

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (МСК) И ИМИ ПРОДУЦИРУЕМЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ (МВ) НА СОДЕРЖАНИЕ Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ И Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК В МОДЕЛИ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (ОПН) МЫШЕЙ

© 2019 г. Т. С. Хабалова*, Э. А. Кащенко, Г. В. Селедцова

*E-mail: khabalovat@gmail.com

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Целью работы стало исследование воздействия мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и продуцируемыми ими микровезикулами (МВ) на параметры клеточного иммунитета у мышей с индуцированной ОПН. Эксперименты проведены на линейных мышцах C57BL/6 возрастом 3–4 месяца. Острую почечную недостаточность (ОПН) индуцировали однократным введением 50% глицерола. Мезенхимальные стволовые клетки получали из костного мозга здоровых животных, культивировали в стандартных условиях. В исследование вошли такие параметры клеточного иммунитета, как Т-клетки памяти и Т-регуляторные клетки. В качестве контроля были использованы клетки линии L929 и полученные из них микровезикулы (L929-MV). Зарегистрирована тенденция к спонтанному снижению содержания $CD4^+CD44^+CD62L^+$, $CD8^+CD44^+CD62L^+$ - Т-клеток памяти и регуляторных $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток к 11 суткам постановки эксперимента. Эффекты применения клеток и микровезикул из них отличались по степени выраженности воздействия на клетки иммунной системы. Более выраженным действием обладали L929-MV на 11 сутки эксперимента. В процессе постановки эксперимента обнаружена тенденция прироста регуляторных $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Т-клеток при использовании как МСК и L929, так и полученных из них микровезикул. Природа используемых клеток и полученных из них микровезикул не оказывала существенного значения на конечный результат экспериментов.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки (МСК), микровезикулы (МВ), острая почечная недостаточность (ХПН)

DOI: 10.31857/S102872210006504-9

Адрес: 630099 Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клеточных биотехнологий, Селедцова Галина Викторовна.

Тел.: (383) 222 26 74, факс: (383) 222 70 28

E-mail: niiki01@online.nsk.su

Авторы:

Хабалова Т. С., аспирант, лаборант-исследователь лаборатории клеточных биотехнологий, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Кащенко Э. А., к. м. н., научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Селедцова Г. В., д. м. н., заведующая лабораторией клеточных биотехнологий, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Микровезикулы представляют собой новую перспективу для бесклеточной терапии острой почечной недостаточности. В ряде экспериментальных исследований было показано, что МВ сохраняют характеристики клеток, из которых были получены. Так, например, микровезикулы, полученные из стволовых клеток, могут оказывать регенеративное действие, в том числе при остром повреждении тубулярного эпителия почечных канальцев индуцированном внутримышечным введением глицерола [1]. При остром повреждении почки, независимо от генеза, наблюдается локальная повышенная активность многих компонентов иммунной системы [2].

Эксперименты с адаптивным переносом активированных макрофагов, Т и В-лимфоцитов [3] показали их отрицательную роль в патогенезе ОПН. В то же время, МСК обладают иммунорегуляторными свойствами [4], которыми могут обладать и МВ, полученные из МСК, но данный вопрос остается неизученным.

Таким образом, целью нашей работы было исследование воздействия МСК и МВ, ими продуцируемыми на параметры клеточного иммунитета у мышей с индуцированной ОПН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модель острой почечной недостаточности. Эксперимент проведен на линейных мышах линии C57BL6 возрастом 3–4 месяца. Острую почечную недостаточность индуцировали однократным внутримышечным введением 50% глицерола в дозе 8.6 мг/кг.

Получение мезенхимальных стволовых клеток костного мозга. Мезенхимальные стволовые клетки были получены из костного мозга сингенных мышей C57BL6 методом адгезии к культуральному пластику. Клетки культивировали в стандартных условиях, в исследовании использовался 2 пассаж.

Получение микровезикулярных частиц. После достижения монослоя, часть МСК подвергали апоптозу путем культивирования в условиях депривации кислорода и в бессывороточной среде в течение 1 суток. Через 24 часа супернатант центрифугировали при 2000 g в течение 15 минут для удаления клеточного дебриса. Надосадок дополнительно центрифугировали при 10000 g в течение 60 минут при 4 °С. Полученный в итоге осадок ресуспендировали в 100 мкл физиологического раствора.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Было проведено исследование содержания Т-клеток памяти, регуляторных клеток в плазме крови мышей с ОПН на 4 и 11 сутки эксперимента, после трансплантации МСК и ими продуцируемыми МВ. В качестве контроля были использованы клетки фибробластной линии L929 и полученные из них микровезикулы (L929-MV). Клеток линии L929 являются фибробластоподобной прилипающей к пластику культурой, а также имеют тот же генотип, что и МСК, полученные от мышей C57BL6 (H-2b). Зарегистрирована тенденция к спонтанному снижению содержания $CD4^+CD44^+CD62L^+$,

$CD8^+CD44^+CD62L^+$ Т-клеток памяти и регуляторных $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток. Эффекты применения клеток и микровезикул не существенно отличались по воздействию на клетки иммунной системы. Более выраженным действием обладали микровезикулы, причем МВ из L929 снижали содержание клеток памяти более выражено на 11 сутки эксперимента.

В процессе постановки эксперимента обнаружена тенденция прироста регуляторных $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Т-клеток как при использовании МСК и L929, так и полученных из них микровезикул. Природа используемых клеток и полученных из них микровезикул не оказывала существенного значения на конечный результат экспериментов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Про-регенераторное действие МСК в значительной степени, если не полностью, обусловлено продуцируемыми ими микровезикулярными частицами. Указанное действие клеток и продуцируемых ими МВ не является специфичным. Клетки фибробластной линии L929 и продуцируемые ими МВ обладали такими же воздействиями, как и МСК. МВ из L929 были также более активны в рамках воздействия на Т-клетки памяти и регуляторные клетки. Показана тенденция прироста Т-рег клеток к 11 суткам эксперимента. Таким образом, в процесс уменьшения воспаления после развития ОПН активно вовлечены регуляторные клетки. Эффекты применения мезенхимальных стволовых клеток и микровезикул не существенно отличались по воздействию на клетки иммунной системы. Более выраженным действием обладали микровезикулы, причем МВ из L929 снижали содержание клеток памяти более выражено на 11 сутки эксперимента.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Grange C., Iampietro C., Bussolati B.* Stem cell extracellular vesicles and kidney injury. *Stem Cell Investig.* 2017, 4, 90.
2. *Lee S.A., Noel S., Sadasivam M., Hamad A.R.A., Rabb H.* Role of immune cells in acute kidney injury and repair. *Nefron* 2017, 137, 282–286.
3. *Friedewald J.J., Rabb H.* Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney int.* 2004, 66, 2486–491.
4. *Castro-Manreza M.E., Montesinos J.J.* Immunoregulation by Mesenchymal Stem Cells: biological aspects and clinical applications. *J. Immunol Res.* 2015, 2015, 394917.

**EFFECT OF TRANSPLANTATION OF MESENCHYMAL STEM CELLS (MSC)
AND PRODUCED MICROVESICLES (MV) ON THE MAINTENANCE
OF MEMORY T-CELLS AND T-REGULATORY CELLS IN THE MODEL
ACUTE RENAL FAILURE IN MICE**

© 2019 T. S. Khabalova*, E. A. Kaschenko, G. V. Seledtsova

*E-mail: khabalovat@gmail.com

Federal State Budget Scientific Institution "Scientific Research Institute of fundamental and clinical immunology" (SRIFCI). Novosibirsk, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 26.03.2019

The aim of the work was to study the effect of mesenchymal stem cells (MSCs) and microvesicles (MV) produced by them on the parameters of cellular immunity in mice with induced ARF. The experiments were carried out on C57Bl6 linear mice aged 3–4 months. Acute renal failure (ARF) was induced by a single injection of 50% glycerol. Mesenchymal stem cells were obtained from the bone marrow of healthy animals, cultured under standard conditions. The study included such parameters of cellular immunity as memory T-cells and T-regulatory cells. L929 cells and microvesicles derived from them (L929-MV) were used as controls. A tendency towards a spontaneous decrease in the content of CD4⁺CD44⁺CD62L⁺, CD8⁺CD44⁺CD62L⁺ T-cells of memory and regulatory CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ cells was recorded. 11 days of the experiment. The effects of the application of cells and microvesicles of them differed in the severity of the impact on the cells of the immune system. L929-MV had a more pronounced effect on the 11th day of the experiment. In the course of the experiment, a tendency was observed for the growth of regulatory CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ T cells using both MSC and L929, and microvesicles derived from them. The nature of the cells used and the microvesicles obtained from them did not have a significant effect on the final result of the experiments.

Key words: mesenchymal stem cells (MSC), microvesicles (MV), chronic renal failure (CRF)

Authors:

Khabalova T. S., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Mechanisms Head of the Laboratory of Cell Biotechnology, Federal State Budget Scientific Institution "Scientific Research Institute of fundamental and clinical immunology" (SRIFCI). Novosibirsk, Russia;

Kaschenko E. A., Researcher, Laboratory of Molecular Mechanisms Head of the Laboratory of Cell Biotechnology, Federal State Budget Scientific Institution "Scientific Research Institute of fundamental and clinical immunology" (SRIFCI). Novosibirsk, Russia;

Seledtsova G. V., ☒ PhD, Head, Leading Researcher of Cell Biotechnology Laboratory, Federal State Budget Scientific Institution "Scientific Research Institute of fundamental and clinical immunology" (SRIFCI). Novosibirsk, Russia. **E-mail:** niiki01@online.nsk.su