

РЕЗЮМЕ

ЗНАЧИМІСТЬ ЕОЗИНОФІЛЬНОГО КАТІОННОГО БІЛКА ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ ПОЛІПОЗНИМ РИНОСИНУІТОМ НА ТЛІ З ЦІЛОРІЧНИМ АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ

Шуляк М.А.

Национальная академия последипломного образования имени П.Л.Шупика

Обстежено 158 хворих із діагнозом поліпозний риносинусит на фоні з цілорічним алергічним ринітом у віці від 18 до 50 років, серед обстежених 72 чоловіків і 86 жінок. Рівень еозинофільного катіонного білка в сироватці крові визначали імунофлюоресцентним методом (IMMUNOCAP 100, Phadia AB). Середні значення еозинофільного катіонного білка у здорових людей значно коливаються, з медіаною 10-11 нг/мл. Рівень дискримінанта – 24 нг/мл. Вищезгадані показники залежать від вигляду використовуваних тест-систем. Рівень еозинофільного катіонного білка залежить від тяжкості і активності алергічного запалення у хворих поліпозним риносинуситом на фоні з цілорічним алергічним ринітом і може бути використаний для об'єктивного контролю ефективності алергенспецифічної імунотерапії, що проводиться.

Ключові слова: поліпозний риносинусит, цілорічний алергічний риніт, еозинофільний катіонний білок, алергенспецифічна імунотерапія.

SUMMARY

MEANINGFULNESS OF EOZINOPHIL'NOGO KATIONNOGO ALBUMEN AT TREATMENT OF PATIENTS OF POLIPOZNYM RINOSINUITOM ON A BACKGROUND WITH A WHOLE-YEAR RHINALLERGOSESIS

Shulyak M.A.

National academy of poslediplomnogo formation of the name of P.L.Shupika

The study involved 158 patients with a diagnosis of polypoid rhinosinusitis on background with perennial allergic rhinitis aged 18 to 50 years, among the surveyed 72 men and 86 women. The level of eosinophilic cationic protein in the blood serum was detected by immunofluorescence method (ImmunoCAP100, Phadia AB). Average number of eosinophilic cationic protein in intact individuals fluctuates considerably, with a median 10 – 11 ng/ml. Discriminant level - 24 ng/ml. The above mentioned indexes depend on the kind of used test systems. The level of eosinophilic cationic protein is dependent on the severity and activity of allergic inflammation in patients with polyposid rhinosinusitis on background with perennial allergic rhinitis and can be used for objective verification of the effectiveness of allergen specific immunotherapy.

Keywords: polypoid rhinosinusitis, perennial allergic rhinitis, eosinophilic cationic protein, allergen specific immunotherapy.

УДК 577.27:576.52:57.085.23:576.536+57.017.35

СПОНТАННАЯ ГЕНЕРАЦИЯ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПЕРВОГО ТИПА ИЗ КОСТНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА EX VIVO

ЗУБОВ Д.А.

ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины»

На современном этапе развития регенеративной медицины культивированные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) из различных источников взрослого организма (костный мозг, жир, дерма) рассматриваются как мощные индукторы и модуляторы физиологических и иммунопатофизиологических процессов, протекающих в организме человека [1-4]. Свои терапевтические потенции эти клетки реализуют в значительной степени за счет паракринного влияния на резидентные и привлеченные из кровотока клеточные источники репарации (трофический эффект). Гораздо менее значимой является структурная регенерация восстанавливаемой ткани за счет трансплантированных ММСК. Наиболее очевиден эффект структурной регенерации ткани с помощью трансплантированных ММСК в случае дифференцировки культивированных клеток в

терминальные элементы костного дифферона при их локальной имплантации на соответствующем индуктивном, кондуктивном и протективном носителе в участок тканевого дефекта, напр., трансплантация ММСК в коллагеновом геле для инициации консолидации длительно несрастающихся переломов кости [3-7].

В литературе по данной проблеме накопилось масса экспериментальных и клинических работ, посвященных функциональным характеристикам культивированных ММСК *ex vivo*, а также дальнейшей судьбе клеток, трансплантированных в организм пациента [8, 9]. В связи с этим исследовательская группа Waterman R.S. предложила в 2010 г. новую парадигму ММСК, заключающуюся в способности этих клеток, в зависимости от получаемых сигналов микроокружения, к поляризации либо в *провоспалительный* (ММСК1), либо в *противовоспалительный*

ный, или иммуносупрессорный, (ММСК2) фенотипы [3, 4, 10, 11]. По аналогии с современной классификацией макрофагов на основе их поляризации в типы М1 и М2 [12], ММСК человека, посредством активации в них через TLR4 лиганды (эндотоксины ЛПС, ЛТК) сигнального пути, генерируют провоспалительную популяцию клеток, секретирующих ИЛ-6, ИЛ-8, TGF β и др., в то время как активация TLR3 пути (основной лиганд - двухцепочечная РНК или ее синтетический аналог Poly(I:C)) способствует генерации противовоспалительного типа ММСК2 с повышенной продукцией IDO, COX2, ИЛ-4 и ИЛ-1RA. Тем не менее, экспериментальные модели с применением культивированных костномозговых и адипозных ММСК человека и мыши показали, что предварительная обработка этих культур ЛПС несколько не снижает их супрессорную функцию, несмотря на активацию TLR4 сигналинга [13, 14].

Ожидаемым оказалось и недавнее исследование группы K. Le Blanc о совместимости терапевтических линий ММСК с кровью человека при их совместной инфузии с гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК) при острой РТПХ. Показано, что молекулы протромботических тканевых факторов и коллагена I типа на поверхности ММСК запускают в крови *in vitro* и *in vivo* развитие немедленной воспалительной реакции, опосредованной кровью (IBMIR, *instant blood mediated inflammatory reaction*), которая характеризуется образованием *кровь-активирующих факторов* (D-димер гиперфибринолиза, острофазные белки, С3а и С5а белки активированного комплемента и пр.). При этом сила воспалительной реакции прямо пропорционально зависит от длительности культивирования клеток, их количества и условий культивирования. В итоге, такая разрушительная реакция, как полагают авторы, может скомпрометировать выживание, приживление и функционирование терапевтических ММСК при системной инфузии [15].

Относительно выживания адоптивно перенесенных ММСК в организме, интересны их взаимоотношения с НК-клетками, которые строго зависят от преактивационных сигналов обоих клеточных типов и их микроокружения. *In vitro* показано, что костномозговые ММСК экспрессируют некоторые лиганды (ULBP3, PVR, *nectin 2*), способные активировать рецепторы НК-клеток, поэтому ММСК могут быть лизированы ИЛ-2/ИЛ-15- и ИЛ-12/ИЛ-18-активированными как аутологичными, так и аллогенными НК-клетками. Тем не менее, обработка ММСК интерфероном- γ ведет к усилению экспрессии молекул MHC I (ингибирующий НК-клетки сигнал) и ослаблению экспрессии ULBP3 (активирующий НК-клетки сигнал), что делает

ММСК более устойчивыми к НК-клеточной цитотоксичности [3, 16].

Однако, следует напомнить, что впервые механизмы иммуносупрессорного эффекта ММСК в условиях как *in vitro*, так и при адоптивном переносе, были обнаружены с вовлечением факторов адаптивного иммунитета. Показано, что ММСК ингибируют пролиферацию, продукцию интерферона- γ и цитотоксичность CD4+ и CD8+Т-клеток; пролиферацию и функционирование NKT- и $\gamma\delta$ Т-клеток. ММСК *in vivo* восстанавливают баланс между TH1 и TH2 клетками при нарушениях, связанных с переключением на доминирование клеточно-воспалительного TH1-ответа (модель артрита) или гуморального TH2-ответа (модель аллергии). ММСК *in vitro* репрограммируют наивные Т-клетки в индуцибельные Treg (CD25+FOXP3+) и CD8+Treg-клетки, секретирующие ИЛ-10 и TGF β , а также способствуют выживанию уже существующих Treg-клеток. ММСК взаимодействуют с процессами созревания дендритных клеток (ДК - CD34+ГСК, моноциты), ингибируя презентацию ними антигена, костимуляцию и миграцию их в лимфатический узел, формируя пул регуляторных ДК, способствующих анергии Т-клеток и генерации Treg-клеток. ММСК взаимодействуют и с процессами созревания В-клеток, приводя к остановке клеточного цикла, блокированию их дифференцировки в плазмочиты, снижению продукции иммуноглобулинов и неполноценному хемотаксису. ММСК также продуцируют иммуномодулирующие ИЛ-10, TGF β , *galectin 1* и 3, LIF и биоактивные метаболиты NO, CO, простагландин E₂ [3, 17].

Целью настоящих исследований является определение функционального статуса некоммитированных и остеоиндуцированных культур ММСК костного мозга человека, предназначенных для трансплантации пациентам травматологического профиля, посредством изучения количественной продукции ряда цитокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α .

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

ММСК изолировали по общепринятой методике [18] из аспирата костного мозга, забранного на гепарине, при пунктировании грудины или гребня подвздошной кости у пациентов травматологического профиля. Среднее количество аспирата составляло 20 мл от одного больного. Аспират высевали на пластиковые флаконы площадью 75 см² (Corning, США) и культивировали в ростовой среде DMEM/F12 (Sigma, США) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Sigma, США) в CO₂-инкубаторе (Jouan, Франция) при 37°C, 96% насыщающей влажности и 5% атмосфере CO₂. Пересев культур производили 0,25% раствором трипсина и

ЭДТА (Биолот, Россия) в соотношении 1:2. Для эксперимента использовали клетки 1-го и 2-го пассажа.

Остеогенную дифференцировку культур ММСК производили путем внесения в выше указанную ростовую среду остеогенной добавки: 0,1 мкМ дексаметазона, 10 мМ β-глицерофосфата и 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты (Sigma, США) [18].

Количественное определение цитокинов в клеточных супернатантах проводили с помощью метода твердофазного сэндвича - BD OptEIA Human ELISA (BD Biosciences, США). Измерения проводились по оптической плотности полученного раствора с использованием фотометра для многофункционального анализа Synergy HT Bio-Tek Instruments и программы KC4 System (США).

Измерение концентрации цитокинов в культурах осуществляли по схеме: некоммитированные ММСК 1-2 пассажей – сбор супернатанта производили на первые (n=30), третьи (n=30) и пятые (n=30) сутки; остеоиндуцированные

ММСК 1-2 пассажей – на десятые (n=30), тринадцатые (n=30), шестнадцатые (n=30) и девятнадцатые (n=30) сутки культивирования.

Визуализацию и фотодокументирование культур производили посредством инвертированного микроскопа проходящего света AxioObserver.A1, камеры AxioCam ERc 5s и ПО AxioVision Rel. 4.8 (Karl Zeiss, Германия).

Различия между исследуемыми группами ММСК были статистически проанализированы с помощью *t*-критерия Стьюдента. Данные выражены как среднее значение ± стандартная ошибка средней.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные культуры костномозговых ММСК выявили заметную гетерогенность при микроскопировании с преобладанием фибробластоидных клеток (ММСК) и крупных распластанных клеток макрофагальной морфологии, что соответствует морфологической картине культур костного мозга декстеровского типа (рис. 1) [19, 20].

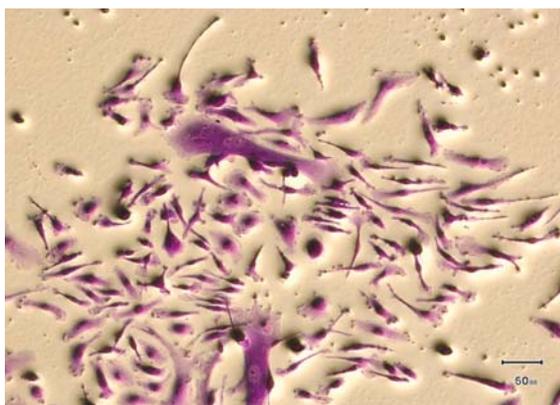


Рис. 1 - Культура декстеровского типа, полученная путем посева аспирата костного мозга человека, 5-е сут.: колония субстрат-зависимых клеток – ММСК и макрофаги; окр. кристаллическим фиолетовым; рельефный контраст; ×200.

На рис. 2 приведена сравнительная диаграмма среднего уровня секреции цитокинов некоммитированными (1-5 сутки культивирования) и коммитированными по остеогенному пути (10-19 сутки остеогенной дифференцировки) культурами ММСК костного мозга. В ка-

честве третьего столбца приведены значения концентраций цитокинов, измеренных в нестимулированных клеточных культурах мононуклеаров (МН ПК) периферической крови здоровых доноров (согласно BD OptEIA Human ELISA протоколам).

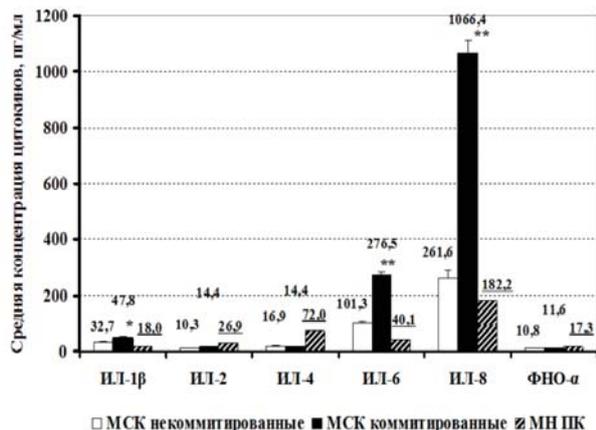


Рис. 2 - Диаграмма среднего уровня секреции цитокинов некоммитированными (в течение 1-5 сут. культивирования) и коммитированными по остеогенному пути (в течение 10-19 сут. культивирования) культурами ММСК костного мозга человека; МН ПК – мононуклеары периферической крови здоровых доноров; BD OptEIA Human ELISA;

Примечание: **p* < 0,05; ***p* < 0,01.

Очевидно, что уровень остеоактивных провоспалительных ИЛ-6 (101,3 пг/мл – некоммитированные ММСК и 276,5 пг/мл – остеоиндуцированные ММСК) и ИЛ-8 (261,6 пг/мл и 1,06 нг/мл соответственно) в обеих группах значительно выше, чем всех остальных измеряемых цитокинов, и группы МН ПК. Продукция ИЛ-6 остеоиндуцированными линиями в 2,7 раза больше, чем некоммитированными, и почти что в 7 раз выше, чем в культурах МН ПК здоровых доноров. Но секреция ИЛ-6 некоммитированными ММСК также больше, чем в группе МН ПК в 2,5 раза. Подобным образом, продукция ИЛ-8 коммитированными линиями в 4 раза больше, чем некоммитированными, и почти что в 6 раз выше, чем в культурах МН ПК здоровых доноров. Секреция ИЛ-8 некоммитированными ММСК также больше, чем в группе МН ПК в 1,5 раза.

Уровень провоспалительного ИЛ-1 β , как видно из диаграммы, также выше в коммитированной группе (47,8 пг/мл). Его продукция остеоиндуцированными линиями в 1,5 раза больше, чем некоммитированными (32,7 пг/мл), и в 2,7 раз выше, чем в культурах МН ПК здоровых доноров. Секреция ИЛ-1 β некоммитированными ММСК также больше, чем в группе МН ПК почти в 2 раза.

По уровню секреции остальных цитокинов значительных различий не получено. Но факт продукции обеими группами ММСК такого широкого цитокинового секрета уже сам по себе примечателен. Единственно, концентрация противовоспалительного ИЛ-4 значительно ниже в супернатантах некоммитированных (16,9 пг/мл) и коммитированных (14,4 пг/мл) культур, чем в группе МН ПК здоровых доноров.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Согласно полученным экспериментальным данным можно заключить, что декстеровские культуры костномозговых ММСК спонтанно (без добавления ЛПС) секретируют на значительном уровне такие провоспалительные цитокины, как ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1 β и незначительно ФНО- α как в коммитированном так и в некоммитированном вариантах, что позволяет отнести их к ММСК1 типа. Данный факт может объяснять выраженный терапевтический потенциал и значительную эффективность трансплантации культур костномозговых ММСК1 в коллагеновом носителе пациентам травматологического профиля с хронической длительно незаживающей костной раной [4, 7, 21, 22]. Относительно механизмов терапевтического действия культивированных клеток можно вынести предположение, что при инфильтрации ММСК инфицированных тканей они способствуют развитию противомикробного ответа

(ММСК1 фенотип) [23-25]. Так, показано, что ММСК способны распознавать патоген в микроокружении и вызывать противомикробный ответ на местном и системном уровнях, что ведет к значительному снижению бактериальной нагрузки и выживанию животных при сепсисе в эксперименте [13]. Однако, в случае хронического воспаления и перманентного протеолиза ткани, по-видимому, в клетках активируется TLR3-сигналинг, что, в итоге, приводит к поляризации ММСК1 в ММСК2, которые и способствуют успешному разрешению воспалительного процесса в ране и заживлению. Иными словами, система врожденного иммунитета, похоже, является ключевым партнером во взаимодействии с культивированными ММСК при их трансплантации в организм. При таком взаимодействии эффекторные элементы системы врожденного иммунитета тонко регулируют не только иммуномодулирующие свойства ММСК, но также их пролиферацию и дифференцировку, - процессы, контролируемые, в свою очередь, как самообновление ММСК так и их вовлечение в тканевую регенерацию. Известно также, что ММСК способствуют раневому заживлению посредством рекрутирования моноцитов и макрофагов с их дальнейшей индуцированной поляризацией из М1 в М2-макрофаги, таким образом кумулируя трофический эффект. Совместно ММСК, моноциты и макрофаги формируют эффективные механизмы обратной связи для предупреждения избыточного воспалительного ответа в ране и его финального разрешения в сторону реализации процессов репаративной регенерации (с реституцией) в организме [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller [et al.] // *Cytotherapy*. – 2006. – Vol. 8, № 4. – P. 315–317.
2. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies / P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno [et al.] // *Tissue Eng*. – 2001. – Vol. 7. – P. 211–228.
3. *Le Blanc K.* Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system / K. Le Blanc, D. Mougiakakos // *Nature Reviews*. – 2012. – Vol. 12. – P. 383-396.
4. *Зубов Д. О.* Остеогенна індукція та імунні властивості мезенхімальних стовбурових клітин *in vitro*: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / Д. О. Зубов. – Київ, 2009. – 20 с.

5. *Зубов Д. О.* Імунорегуляторна роль мезенхімальних стовбурових клітин в остеорепаративному процесі / Д. О. Зубов // *Фізіол. журн.* – 2008. – Т. 54, № 4. – С. 30–36.
6. *Зубов Д. А.* Цитокинова імунорегуляція репаративної регенерації костної ткани культивованими мезенхімальними стволовими клітинами / Д. А. Зубов, В. М. Оксимец // *Травма.* – 2008. – Т. 9, №2. – С. 145–153.
7. Возможности применения культивированных мезенхимальных стволовых клеток в травматологии и ортопедии / В. К. Гринь, Д. А. Зубов, А. Г. Попандопуло, В. М. Оксимец // *Трансплантологія.* – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 55–59.
8. Clinical trials for stem cell therapies / A. Trounson, R. G. Thakar, G. Lomax, D. Gibbons // *BMC Medicine.* - 2011. - Vol. 9.: 52. doi:10.1186/1741-7015-9-52.
9. *Prockop D. J.* Clinical trials with adult stem/progenitor cells for tissue repair: let's not overlook some essential precautions / D. J. Prockop, S. D. Olson // *Blood.* - 2007. - Vol. 109 (8). - P. 3147–3151.
10. Expression of cytokines IL-4, IL-12, IL-15, IL-18, and IFN γ and modulation by different growth factors in cultured human osteoblast-like cells / C. Ruiz, E. Pérez, O. García-Martínez [et al.] // *J. of Bone and Mineral Metabolism.* – 2007. – Vol. 25 (5). - P. 286-292.
11. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype / R. S. Waterman, S. L. Tomchuck, S. L. Henkle [et al.] // *PLoS ONE.* - 2010. - Vol. 5 (4). - e10088. doi: 10.1371/journal.pone.0010088.
12. Phenotypic and functional profiling of human proinflammatory type-1 and anti-inflammatory type-2 macrophages in response to microbial antigens and IFN-gamma- and CD40L-mediated costimulation / F. A. Verreck, T. de Boer, D. M. Langenberg [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* - 2006. - Vol. 79. - P. 285-293.
13. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E₂-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production / K. Németh, A. Leelahavanichkul, P. S. T. Yuen [et al.] // *Nature Med.* - 2009. - Vol. 15. - P. 42–49.
14. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis / E. Gonzalez-Rey, P. Anderson, M. A. González [et al.] // *Gut.* - 2009. - Vol. 58. - P. 929–939.
15. Are therapeutic human mesenchymal stromal cells compatible with human blood? / G. Moll, I. Rasmusson-Duprez, L. von Bahr [et al.] // *Stem Cells.* - 2012. - Vol. 30. - P. 1565-1574.
16. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation / G.M. Spaggiari, A. Capobianco, S. Becchetti [et al.] // *Blood.* - 2006. - Vol. 107. - P. 1484–1490.
17. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection / J. M. Ryan, F. P. Barry, J. M. Murphy [et al.] // *J. Inflamm.* – 2005. – Vol. 2, № 8. – P. 1–11.
18. *Prockop D. J.* Mesenchymal stem cells : methods and protocols / D. J. Prockop, D. G. Phinney, B. A. Bunnell. – Totowa, NJ : Humana Press, 2008. – 192 p.
19. *Allen T. D.* Long term bone marrow cultures : an ultrastructural review / T. D. Allen, T. M. Dexter // *Scan Electron Microsc.* - 1983. - Pt. 4. - P. 1851-1866.
20. *Allen T. D.* The essential cells of the hemopoietic microenvironment / T. D. Allen, T. M. Dexter // *Exp. Hematol.* - 1984. - Vol. 12 (7). - P. 517–521.
21. Трансплантація остеогенних кліток в ортопедії і травматології / В. Н. Казаков, В. Г. Климовицкий, В. К. Гринь [и др.] // *Журнал академії медичних наук України.* – Т. 12, № 2. – 2006. – С. 229–241.
22. *Зубов Д. О.* Остеоімунітет та культивовані мезенхімальні стовбурові клітини / Д. О. Зубов, В. М. Оксимец // *Міжвідомч. зб. наук. праць «Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону».* – Донецьк: ДонНУ, 2008. – Вип. 8. – С. 324–331.
23. Antibacterial effect of human mesenchymal stem cells is mediated in part from secretion of the antimicrobial peptide LL-37 / A. Krasnodembskaya, Y. Song, X. Fang [et al.] // *Stem Cells.* - 2010. - Vol. 28. - P. 2229–2238.
24. Mesenchymal stem cells reduce inflammation while enhancing bacterial clearance and improving survival in sepsis / S. H. Mei, J.J. Haitzma, C. C. Dos Santos [et al.] // *Am.J. Respir. Crit. Care Med.* – 2010. - Vol. 182. - P. 1047–1057.
25. Human but not murine multipotent mesenchymal stromal cells exhibit broad-spectrum antimicrobial effector function mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase / R. Meisel, S. Brockers, K. Heseler [et al.] // *Leukemia.* - 2011. - Vol. 25. - P. 648–654.

РЕЗЮМЕ

СПОНТАННА ГЕНЕРАЦІЯ ПРОЗАПАЛЬНИХ МУЛЬТИПОТЕНТНИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ПЕРШОГО ТИПУ 3 КІСТКОВОГО МОЗКУ ЛЮДИНИ *EX VIVO*

Зубов Д.О.

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», Київ, Україна

У статті наведено результати з вивчення функціональної активності ММСК кісткового мозку людини в культурі. Досліджено кількісний вміст деяких цитокінів у супернатанті, що в середньому складав для некомітованих та остеоіндукованих культур ММСК відповідно: ІЛ-1 β - 32,7 та 47,8 пг/мл, ІЛ-2 - 10,3 та 14,4 пг/мл, ІЛ-4 - 16,9 та 14,4 пг/мл, ІЛ-6 - 101,3 та 276,5 пг/мл, ІЛ-8 - 261,6 пг/мл та 1,06 нг/мл і ФНП- α - 10,8 та 11,6 пг/мл. На підставі вивчення одержаного секретому виявлена спонтанна поляризація клітинних культур кісткового мозку в прозапальний ММСК1 тип.

Ключові слова: кістковий мозок, декстеровські культури, цитокіни, мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини, ММСК, поляризація ММСК, остеогенна індукція, запалення.

SUMMARY

EX VIVO SPONTANEOUS GENERATION OF HUMAN BONE MARROW PROINFLAMMATORY MULTIPOTENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS

Zubov D.A.

State Institute of Genetic and Regenerative Medicine, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The results of functional activity of human cultured bone marrow MSCs studying are presented. The mean content of some cytokines in cell culture supernatant has been explored, which for uncommitted and osteogenic induced MSCs cultures respectively is: IL-1 β - 32,7 and 47.8 pg/ml, IL-2 - 10.3 and 14.4 pg/ml, IL-4 - 16.9 and 14.4 pg/ml, IL-6 - 101.3 and 276.5 pg/ml, IL-8 - 261.6 pg/ml and 1.06 ng/ml, TNF- α - 10,8 and 11.6 pg/ml. On basis of the obtained secretome pattern the spontaneous polarization of bone marrow cell cultures into proinflammatory MSC1 type was revealed.

Key words: bone marrow, Dexter-type cultures, cytokines, multipotent mesenchymal stromal cells, MSCs, polarization of MSCs, osteogenic induction, inflammation.

УДК 612. 017.1:612.64: 591.81:616-092.9

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

ЛИСЯНЫЙ Н. И., ГНЕДКОВА И.А, ГНЕДКОВА М.А., ШМЕЛЕВА А.А.

ГУ «Институт нейрохирургии им акад. А.П.Ромоданова», Киев

Введение. Клеточная терапия – является перспективным методом лечения многих дегенеративных, травматических и воспалительных заболеваний ЦНС. Полагают, что клеточная терапия будет способствовать восстановлению пораженных органов и функциональных систем. Интенсивно изучается роль стволовых клеток в регенерации органов. Стволовые клетки выявлены во многих тканях [1].

В настоящее время хорошо изучены мезенхимальные стволовые клетки (МСК). МСК – это мультипотентные стволовые клетки, способные дифференцироваться практически в любые клетки организма, за исключением клеток гемопоэтического ряда. Многообразие путей дифференцировки МСК и относительная доступность этих клеток во взрослом организме делает их уникальным материалом в регенеративной медицине. При системном введении МСК мигрируют в костный мозг, а также в поврежденные ткани, где участвуют в их восстановлении[2].

Клиническое применение МСК также связано с их иммуномодулирующим действием, обусловленным продукцией цитокинов и регу-

ляцией межклеточных взаимоотношений. МСК – гетерогенная популяция клеток со свойствами дифференцироваться в соматические клетки, составляющая 0,001-0,01% всех клеток. Важной особенностью МСК, которая позволяет их рассматривать в качестве перспективного метода клеточной терапии не только аутологичной, но и аллогенной, является их крайне низкая иммуногенность[3]. При введении лабораторным животным MSC могут дифференцироваться в эпителиальные клетки тимуса и тем самым участвовать в индукции центральной иммунологической толерантности [4].

МСК – являются МНСII-негативными клетками и не содержат стимулирующие рецепторы CD40, CD80, CD86. Установлено, что МСК продуцируют трофические факторы и обладают иммуномодулирующей функцией. МСК содержат антигены HLA I, а после воздействия IFN γ МСК экспрессируют антигены HLA II, супрессируют аллогенные Т, NK и В клетки, активируют дендритные клетки и рост опухолей [5]. Классические МСК экспрессируют CD44, CD73, (SH3, SH4) CD90 (Thy-1), CD105(SH2 Endoglin) CD106