

## Секция «Фундаментальная медицина»

**Ангиогенный и антифибротический эффект комбинированной генной терапии факторами VEGF165 и HGF на модели инфаркта миокарда у крыс. Продукция молекул воспаления клетками эндотелия человека под действием VEGF165 и HGF.**

*Галлингер Ю.О.<sup>1</sup>, Глуханюк Е.В.<sup>2</sup>*

*1 - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, 2 - Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия*

*E-mail: julling92@gmail.com*

Актуальность:

Монофакторная генная терапия ИБС и ХИМК в крупных двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях продемонстрировала неудовлетворительные результаты. Применение комбинации генов факторов роста - потенциальный путь к повышению эффективности. Целью данного исследования является изучение эффективности генной терапии факторами VEGF165 и HGF на ангиогенез в ишемизированном миокарде крыс, а также влияние данных факторов на продукцию эндотелием человека хемокинов, участвующих в регуляции ангиогенеза и воспаления.

Материалы и методы:

Опыты *in vivo*, крысиная модель инфаркта миокарда и гистологический анализ:

В работе использована линия крыс Wistar. После перевязки левой коронарной артерии по краю развивающегося инфаркта миокарда вводился раствор либо одиночных плазмид VEGF165 и HGF, либо их комбинация (в качестве отрицательного контроля PBS; в дозе по 250 мкг/250 мл физиологического раствора при использовании одиночных плазмид и в дозе 250 мкг+250 мкг/250 мл физиологического раствора при использовании комбинации плазмид). На 14 сутки животные умерщвлялись, производилась препаровка сердца и изготовление гистологических препаратов, которые окрашивались по Маллори (для оценки площади постинфарктного фиброза) и на CD31+ (для оценки плотности капилляров в миокарде левого желудочка).

Биоинформатическое моделирование и анализ транскриптома:

Анализ транскриптомного профиля производился с помощью программного обеспечения Metacore™. Доступ к программе любезно предоставлен Лабораторией биоинформатики ФНКЦ ДОГИ им. Дмитрия Рогачева. Исходные данные взяты из статьи Gerritsen M.E. et al.

Клеточные культуры и эксперименты *in vitro*:

Линейные клетки TIME или HUVEC высаживались на 6-луночный планшет и при достижении 80% плотности проводилась стимуляция клеток VEGF с концентрацией 25 нг/мл, HGF с концентрацией 25 нг/мл и их комбинацией (в концентрации по 12,5 нг/мл каждого или по 25 нг/мл каждого). Далее клетки инкубировались при стандартных условиях 20 часов, после чего культуральные среды собирались и замораживались, а клетки лизировались. Концентрация белков IL-8, IL-6 и MCP-1 в собранной среде определялась с помощью ИФА. Клеточный лизат использовали для проведения вестерн-блота и определения содержания фосфорилированной формы регуляторного белка IKK (pIKK).

Выводы:

1. Генная терапия комбинацией VEGF и HGF позволяет к 14-му дню добиться значимого увеличения плотности капилляров в ишемизированном миокарде. Антифибротическое действие было показано только для VEGF и его комбинации с HGF, однако аддитивности эффектов не наблюдалось.

2. На культуре клеток эндотелия нами было показано уменьшение продукции IL-6 и MCP-1 под влиянием комбинации VEGF и HGF, однако для IL-8 наблюдалась противоположная динамика – максимальное содержание IL-8 выявлено в среде, собранной через 20 часов после стимуляции комбинацией VEGF и HGF.

3. При анализе активности регуляторного цикла NF-κB выяснилось, что HGF способен уменьшать его VEGF-опосредованную стимуляцию, что соотносится с данными по продукции MCP-1 и IL-6. Для IL-8 в нашем случае наиболее рациональным является предположение о существовании альтернативного механизма регуляции, который вносит существенный вклад в продукцию IL-8 помимо каскада NF-κB.

### **Литература**

1. Gerritsen M.E. et al. Using gene expression profiling to identify the molecular basis of the synergistic actions of hepatocyte growth factor and vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. // Br. J. Pharmacol. 2003. Vol. 140, № 4. P. 595–610.

### **Слова благодарности**

Авторы выражают огромную признательность научному руководителю- Макаревичу П.И. за мудрое руководство проектом и терпение, Жаворонкова А.А. за любезно предоставленный доступ к биоинформатической программе, руководителю лаборатории Ангиогенеза Парфеновой Е.В. и уважаемому декану нашего факультета Ткачуку В.А.