

ВЛИЯНИЕ МИКРОВЕЗИКУЛ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА СПОНТАННЫЙ И ИНДУЦИРОВАННЫЙ АПОПТОЗ ЛИМФОЦИТОВ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС *IN VITRO*

Клименкова О.В.¹, Потапнев М.П.¹, Гончарова Н.В.¹, Куделич О.А.²

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий трансфузиологии и медицинских биотехнологий», Минск, Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

oks.klimenkovaaa@gmail.ru

Введение. За последние годы регенеративная медицина обогатилась новыми лечебными технологиями на основе мезенхимальных стромальных клеток (МСК). Некоторые исследования предполагают, что внеклеточные микровезикулы МСК (МВ МСК) могут опосредовать их терапевтическую эффективность за счет мембранного и горизонтального переноса различных протеинов, РНК [1].

Цель настоящего исследования заключалась в оценке действия МВ МСК крыс на спонтанный и индуцированный апоптоз лимфоцитов селезенки крыс *in vitro*.

Материалы и методы. Для получения МВ культуру МСК костного мозга крысы 2-го пассажа переводили на 48 часов в бессывороточную среду. Кондиционную среду центрифугировали 20 мин при 3000 об/мин. при +4°C для удаления клеток и клеточного дебриса. Супернатант, содержащий МВ, собирали, добавляли фильтрованный через шприцевой фильтр с порами 0,2 мкм фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ) для отмывки и концентрировали в 10 раз трехкратным центрифугированием при 14 500g в течение 30 минут при температуре +4°C. Лимфоциты получали путем гомогенизации селезенки здоровых крыс. Клетки в концентрации 1 млн/мл культивировали в течение 72 часов в присутствии МВ МСК в концентрации 5% и 10% в полной питательной среде (ППС) RPMI-1640 с 5% фетальной бычьей сыворотки. Для индукции апоптоза использовали форбол миристат ацетат (ФМА). В качестве контроля уровня спонтанного апоптоза культивировали спленоциты крыс в ППС. Уровень апоптоза лимфоцитов оценивали по включению 7-AAD и связыванию с Annexin-V. Ранние апоптотические клетки подсчитывали как AnV⁺/7-AAD⁻, клетки в стадии позднего апоптоза – как AnV⁺/7-AAD⁺.

Результаты и обсуждение. Подлинность МВ МСК крысы оценивали по степени экспрессии CD90 и CD45 на поверхности мембран везикул. Количество CD90⁺/CD45⁻ МВ в полученной фракции составило 73,1–97,4%. В серии проведенных экспериментов (n=8), показано, что внесение в инкубационную среду МВ МСК крыс вызывало снижение количества интактных лимфоцитов в стадии позднего апоптоза в присутствии 5% и 10% МВ МСК в 1,5 (p > 0,05) и 3,6 (p = 0,03) раза соответственно. Эффект МВ МСК был более выражен в культурах ФМА-активированных лимфоцитов – в присутствии 5% и 10% МВ МСК количество лимфоцитов в стадии позднего апоптоза составило 7,6±5,1% и 6,9±5,1% соответственно, что в 4,75 и 5,2 раза ниже, чем в контрольных образцах (p < 0,05). Уровень лимфоцитов в стадии раннего апоптоза (интактных или ФМА-индуцированных) не изменялся в присутствии 5% и 10% МВ МСК.

Вывод. Показано, что МВ МСК обладают выраженным витальным действием в отношении интактных и ФМА-активированных лимфоцитов за счет снижения количества клеток, находящихся в стадии позднего апоптоза.

Литература

1. Mohammadi M.R. Isolation and characterization of microvesicles from mesenchymal stem cells / Mohammadi M.R., Riazifar M., Pone E.J. // Methods, 2020. – 177:50–57.



Институт биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси



НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ
НАН БЕЛАРУСИ

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ, ИММУНОЛОГИИ И АЛЛЕРГОЛОГИИ

**Тезисы докладов
IV Международной научной конференции**

Республика Беларусь, Минск, 21–22 ноября 2024 г.

Научное электронное издание

Минск
«Колорград»
2024