

Биораспределение аллогенных мембранных везикул

Неустроева Ольга Андреевна

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия

E-mail: neustroeva.olga@mail.ru

Внеклеточные везикулы (ВВ) являются основным средством межклеточной коммуникации, обладающим способностью переносить факторы роста, цитокины, хемокины, мРНК, miРНК, siРНК. Помимо этого, в состав их содержимого входят те же биоактивные молекулы, что и в состав родительской клетки, из которой они были получены, а на их поверхности локализуются рецепторы аналогичные рецепторам клетки-донора [Valadi et al., 2007]. Транспортированные в соседние клетки вещества, содержащиеся в везикулах, способны изменять фенотип реципиентов и модулировать их микроокружение путем паракринного воздействия [Nawaz et al., 2016]. Способность ВВ доставлять свое содержимое в клетку-мишень путем слияния, а также запускать рецептор-опосредованный сигналинг дает полное право предположить, что данные микроструктуры могут быть перспективным терапевтическим инструментом, который с легкостью обойдет ограничения при использовании мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (ММСК), тем самым исключив риск опухолеобразования [Choi et al., 2015]. В данной работе мы исследовали биораспределение аллогенных мембранных везикул *in vivo* при подкожной и внутримышечной инъекции у мышей.

Для этого методом ферментативной обработки 0,2% раствором коллагеназы из жировой ткани мышей были выделены ММСК, иммунофенотипирование которых подтвердило наличие поверхностных маркеров характерных для стволовых клеток мыши (CD90.2, CD44, CD73, CD49e, Sca1, CD29) и отсутствие нехарактерных (CD11b, CD10, CD45).

Далее путем обработки ММСК цитохалазином В, мы получили внеклеточные везикулы и провели их окрашивание флуоресцентным мембранным красителем DiD. Затем, аллогенные мембранные везикулы, индуцированные цитохалазином В (МВ-ЦВ) вводили подкожно и внутримышечно мышам в двух концентрациях 1 мг/мл и 0,5 мг/мл. Флуоресцентный сигнал детектировали методом прижизненной визуализации *in vivo* с использованием IVIS Spectrum (PerkinElmer, USA).

После подкожного введения интенсивность флуоресценции 0,5 мг/мл МВ-ЦВ составляла 2,705 о.е.ф., интенсивность флуоресценции 1 мг/мл МВ-ЦВ - 5,534 о.е.ф. (через 1 час). МВ-ЦВ вводимые подкожно и внутримышечно обнаруживались через 1 час, 48 часов и даже 14 дней. Проведенное 3D-моделирование позволило установить локализацию флуоресцентного сигнала МВ-ЦВ. Подкожная инъекция локализовалась под поверхностью кожи, в то время как внутримышечная инъекция сопровождалась распространением МВ-ЦВ, а сигнал флуоресценции находился на разных фокусных расстояниях. Интенсивность флуоресценции МВ-ЦВ 1 мг / мл была вдвое больше, чем МВ-ЦВ 0,5 мг/мл, что подтверждает специфичность флуоресцентного сигнала.

Подкожное и внутримышечное введение мембранных везикул, полученных из ММСК, может проявить свою эффективность при лечении ряда заболеваний, таких как терапия повреждения кожи [Veriter et al., 2015], ишемия нижних конечностей [Compagna et al., 2015] и т.д.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Иллюстрации

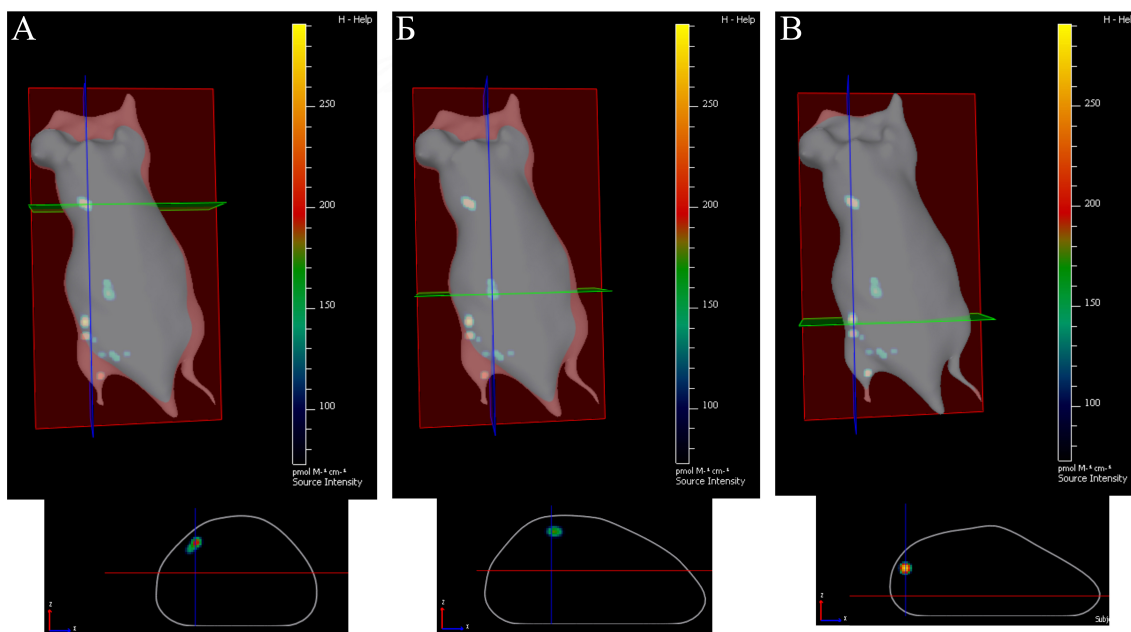


Рис. 1. Прижизненная фотография мышей с подкожным (спина) и внутримышечным (нижняя конечность) введением МВ ММСК мыши. Верхняя область флуоресценции МВ в концентрации 0,5мг/мл, нижняя 1мг/мл, внутримышечное введение в концентрации 1мг/мл: А - через 1 час после введения, Б – через 48 часов после введения, В - через 14 дней после введения.