

сыворотки до 1% в течение 7 дней не влияло на уровень секреции VEGF в МСК, но снижало жизнеспособность клеток в сфероидах. Противоопухолевый препарат доксорубин незначительно повышал секрецию VEGF в 2D культурах МСК и не влиял на секрецию в сфероидах. Рекомбинантный VEGF улучшал жизнеспособность МСК, обработанных доксорубином.

МСК, культивируемые в сфероидах могут быть предпочтительней, чем монослойные для терапевтического ангиогенеза, так как под действием эндогенных факторов секреция VEGF в них выше и стабильнее. Однако у пациентов с опухолевыми заболеваниями индукция VEGF может играть негативную роль, вызывая неоваскуляризацию опухолей.

*Работа была поддержана Российским научным фондом (проект 19-14-00108).*

### **ВЛИЯНИЕ МЕТАБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**Екатерина Петровна Колеватых**

*ФГБОУ ВО Кировский государственный медицинский университет, Киров, Россия*

hibica@mail.ru

Несмотря на широкое применение пробиотиков — препаратов, изготовленных из живых представителей нормальной микрофлоры организма человека, неуклонно возрастает заболеваемость населения, связанная с дисбалансом состояния микробиоты. Цель исследования заключалась в установлении влияния иммунобиологических метабиотических препаратов бактериального происхождения на микробиологические, иммунологические, биохимические показатели при регенеративных процессах экспериментальных животных. Разработаны методики получения метабиотического препарата из пробиотического штамма *Lactobacillus acidophilus* и изучены биологические свойства метаболитов. Проведен сравнительный анализ микробного статуса кишечника, полости рта экспериментальных животных при применении пробиотических и метабиотических иммунобиологических препаратов при регенеративных процессах. Изучена динамика изменения содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, сывороточных иммуноглобулинов класса А, М, G, Е, секреторного IgA, фагоцитарной активности нейтрофилов макроорганизма при употреблении пробиотических и метабиотических препаратов. Объектом исследования служили штаммы *Lactobacillus acidophilus*, из которых был получен препарат на основе продуктов метаболизма лактобактерий. Под наблюдением находились 200 лабораторных животных — белых беспородных мышей с дефектами кожи и подкожно-жирового слоя. Установлено, что при местном воздействии метаболитов бактерий, а также одновременном пероральном введении биологически активных веществ пробиотиков, увеличивается количество противовоспалительных цитокинов, повышается уровень секреторного иммуноглобулина класса А, бактерицидная и фунгицидная активность.

Таким образом, научно обоснована и экспериментально доказана необходимость наиболее эффективного и безопасного восстановления собственной (индигенной) микробиоты макроорганизма путём использования пребиотиков и метабиотиков, а также их композиций — метапребиотиков согласно предварительного определения уровня продуктов обмена аутофлоры каждого индивидуума.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ЗНАЧИМОСТИ МАРКЕРА CD133 В ПРОЛИФЕРАТИВНОМ ПОТЕНЦИАЛЕ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ И ПОИСК ПУТЕЙ УПРАВЛЕНИЯ ПРОЛИФЕРАЦИЕЙ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКОЙ ЭТИХ КЛЕТОК**

**В.А. Колесникова<sup>1,2</sup>, Н.С. Самойленкова<sup>3</sup>, Е.А. Савченко<sup>3</sup>, С.Р. Дрозд<sup>3</sup>, А.В. Ревущин<sup>1</sup>, Г.В. Павлова<sup>1,4,5</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН «Институт Биологии Гена РАН», Москва, Россия;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>3</sup> ООО «Апто-фарм», Москва, Россия;

<sup>4</sup> ФГАУ «НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>5</sup> Институт молекулярной медицины, ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия

Barbara-1402@yandex.ru

Глиобластома — злокачественная первичная опухоль головного мозга, которая является неизлечимой на данный момент времени и поэтому требует особенного внимания со стороны исследователей. Перспективным направлением является применение клеточных и молекулярно-генетических методов.

**Целью** работы является изучение роли поверхностного маркера CD133 клеток глиобластомы человека в их пролиферативном потенциале и исследование возможности управления пролиферацией и дифференцировкой этих клеток.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовались частично перевиваемые культуры, полученные из клеток глиобластомы человека (5 образцов) по разработанной в лаборатории методике. Для RT-PCR использовались панель, состоящую из онкомаркеров (CDK4, CDK6, EGFR, FGFR, FSHR, MAP2, MDM2, MELK, Olig2, PDGF, PDGFR) и маркеров стволовости (bIII-tubulin, Nestin, Nanog, Notch2, Oct4, SOX2). Клетки в культурах проходили 5 пассажей, после чего они криоконсервировались.

С целью остановки разрастания опухоли на клеточные культуры глиобластомы человека одновременно воздействовали блокаторами пролиферации (смесь аптамеров VEGF, as1411 и r-21) и индукторами нейтральной дифференцировки (ретиноевая кислота (RA), интерлейкин 6 (IL6), GDNF). Культуры исследовали на 10 (RT-PCR, МТТ-тест) и 20 день (МТТ-тест) после воздействия дифференцировочного фактора.

**Результаты.** При проведении анализа экспрессии маркера CD133, характерного и нормальным, и опухолевым стволовым клеткам, обнаружено, что в образце Г2 экспрессия CD133 была повышена. При использовании смеси аптамеров и IL6 наблюдалось значительное снижение пролиферации до 25%, при этом увеличивалась экспрессия PDGFRa. Все три комбинации снижают экспрессию CDK6, EGFR и повышают экспрессию CDK4, PDGFB. Комбинация RA с IL6 снижают экспрессию FSHR. При использовании всех комбинаций увеличивалась экспрессия GFAP и bIII-tubulin, снижалась экспрессия Oct4, что говорит о вероятности сдвига состояния клеток в сторону нейтральной дифференцировки. При использовании аптамеров с IL6 снижалась экспрессия CD133, что не наблюдалось в других случаях.

**Выводы.** Полученные данные говорят о возможности управления пролиферативным и дифференциальным потенциалом опухолевых клеток глиобластомы. Можно утверждать, опираясь на этот эксперимент, что

комбинация антипролиферативных аптамеров и IL6 может быть эффективна для снижения пролиферации опухлевых клеток глиобластомы человека.

Планируется проведение экспериментов с CD133<sup>+</sup> и CD133<sup>-</sup> культурами клеток глиобластомы человека.

### **ДИНАМИКА ЯДЕРНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА FOXP3 В CD4<sup>+</sup> ЛИМФОЦИТАХ И СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ МОНОЦИТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА**

**Ирина Вячеславовна Кологривова<sup>1,2</sup>, Татьяна Евгеньевна Суслова<sup>1</sup>, Вячеслав Валерьевич Рябов<sup>1,2</sup>, Марина Александровна Штатолкина<sup>1</sup>, Оксана Александровна Трубачева<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> НИИ кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия

ikologrivova@gmail.com

Воспаление является неотъемлемым компонентом ремоделирования и регенерации ткани сердца после инфаркта миокарда (ИМ). Моноциты играют важную роль при постинфарктном ремоделировании. Известно, что их функция контролируется FoxP3<sup>+</sup> T-регуляторными лимфоцитами. При этом экспрессия фактора FoxP3 показана и в нерегуляторных CD4<sup>+</sup> клетках, в которых он снижает TCR-опосредованный сигналинг.

Целью исследования стало изучение экспрессии транскрипционного фактора FoxP3 в CD4<sup>+</sup>-лимфоцитах во взаимосвязи с субпопуляционным составом моноцитов после острого первичного переднего инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST.

Мононуклеарные лейкоциты периферической крови пациента были выделены на 1, 3, 7 и 30 сутки после острого первичного переднего инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST. Во фракции мононуклеаров оценивали содержание CD14<sup>++</sup>CD16<sup>lo</sup>, CD14<sup>++</sup>CD16<sup>hi</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>hi</sup> моноцитов, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>FoxP3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>lo</sup>FoxP3<sup>+</sup> лимфоцитов и ядерную локализацию фактора FoxP3 методом проточной цитометрии с визуализацией.

Мы наблюдали увеличение содержания CD14<sup>++</sup>CD16<sup>hi</sup> моноцитов с 9,97% (1 сутки) до 27,6% (7 сутки) и CD14<sup>+</sup>CD16<sup>hi</sup> моноцитов с 4,71% (1 сутки) до 11,1% (7 сутки) от общего содержания моноцитов; содержание CD14<sup>++</sup>CD16<sup>lo</sup> моноцитов снижалось с 85% (1 сутки) до 61% (7 сутки). Через месяц мы выявили 82,2% CD14<sup>++</sup>CD16<sup>lo</sup>, 8,57% CD14<sup>++</sup>CD16<sup>hi</sup> и 8,97% CD14<sup>+</sup>CD16<sup>hi</sup> моноцитов. Содержание CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>FoxP3<sup>+</sup> лимфоцитов изменялось незначительно: 6,83% (1 сутки); 6,69% (3 сутки); 6,44% (7 сутки); 5,51% (30 сутки) от всех CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, и сопровождалось увеличением уровня транслокации FoxP3 в ядро (с 83,5% (1 сутки) до 88,4% (30 сутки)). В то же время, мы выявили волнообразную динамику содержания CD4<sup>+</sup>CD25<sup>lo</sup>FoxP3<sup>+</sup> лимфоцитов (2,81% (1 сутки); 2,50% (3 сутки); 3,06% (7 сутки); 2,13% (30 сутки)), что сопровождалось резким снижением уровня транслокации FoxP3 в ядро в этих клетках (с 57,4% (1 сутки) до 35,7% (7 сутки)).

Выявленное изменение содержания FoxP3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов (особенно мало изученной на сегодняшний день субпопуляции CD4<sup>+</sup>CD25<sup>lo</sup>FoxP3<sup>+</sup>) после острого

ИМ свидетельствует об их вовлеченности в регуляцию воспаления, сопровождающего процессы регенерации ткани сердца. Однонаправленная динамика ядерной транслокации FoxP3 и субпопуляций моноцитов позволяет предположить, что FoxP3<sup>+</sup> T-лимфоциты вносят вклад в модуляцию моноцитарной функциональной активности. Дальнейшие исследования могут способствовать разработке новых подходов управления процессами ремоделирования ткани сердца после ИМ.

### **C2C12 КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ДЕГЕНЕРАЦИИ МЫШЕЧНОГО ВОЛОКНА ПРИ ЛАМИНОПАТИЯХ**

**Мargarита Юрьевна Комарова<sup>1,2</sup>, Оксана Алексеевна Иванова<sup>1,3</sup>, Елена Владимировна Игнатьева<sup>1</sup>, Рената Игоревна Дмитриева<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup> Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

komarovamy96@yandex.ru

**Введение.** Механизм дегенерации мышечной ткани остается актуальной темой для исследователей. Активация этого процесса происходит во многих заболеваниях, например, при ламинопатиях. Эти заболевания характеризуются широким спектром нервно-мышечных, сердечных и метаболических нарушений. В нашем исследовании мы сосредоточились на мутациях, вызывающих аутосомно-доминантную мышечную дистрофию Эмери-Дрейфуса (G232R) и семейную частичную липодистрофию (R482L). Целью нашей работы является создание модели ламинопатий на основе клеточной линии C2C12 и изучение механизмов дегенерации мышечной ткани.

**Методы.** С помощью сайт-специфического мутагена были сделаны плазмиды, несущие кДНК ламина А человека с мутациями, приводящими к мышечной дистрофии Эмери-Дрейфуса (G232R) и липодистрофии (R482L). Далее была проведена трансформация мутантными плазмидами E. coli для наработки плазмидной ДНК. Полученную плазмидную ДНК проверяли секвенированием по Сенгеру. Далее плазмиды использовались для сборки лентивируса, содержащего мутантные варианты кДНК ламина. После этого вирусом заражали клеточную линию миобластов мыши C2C12. Эффективность заражения оценивали иммуноцитохимическим окрашиванием антителами к ламину человека. Уровень мРНК генов интереса оценивался методом qPCR, а уровень белка — Вестер-блоттинг.

**Результаты.** В клетках C2C12, несущих мутации, мы не увидели смену типа мышечных волокон с медленных (MYH7) на быстрые (MYH1) после индукции миогенной дифференцировки. В то же время, мы наблюдали повышение уровня мРНК транскрипционного фактора MYOG, регулирующего миогенез, и эмбрионального миозина MYH3 при мутации R482L по сравнению с диким типом. В то же время уровень мРНК и белка быстрых и медленных миозинов рос в течение мышечной дифференцировки по сравнению с диким типом. Возможно, это указывает на развитие мышечных волокон в ответ на нарушения, вызванные мутациями. Также выявленный нами пониженный уровень мРНК гена DES может указывать на вызванные мутациями проблемы в цитоскелете клеток, что приводит к нарушениям в слиянии миобластов. На это указывает и пониженный уровень мРНК гена