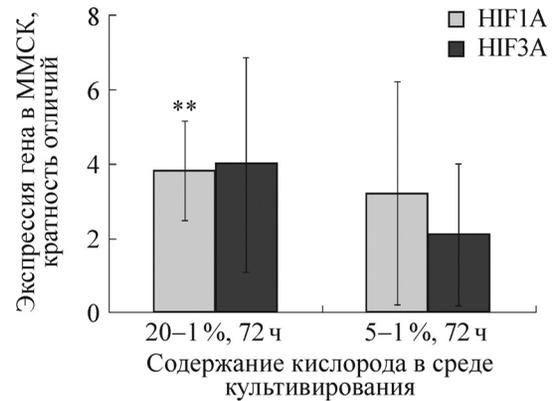


Рис. 5. Экспрессия генов *HIF-1α* и *HIF-3α* в ММСК при совместном действии глюкозной депривации и снижения содержания кислорода в среде ($M \pm m$, $n = 3$); ** – $p \leq 0,01$ относительно клеток в аналогичной среде культивирования при 20% O_2 .

личивается (рис. 3), что подтверждает ранее полученные данные [19].

Глюкозная депривация (72 ч) приводила к достоверному увеличению экспрессии *HIF-1α* только в клетках, постоянно культивируемых в 1% кислорода. При 20 и 5% кислорода наблюдалась тенденция к повышению количества мРНК данного гена. Достоверных различий в экспрессии *HIF-3α* во всех экспериментальных группах по сравнению с контролем не обнаружено (рис. 4).

В условиях глюкозной депривации при одновременном снижении содержания кислорода до 1% в ММСК, ранее культивируемых при 20% кислорода, в четыре раза увеличивалась экспрессия гена *HIF-1α* (рис. 5). В клетках, ранее культивируемых при 5% O_2 , наблюдалась

тенденция к увеличению количества мРНК *HIF-1α* и *HIF-3α*, однако достоверных различий не было.

В ходе данной работы была проведена оценка экспрессии генов-мишеней HIF, кодирующих ключевые ферменты энергетического обмена (*PKM2*, *PFKFB3*, *PFKFB4*). В контрольных группах клеток при стандартном содержании глюкозы нами не было обнаружено достоверной разницы в их экспрессии при 20, 5 и 1% кислорода (рис. 6).

При действии глюкозной депривации количество мРНК генов указанных ферментов активнее возрастало при низком содержании кислорода (рис. 7). В условиях 1% O_2 наблюдалось достоверное увеличение экспрессии *PFKFB3* в

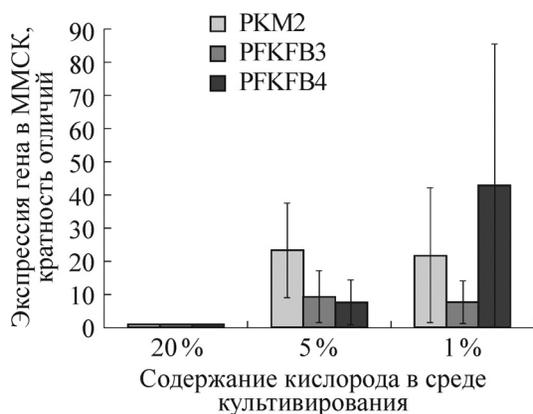


Рис. 6. Экспрессия генов, кодирующих ключевые ферменты энергетического обмена, в ММСК при постоянном культивировании в среде с различным содержанием кислорода относительно клеток в 20% O_2 ($M \pm m$, $n = 3$).

50 раз по сравнению с клетками в 20% кислорода. Вероятно, с этим фактом может быть связано обнаружение большего числа живых клеток по сравнению с ММСК в 20 и 5% кислорода.

Поддержанию жизнеспособности ММСК в условиях глюкозной депривации при снижении содержания кислорода может способствовать наблюдаемое увеличение экспрессии всех рассматриваемых ферментов. Так, снижение уровня кислорода с 20 до 1% привело к достоверному увеличению количества мРНК *PKM2* в два раза, *PFKFB3* – в 50 раз, *PFKFB4* – в семь раз (рис. 8). Изменение содержания кислорода с 5 до 1% сопровождалось достоверным увеличением экспрессии *PKM2* в три раза, *PFKFB3* – в 18 раз, *PFKFB4* – в 15 раз. Можно предположить, что исследуемые ферменты энергетического обмена ММСК принимают участие в поддержании жизнеспособности клеток в условиях критического уменьшения уровня глюкозы при одновременном значительном снижении содержания кислорода в среде.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные об отсутствии влияния пониженного уровня кислорода в среде на жизнеспособность клеток согласуются с ранее полученными результатами. В частности, показано, что ММСК из костного мозга сохраняют одинаковую жизнеспособность (порядка 86–90%) при постоянном культивировании в условиях 20 и 3% O_2 [20]. Также не было обнаружено значительных изменений доли живых клеток-предшественников при 2,0–2,5% кислорода [21]. В этом случае данный параметр

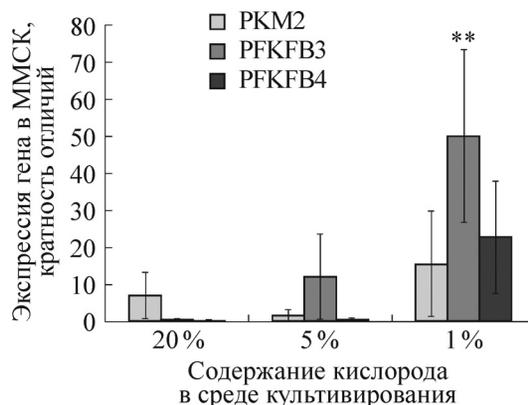


Рис. 7. Изменение экспрессии генов, кодирующих ключевые ферменты энергетического обмена, в ММСК при действии глюкозной депривации (72 ч) в среде с различным содержанием кислорода ($M \pm m$, $n = 3$); ** – $p \leq 0,01$ относительно клеток в контрольной группе в аналогичных по содержанию O_2 условиях.

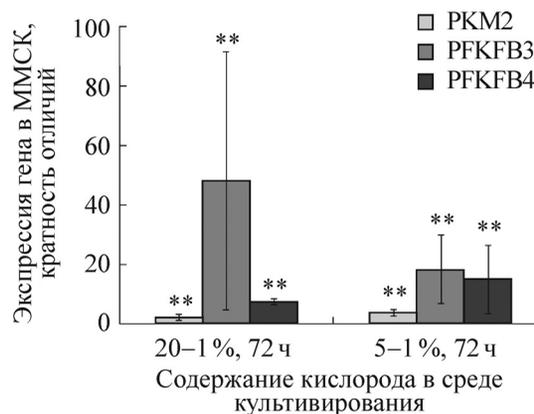


Рис. 8. Экспрессия генов, кодирующих ферменты энергетического обмена, в ММСК при совместном действии глюкозной депривации и снижения содержания кислорода в среде ($M \pm m$, $n = 3$); ** – $p \leq 0,01$ относительно клеток в аналогичной среде культивирования при 20% или 5% O_2 соответственно.

достигал 95,0–98,3% для ММСК из плаценты и 96,4–98,9% для костномозговых предшественников. Результаты проведенных нами экспериментов свидетельствуют о том, что не низкий уровень кислорода, а доступность глюкозы является лимитирующим фактором для поддержания жизнеспособности клеток в условиях моделируемой ишемии. При достаточном количестве глюкозы ММСК из костного мозга способны в течение длительного времени поддерживать жизнеспособность в условиях жесткой гипоксии [22]. Данные, касающиеся жизнеспособности ММСК из жировой ткани в условиях глюкозной депривации при изменяющемся уровне кислорода, были получены впервые и

хорошо соотносятся с результатами исследований [23] о снижении потребления глюкозы при гипоксическом preconditionировании и повышенной жизнеспособности клеток при последующем действии сывороточной депривации. В нашей лаборатории ранее было показано, что уменьшение концентрации кислорода приводит к снижению потребления клетками глюкозы, увеличению молярного соотношения La/Glu, что сопровождается увеличением экспрессии генов, кодирующих ферменты гликолитического пути катаболизма глюкозы [24].

Полученные в ходе работы данные о продукции АФК в условиях глюкозной депривации при разном содержании кислорода указывают на то, что снижение окислительного фосфорилирования и использование для генерации АТФ преимущественно гликолиза приводит к сокращению образования АФК [25,26].

В настоящее время большое внимание уделяется выяснению функций транскрипционных факторов семейства HIF, в состав которых входят разные α -субъединицы. Во многих типах клеток активно изучается роль HIF-1 α и HIF-2 α , имеющих как общие, так и специфические гены-мишени [27]. На клетках нейробластомы показано, что HIF-1 α активируется в течение короткого временного промежутка (2–24 ч) при действии жестких условий гипоксии (< 0,1% O₂), в то время как HIF-2 α пролонгированно (48–72 ч) действует в условиях 5% O₂ [28]. При этом довольно мало известно о HIF-3 α , хотя отмечается, что один из продуктов его альтернативного сплайсинга является ингибитором HIF-1 α [29]. Как было показано нами, при длительном культивировании ММСК в условиях пониженного содержания кислорода происходит уменьшение экспрессии HIF-1 α , в то время как экспрессия HIF-3 α повышается. Однако, по-видимому, в процессах адаптации ММСК к низкому содержанию глюкозы HIF-3 α не участвует. Можно предположить, что за адаптацию клеток к данному параметру отвечает продукт гена HIF-1 α , экспрессия которого активируется при низком значении содержания кислорода. Важная роль HIF-1 α при действии на клетки глюкозной депривации также была установлена на культуре астроцитов и на клетках рака толстой кишки [30,31].

Таким образом, культивирование в условиях снижения содержания кислорода способствует поддержанию жизнеспособности ММСК при действии глюкозной депривации, а также сдерживает рост внутриклеточных АФК. Результаты экспериментов позволяют предположить, что сохранение жизнеспособности ММСК в усло-

виях глюкозной депривации при одновременном снижении содержания кислорода до 1% может быть обусловлено действием кислород-зависимого транзиторного увеличения уровня HIF-1 α , которое было показано нами ранее при исследовании экспрессии генов в условиях гипоксии [19]. Кроме того, в отличие от клеток, постоянно культивируемых при 1% кислорода, краткосрочное снижение содержания кислорода с 20 до 1% приводило к большему увеличению количества мРНК генов *LEP* и *MT3*. Известно, что лептин участвует в энергетическом обмене и проявляет ангиогенные свойства, а важную роль в повышении его транскрипционной активности играет HIF-1 [32,33]. Металлотионин 3, продукт которого вовлечен в процессы хелатирования металлов, клеточной пролиферации и апоптоза, как показали результаты нашей работы, является особо чувствительным компонентом системы ответа на снижение содержания кислорода ММСК и также регулируется HIF-1 [34,35]. Увеличение экспрессии генов-мишеней данного транскрипционного фактора, продукты которых являются ключевыми ферментами гликолиза (*PKM2* – пируваткиназа, преобразующая фосфоенолпируват в пируват, *PFKFB3* и *PFKFB4* – две изоформы бифункционального фермента 6-фосфофруктокиназы-2/фруктозо-2,6-дифосфатазы, отвечающего за фосфорилирование фруктозо-6-фосфата), позволяет клетке поглощать глюкозу из среды в меньшем количестве при выработке достаточного количества АТФ для поддержания жизнеспособности в условиях гипоксии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-34-01336 мол_а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. Al-Khaldi, H. Al-Sabti, and J. Galipeau, Ann. Thorac. Surg. **75**, 204 (2003).
2. M. F. Pittenger and B. J. Martin, Circ. Res. **95**, 9 (2004).
3. T. Iwasea, N. Nagayaa, T. Fujii, et al., Cardiovasc. Res. **66**, 543 (2005).
4. H. Nakagami, K. Maeda, R. Morishita, et al., Arteriosclerosis Thrombosis Vasc. Biol. **25**, 2542 (2005).
5. M. H. Moon, S. Y. Kim, Y. J. Kim, et al., Cell Physiol. Biochem. **17**, 279 (2006).
6. F. Dazzi, R. Ramasamy, S. Glennie, et al., Blood Rev. **20**, 161 (2006).
7. Л. Б. Буравкова, Е. Р. Андреева и А. И. Григорьев, Физиология человека **38** (4), 121 (2012).
8. X. Wei, X. Yang, Z.-P. Han, et al., Acta Pharmacol. Sin. **34**, 747 (2013).

9. L. Buravkova, E. Andreeva, V. Gogvadze, et al., *Mitochondrion* **19**, 105 (2014).
10. C. Toma, M. F. Pittenger, K. S. Cahill, et al., *Circulation* **105**, 93 (2002).
11. G. Ambrosio, J. L. Zweier, C. Duilio, et al., *J. Biol. Chem.* **268** (25), 18532 (1993).
12. T. Vanden Hoek, L. B. Becker, Z. H. Shao, et al., *Circ. Res.* **86**, 541 (2000).
13. M. H. Theus, L. Wei, L. Cui, et al., *Exp. Neurol.* **210** (2), 656 (2008).
14. K. M. Peterson, A. Aly, A. Lerman, et al., *Life Sci.* **88**, 65 (2011).
15. P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno, et al., *Tissue Eng.* **7** (2), 211 (2001).
16. Л. Б. Буравкова, О. С. Гринаковская, Е. Р. Андреева и др., *Цитология* **51** (1), 5 (2009).
17. B. Kozera and M. Rapacz, *J. Appl. Genet.* **54** (4), 391 (2013).
18. D. Majumdar, R. Bhonde, and I. Datta, *Placenta* **34** (8), 642 (2013).
19. М. В. Погодина и Л. Б. Буравкова, *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **159** (3), 333 (2015).
20. C. Fehrer, R. Brunauer, G. Laschober, et al., *Aging Cell* **6** (6), 745 (2007).
21. S. A. Mathew, S. Rajendran, P. K. Gupta, et al., *Cell. Biol. Int.* **37** (11), 1197 (2013).
22. M. Deschepper, K. Oudina, B. David, et al., *J. Cell. Mol. Med.* **15**, 1505 (2011).
23. J. Beegle, K. Lakatos, S. Kalomoiris, et al., *Stem Cells* **33** (6), 1818 (2015).
24. Л. Б. Буравкова, Ю. В. Рылова, С. В. Гальчук и др., в кн. *Стволовые клетки и регенеративная медицина*, под ред. В. А. Ткачука (МаксПресс, Москва, 2010), сс. 113–130.
25. T. Simsek, F. Kocabas, J. Zheng, et al., *Cell Stem Cell* **7**, 380 (2010).
26. C. D. Folmes, T. J. Nelson, A. Martinez-Fernandez, et al., *Cell Metab.* **14**, 264 (2011).
27. M. Y. Koh and G. Powis, *Trends Biochem. Sci.* **37** (9), 364 (2012).
28. L. Holmquist-Mengelbier, E. Fredlund, T. Lofstedt, et al., *Cancer Cell* **10**, 413 (2006).
29. Y. Makino, A. Kanopka, W. J. Wilson, et al., *J. Biol. Chem.* **277** (36), 32405 (2002).
30. S. Wei, J. Tong, Q. Xue, et al., *J. Mol. Neurosci.* **61** (1), 115 (2017).
31. A. Nishimoto, N. Kugimiya, T. Hosoyama et al., *Int. J. Oncol.* **44** (6), 2077 (2014).
32. G. Ambrosini, A. K. Nath, M. Sierra-Honigmann, et al., *J. Biol. Chem.* **277** (37), 34601 (2002).
33. B. Wang, I. S. Wood, and P. Trayhurn, *J. Endocrinol.* **198** (1), 127 (2008).
34. M. Ivan, K. Kondo, H. Yang, et al., *Science* **292**, 464 (2001).
35. P. Jaakkola, D. R. Mole, Y. M. Tian, et al., *Science* **292**, 468 (2001).

Resistance of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells to the Effect of Glucose Deprivation in Reduced Oxygen Conditions

M.V. Lobanova, A.Yu. Ratushnyy, M.I. Ezzakova, and L.B. Buravkova

Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Khoroshevskoe shosse 76a, Moscow, 123007 Russia

This study addresses the effect of glucose deprivation on multipotent mesenchymal stromal cells. It is shown that culturing the cells when oxygen concentration decreases to 1% contributes to the maintenance of cell viability and inhibits the growth of intracellular reactive oxygen species. Viability of multipotent mesenchymal stromal cells in these conditions may be due to oxygen-dependent transient increase in the level of hypoxia-inducible factor (HIF-1 α) and expression of target genes of this transcription factor, the products of which are the key enzymes of glycolysis.

Keywords: multipotent mesenchymal stromal cells, hypoxia, glucose deprivation, reactive oxygen species, gene expression