

Исследование ангиогенного потенциала плазмиды, кодирующей гены фактора стромальных клеток и сосудистого эндотелиального фактора роста человека

Научный руководитель – Ризванов Альберт Анатольевич

Соловьева Валерия Владимировна

Кандидат наук

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

E-mail: solovyovavv@gmail.com

Фактор стромальных клеток 1α (SDF- 1α) и сосудистый эндотелиальный фактор роста 165 (VEGF165) играют важную роль в ангиогенезе и выполняют трофическую функцию. SDF- 1α является хемоаттрактантом для эндотелиальных клеток-предшественников из костного мозга через CXCR4-зависимый механизм и способствует формированию новых кровеносных сосудов. VEGF165 обладает нейротрофическими, нейротрофическими и про-ангиогенными свойствами. В настоящее время активно исследуется возможность применения данных факторов роста для регенеративной медицины.

В настоящем исследовании проанализирован ангиогенный потенциал плазмиды pBud(Kan)-VEGF165-SDF- 1α , одновременно экспрессирующей VEGF165 и SDF- 1α . Для исследования ангиогенного потенциала использовали кондиционированную среду мезенхимных стволовых клеток, выделенных из жировой ткани человека (МСК-ЖТ) и HEK293T, трансфицированных плазмидой pBud(Kan)-VEGF165-SDF- 1α . Экспрессия рекомбинантных белков VEGF165 и SDF- 1α в трансфицированных клетках была подтверждена иммунофлуоресцентным анализом, ИФА и иммуноблоттингом.

Было показано, что кондиционированная среда клеток HEK293T, трансфицированных плазмидой pBud(Kan)-VEGF165-SDF- 1α стимулирует формирование капилляро-подобных структур эндотелиальными клетками из пупочной вены человека HUVEC на Матригеле *in vitro*.

Также проведен анализ пролиферативной активности клеток HUVEC при культивировании с добавлением 30% кондиционированной среды клеток HEK293T, трансфицированных плазмидой pBud(Kan)-VEGF165-SDF- 1α . Методом MTS-теста показано, что кондиционированная среда трансфицированных клеток HEK293T на 30% повышает пролиферативную активность клеток HUVEC по сравнению с нетрансфицированными клетками. Уровень продукции цитокинов/хемокинов INF- γ , IL- 1β , IL-2, IL-8, IL-10, IL-12, MCP-1 оценивали на мультиплексном анализаторе Luminox200 с использованием микросфер MILLIPLEX MAP. Концентрации аналитов были рассчитаны с использованием стандартной кривой, с помощью программного обеспечения Luminox IS 2.3. Было показано, что генетическая модификация МСК-ЖТ плазмидой pBud(Kan)-VEGF165-SDF- 1α приводила к значительному повышению концентрации IL-8 (10814 пг/мл) и MCP-1 (23812 пг/мл) в культуральной среде по сравнению с нетрансфицированными клетками (1588 и 4954,5 пг/мл). IL-8 известен как сильный индуктор ангиогенеза. По литературным данным рекомбинантный IL-8 стимулирует выживание и пролиферацию клеток HUVEC, а также продукцию матриксных металлопротеиназ MMP-2 и 9. MCP-1-индуцированный ангиогенез опосредуется через каскад реакций с участием VEGF165 и активацией белка RhoA. Этим можно объяснить повышение уровня MCP-1 в культуральной среде генетически модифицированных МСК-ЖТ.

Таким образом, плазида pBud(Kan)-VEGF165-SDF- 1α проявляет ангиогенные свойства в культуре клеток *in vitro*. В связи с большим интересом к разработке невирусных

технологий для регенеративной медицины, данная плазмида, одновременно экспрессирующая VEGF165 и SDF-1 α может лечь в основу новых методов стимуляции терапевтического ангиогенеза.