

## Изучение нейропротективных свойств кондиционированной культуральной среды на модели геморрагического инсульта

Научный руководитель – Карагяур Максим Николаевич

*Джауари С.С.<sup>1</sup>, Скрыбина М.Н.<sup>2</sup>, Efimenko A.Y.<sup>3</sup>*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: Stalik.djauari@yandex.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: skrebbka@gmail.com*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: efimenkoan@gmail.com*

### Введение

Геморрагические инсульты составляют всего 15% от общего числа сосудистых катастроф головного мозга, однако они характеризуются тяжелым течением и отсутствием эффективного специфического лечения. Излившаяся кровь сдавливает окружающие ткани и нарушает трофику нервной ткани. Продукты распада гемоглобина и выброс глутамата оказывают токсическое действие на нейроны в зоне повреждения, а фибрин повреждает нервные волокна и препятствует их восстановлению, вызывает воспаление и фиброз. Все это приводит к быстрому разрастанию первичного очага повреждения, массовой гибели нейральных клеток, что в перспективе может привести к дисфункции мозга или летальному исходу.

Современное понимание патологических механизмов геморрагического инсульта позволяет предположить, что протекция нейральных клеток, подавление воспаления и удаление фибрина будут препятствовать расширению первичного очага повреждения. Такой комплексный эффект может быть обеспечен только сочетанием белковых факторов. В данном исследовании мы на животной модели геморрагического инсульта изучили и сравнили эффективность применения кондиционированной среды, собранной с мезенхимных стромальных клеток и с линии НЕК293, экспрессирующих BDNF и uPA человека.

### Материалы и методы

Для моделирования геморрагического инсульта использовали описанную ранее животную модель. Экспериментальным животным после трепанации черепа в область внутренней капсулы в левом полушарии вводили 20 мкл аутологичной крови. После крови вводили 20 мкл физиологического раствора («К») или концентрированной кондиционированной среды (соответственно, «НЕК» и «MSC») - по 10 крыс в группе. У крыс оценивали выживаемость, неврологический статус по Stroke-index McGrow, объем повреждения головного мозга с помощью MRI и гистологической окраски срезов мозга.

Для выяснения потенциальных механизмов терапевтического влияния кондиционированных сред было проведено *in vitro* исследование на линии нейробластомы человека SH-SY5Y.

### Результаты

В группе животных «НЕК», где в область геморрагического инсульта вводили кондиционированную среду, собранную с линии НЕК293 и содержащую 3 мкг/мл BDNF и 230 нг/мл uPA, фиксировали 100% выживание экспериментальных животных (в контроле - 80%), достоверно менее выраженные неврологические нарушения и меньшую область

повреждения головного мозга в сравнении с контрольной группой животных. В группе животных “MSC”, где в область геморрагического инсульта вводили кондиционированную среду, собранную с первичной культуры мезенхимных стромальных клеток, наблюдали несколько менее выраженный протективный эффект, чем в группе “HEK”. Интересным наблюдением оказалось нарастание нейропротективного эффекта в группе “MSC” в ходе эксперимента.

In vitro исследования нейропротективной активности кондиционированной среды показали, что среда “HEK” способствует выживанию клеток линии SH-SY5Y в условиях острой эксайтотоксичности, однако выраженность этого эффекта падает при прекондиционировании клеток SH-SY5Y в среде “HEK” в течение 24 часов.

### **Вывод**

Геморрагический инсульт представляет собой стадийный процесс и его прогрессирование можно остановить на ранней стадии путем введения в место повреждения кондиционированной среды, содержащей белки hBDNF и huPA.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского фонда фундаментальных исследований - проект №18-015-00535. В работе были использованы коллекции клеток и генетических конструкций, собранных и сохраняемых в рамках проекта «Ноев ковчег», и оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития МГУ имени М.В. Ломоносова.