

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

VCAM1) HLA1. Все МСК экспрессируют эмбриональные антигены Oct4, Nanog и стадийспецифичный антиген SSEA4 [6].

МСК происходят из мезодермального эмбрионального листка могут дифференцироваться в различные клетки печени, мышцы, кожи, нейроглиальные клетки. Runt-зависимый транскрипционный фактор (Runx2) регулирует ген раннего остеогенеза, функционирует синхронно с TGF β и повышает экспрессию IL11, который редуцирует адипогенез и является промотором хондроцитогенеза и дифференцировки остеобластов. МСК супрессируют Т клеточный ответ *in vivo* и В клеточный ответ *in vivo*. Введение МСК способствует редукции симптомов ЭАЭ [6].

Иммунологические свойства МСК обусловлены активностью PGE₂, NO, индоламин-2,3-диоксигеназы. В МСК активен сигнальный путь, связанный с Toll рецепторами. Установлено, что иммуномодулирующая функции МСК обусловлена IL6 – зависимым синтезом PGE₂ [7]. МСК способствуют развитию Th2- иммунного ответа. Иммуносупрессорный эффект МСК осуществляется опосредовано через активацию Th1- Th17 лимфоцитов в Th2 иммунный ответ. МСК секретируют факторы, супрессирующие апоптоз и являющиеся промоторами васкуляризации и пролиферации клеток.

Показано, что MSCs активируют опухольассоциированные фибробласты (cancer associated fibroblast (CAF)). Активация стромы в опухоли МСК формирует миофибробласт реактивную строму. Периваскулярная строма является промотором опухолевого роста. IGF1 и IGF2 (инсулинзависимый ростовой фактор) способствует росту опухоли. Продукция IL6 увеличена при раке толстого кишечника [7,8].

МСК могут влиять на антигенпредставляющие клетки (АПК) через регулирование синтеза аутокринного интерферона – IFN γ , подавляющего антигенпредставляющую функцию и усиливающего иммуносупрессорную.

IFN γ , супрессирует активность МСК, повышая регуляцию B7- H1, который ингибирует поверхностные молекулы стволовых клеток, обуславливающих иммунологические функции МСК. Межклеточные взаимодействия играют значительную роль в реализации иммуномодулирующего действия и секреции растворимых факторов, обуславливающих иммунологические свойства МСК. МСК продуцируют растворимые факторы подавляющие В клетки в фазу G₀/G₁, модулируют функцию моноцитов воздействием на секрецию IL1 β , который является промотором продукции TGF β в МСК и подавляет пролиферацию Т клеток и активирует рецепторы CD25, CD38, CD65 [9].

PGE₂ также, как и IFN γ , определяет иммуносупрессорную функцию МСК индуцирует

Th2 ответ. МСК вызывают апоптоз нейтрофилов.

Экспериментальными было установлено, что LPS и TNF α стимулируют при сепсисе МСК, которые продуцируют высокий уровень PGE₂ и репрограммируют моноциты-макрофаги. Эти результаты показывают, что МСК регулируют врожденный иммунный ответ, способность к выживанию и устойчивость к сепсису [10]. МСК подавляют функцию различных иммунных клеток: пролиферативный ответ Т лимфоцитов, дендритных клеток (Дк), и индуцируют противовоспалительный эффект Т регуляторных клеток. Гипоиммуногенность МСК аргументирует их применение при лечении аутоиммунных заболеваний. Так, введение МСК из костного мозга экспериментальным животным с ЭАЭ приводило к регрессии клинических симптомов заболевания. МСК супрессируют аутоиммунные реакции [11].

Введение аутологических МСК редуцировало зону инфаркта мозга у экспериментальных животных > 20%, по данным МРТ [12].

Во взрослом организме МСК содержатся во многих тканях: жировой ткани, периферической крови, костном мозге, плаценте. Выделенные МСК способны дифференцироваться в различные типы клеток, в частности, МСК из жировой ткани получают после липосекции, ферментной обработки и последующего культивирования в пластиковых флаконах с добавлением колоние-стимулирующего фактора (КСФ). Из 1 г жировой ткани получают 5x10³ МСК [13,14,15].

В связи с этим, целью исследований являлось выделить и изучить иммунологические свойства клеток стромально-васкулярной фракции (СВФ), полученных из жировой ткани взрослых мышей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследованиях было использовано 35 белых мышей выводка вивария НИИ нейрохирургии.

Жировую ткань у мышей выделяли из подмышечной и паховой зон, подкожной клетчатки и большого сальника. Полученные фрагменты тканей в стерильных условиях измельчали скальпелем, получали мелкие фрагменты, проводили их инкубацию в растворе коллагеназы первого типа (0,07%) (7 мг/мл в течение 25 мин). После культивирования добавляли среду RPMI и центрифугировали в течение 5 мин 1 500 об./мин. Осадок повторно ресуспендировали в полной среде RPMI и пропускали через нейлоновый фильтр. Клетки повторно отмывали. Осадок состоял из клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани. Осадок клеток ресуспендировали в полной среде RPMI и наносили на пластиковые чашки в дозе 2x10⁶ и

культивували в течение 24 и 72 часов и 7 суток. Среда культивирования состояла из RPMI с глутамином и 10% ЭТС. Через 24, 72 часа, 7 суток в стерильных условиях отбирались супернатанты клеточных культур стромально-васкулярной фракции клеток, выделенных из жировой ткани, откручивали и в стерильных условиях отбирали супернатанты, которые хранили при -25°C до дня исследования. Клетки, адгезированные к пластику, снимали с чашек с помощью раствора трипсина. Отмытые клетки суспензии адгезированных клеток СВФ, добавляли к периферическим лимфоцитам мыши и человека в соотношении 1:2. Изучали влияние клеток и супернатантов СВФ на спонтанный и индуцированный пролиферативный ответ лимфоцитов. Индуцировали поликлональный ответ лимфоцитов селезенки мыши митогеном ConA, а лимфоцитов человека – ФГА. В дозе 5 мкг/мл.

Достоверность отличий определяли по критерию Стьюдента.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи стандартного компьютерного пакета «Анализ данных» Microsoft Excel для Windows 1995, версия 7.0a, 1996 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Накоплены многочисленные экспериментальные и клинические данные о супрессорном действии МСК на различные функции иммунокомпетентных клеток (ИК). Однако, остается открытым вопрос – за счет каких механизмов осуществляется супрессорный эффект МСК – за счет клеточного контакта или продукцией этими клетками растворимых факторов? В связи с этим было изучено воздействие клеток СВФ, адгезированных к пластику после 24 и 72 часов и 7 суток культивирования, и супернатантов различных сроков культивирования, на пролиферативный ответ периферических лимфоцитов человека и мыши.

Было установлено, что добавление клеток адгезивной фракции СВФ после 24 часов культивирования, полученных из жировой ткани мыши к активированным ФГА периферическим лимфоцитам человека подавляло пролиферативный ответ лимфоцитов практически в два раза (табл.1).

Таблица 1

Влияние суспензии клеток СВФ мыши после 24 часов культивирования на пролиферативный ответ лимфоцитов человека и мыши

Наименование клеток	Проллиферативный ответ лимфоцитов	
	Контроль	ФГА/ConA
Лимфоциты человека n=5	3,1± 0,5	54,5± 4,9*
Лимфоциты человека + клетки СВФ 24 ч адгезии	0	21,5±2,1*
Лимфоциты мыши (контроль)	2,1± 0,5	31,5± 1,9*
Лимфоциты мыши + клетки СВФ мыши. (24 ч) культивирования	0	19,4± 9,5*

*-достоверность отличий, по отношению к группам контроля (пролиферативный ответ лимфоцитов на ФГА) P<0,01.

Клетки СВФ мыши после 24 часов культивирования также достоверно подавляли пролиферативный ответ на ConA аллогенных периферических лимфоцитов мыши. Так, клетки СВФ в соотношении 1:2 снижали пролиферативный ответ аллогенных активированных лимфоцитов до (19,4± 9,5)%, по сравнению с (31,5± 1,9)% в контроле.

Увеличение сроков культивирования до 72 часов повышало супрессорное действие ксенногенных клеток мыши СВФ на пролиферативный ответ лимфоцитов человека в три раза, а аллогенных клеток мыши в четыре раза (табл. 2, 3).

Таблица 2

Влияние клеток стромально-васкулярной фракции (СВФ), выделенной из жировой ткани мыши 72 часов культивирования на пролиферативный ответ периферических лимфоцитов человека

Наименование клеток	Проллиферативный ответ лимфоцитов	
	Контроль	ФГА
Лимфоциты человека n=5	5,1± 0,5	35,5± 5,9*
Лимфоциты человека + клетки СВФ (прилипающей фракции) мыши	0	10,5± 3,1*

* -достоверность отличий, по отношению к группе контроля P<0,01

Таблица 3

Влияние суспензии клеток СВФ мыши 72 часовых культур на пролиферативный ответ лимфоцитов мышей

Наименование клеток	Пролиферативный ответ лимфоцитов	
	Контроль	Con
Лимфоциты мыши N=8 (контроль)	3,1± 1,2*	33,0± 2,5*
Лимфоциты мыши + Аутологичные культуры СВФ (n=5)	0	7,1±1,1*
Лимфоциты мыши + аллогенные СВФ N=8	0	9,1±2,1*

*-достоверность отличий, по отношению к значениям контрольной группы P<0,01

Таким образом, клетки СВФ оказывали супрессорный эффект наиболее выраженный через 24 и 72 часа культивирования.

Для выяснения роли растворимых факторов, продуцируемых МСК изучали влия-

ние супернатантов 72 суточных и 7 дневных культур на пролиферативный ответ периферических лимфоцитов человека и мыши (табл. 4, 5).

Таблица 4

Влияние супернатантов 72 часового культивирования клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани мышей на пролиферативный ответ лимфоцитов человека

Наименование клеток	Пролиферативный ответ лимфоцитов	
	ФГА(%)	Кф=О/К
Лимфоцитов человека n=8	64,5± 3,1*	
Лимфоциты человека n=8+ супернатанты СВФ (72 часа)	35,5±2,4*	0,53±0,04
Лимфоциты человека П=9	50,6± 7,1	
Лимфоциты человека Супернатанты СВФ (7) суток	48,2±8,5	1,06± 0,12

*-достоверность отличий, по отношению к значениям контрольной группы P< 0,01,

Было установлено, что супернатанты 72 часовых культур СВФ мыши достоверно подавляли пролиферативный ответ лимфоцитов человека, тогда, как супернатанты 7 дневных культур практически не влияли, а в некоторых случаях стимулировали пролиферативный ответ активированных ФГА периферических лимфоцитов человека.

Супернатанты 72 часовых культур СВФ, полученной из жировой ткани мишей, напротив стимулировали активированные периферические лимфоциты аллогенных мишей на ConA. Так, пролиферативный ответ лимфоцитов мышей после культивирования с супернатантом СВФ клеток составил (55,5±2,1)%, что достоверно выше, чем в контроле (34,5± 2,1)%.

Таблица 5

Влияние супернатантов 72 часового и 7-суточного культивирования клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани мышей на пролиферативный ответ лимфоцитов мышей

Наименование клеток	Пролиферативный ответ лимфоцитов	
	ConA(%)	Кф=О/К
Лимфоцитов мыши n=5	34,5± 2,1	
Лимфоциты мыши n=7 супернатанты СВФ (72 часа)	55,5±2,1*	1,6±0,04
Лимфоциты мыши+супернатанты СВФ (7 суток) n=5	38,2±2,5	1,1± 0,21

*-достоверность отличий, по отношению к значениям контрольной группы P> 0,01,

Добавление супернатантов 7 суточных культур к активированным лимфоцитам мыши практически не влияло на величину пролиферативного ответа (табл.5).

Таким образом, клетки стромально-васкулярной фракции, полученной из суспензии клеток жировой ткани мыши, оказывали супрессорный эффект наиболее выраженный через 72 часа культивирования. Супернатанты суспензии культур стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировых клеток мыши, оказывали достоверный стимулирующий эффект на пролиферативный ответ лимфоцитов мыши в аллогенной системе и супрессорный

эффект в ксеногенной системе на пролиферативный ответ лимфоцитов человека. Супернатанты СВФ после 7 дней культивирования практически не влияли на пролиферативный ответ лимфоцитов человека и мыши.

Для выяснения роли продукции простагландинов в реализации супрессорного эффекта на Т клеточный ответ супернатантов СВФ после 72 часового культивирования в среду, стимулированных периферических лимфоцитов добавляли индометацин-ингибитор синтеза простагландинсинтетазы, тем самым блокировали синтез простагландинов периферическими мононуклеарами (табл. 6).

Таблица 6

Влияние супернатанта 72 часов культивирования клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани мышей, на индометацинчувствительный пролиферативный ответ лимфоцитов человека и мыши

Наименование клеток	Пролиферативный ответ лимфоцитов на ФГА/ ConA+		Кф=О/К
	Индометацин	индометацин + супернатант	
Лимфоциты здоровых лиц n=7	79,7±3,1*	61,7±7,5*	0,76± 0,12
Лимфоциты мыши n=5	41,7±2,9*	33,7±4,5*	0,80± 0,09

*-достоверность отличий, по отношению к значениям контрольной группы P> 0,01

Добавление в культуральную среду активированных митогенами периферических лимфоцитов индометацина увеличивало пролиферативный ответ лимфоцитов за счет блокирования синтеза простагландинов. Добавление в эту среду дополнительно супернатантов 72 часовых культур СВФ, полученной из жировой ткани мышей оказывало достоверный супрессорный эффект. (Табл.6). Это, в определенной степени, может отражать наличие простагландинов или других растворимых супрессорных факторов в супернатантах 72 часовых культур СВФ мышей.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время механизмы иммуносупрессорного действия до конца не выяснены. Нет единого мнения, является ли прямой межклеточный контакт МСК и клеток иммунной системы необходимым этапом для реализации иммуносупрессии или эти процессы могут осуществляться через растворимые факторы?[5]. Было показано, что МСК, которые экспрессируют ICAM, VCAM – более эффективно проявляют свои иммуносупрессорные свойства. Наиболее выраженное влияние на ICAM оказывает TNFα. [16].

Исследованиями Li W., et al., было показано, что иммуносупрессорное действие МСК связано с активацией хемокинов и окиси азота

(NO). С другой стороны, МСК при определенных условиях повышают иммунный ответ. Это происходит, когда провоспалительные цитокины подавляют продукцию NO МСК. Провоспалительные цитокины, продуцируемые лимфоцитами, подавляют продукцию индуцибельной NO-синтетазы МСК, что приводит к пролиферации Т клеток in vitro и повышает гиперчувствительность in vivo. В отсутствие NO и хемокинов усиливается иммунный ответ. Т клетки, стимулированные ФГА, NO не продуцировали. МСК, стимулированные аллоантигенами, продуцировали NO [10].

Известно, что МСК после стимуляции могут секретировать различные факторы, такие как IL1,6,7,8, 10, 11,12,15,17, LIF, GCSF, granyocytes macrophage colony-stimulating factor (GM CSF), stem cell factor (SCF), fms-like-tyrosine kinase-3, CCL2, tissue inhibitor of metalloproteinase(TIMP), TGFβ, CXCL1, CXCL2, CXCL6, VEGF and FGF. [7].

Полагают, что иммуносупрессорные функции МСК определяют секретируемые этими клетками индоламин 2,3 (IDO), простагландин E2 (PgE2). IDO и inducible nitric oxide synthase(iNOS). В супернатантах МСК был выявлен галектин-1. Этот лектин подавляет пролиферацию Т клеток. Растворимая форма HLAG5 также супрессирует Т клеточную пролиферацию. Показано также, что подавление пролиферативного ответа периферических мононуклеаров при совместном

культивуванні с МСК происходит с одной стороны, за счет секреции активированными лимфоцитами γ IFN, а, с другой стороны, продукции индоламина МСК, осуществляющего иммуносупрессию[17].

В настоящее время МСК широко используются для решения различных клинических задач, в частности при лечении рассеянного склероза (РС), сепсиса, дегенеративных заболеваний ЦНС[11,17, 22]. Показано, что клетки стромально-васкулярной фракции (СВФ), полученные из жировой ткани, содержат МСК, обладают иммуномодулирующими, антиапоптотическими и регенераторными свойствами. [21,22]. Установлено, что клетки СВФ, полученные из жировой ткани, экспрессируют нейротрофические гены *in vitro* и *in vivo*, что обосновывает их применение при нейродегенеративных заболеваниях. [23] Установлено, что в зависимости от продукции цитокинов ИК клетками растворимые факторы, продуцируемые СВФ могут оказывать как супрессорное, так и активирующее действие на ИК клетки [24]. В связи с этим необходимо учитывать различные варианты воздействия МСК на иммунокомпетентные клетки, во многом зависящие от исходного функционального состояния иммунокомпетентных клеток, от уровня продукции ими провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

ВЫВОДЫ

1. Клетки стромально-васкулярной фракции, полученной из жировой ткани мышей 24 часов и 72 часов культивирования, оказывают супрессорный эффект на пролиферативный ответ периферических аллогенных и ксеногенных лимфоцитов.
2. Супернатант стромально-васкулярной фракции 72 часов культивирования, выделенной из жировых клеток мышей, оказывают достоверный супрессорный эффект на ксеногенные активированные лимфоциты человека и стимулирующий эффект на пролиферативный ответ лимфоцитов мыши в аллогенной системе.
3. Супрессорный эффект на активированные периферические лимфоциты оказывают как клетки СВФ, так и продуцируемые ими факторы.
4. Иммуносупрессорное действие стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани 72 часов культивирования, блокируется индометацином, что может быть связано с наличием в супернатантах простагландинов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mechanisms of immunomodulation and homing / H., A Yagi, A. Soto-Gutierrez, B Parekkadan. [et al]// Cell Transplant.-2010.-V.19, №6.-P.667-679.
2. *Лисяный Н.И.* Иммуносупрессивные и антигенные свойства мезенхимальных стволовых клеток/ Н.И.Лисяный// Імунологія та алергологія.-2012, №4.-С.4- 11.
3. *Hodgkinson Th.*, Adult stem cells in tissue engineering / Th.Hodgkinson, X-F Yuan, A. Bayat // Expert Reviews Med. Devices 2009.-V.6,№6.-P.621-640
4. Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга подавляют дифференцировку и не влияют на созревание аллогенных дендритных клеток *in vitro* / А.Ю.Лупатов, П.А Каралкин, М.В. Молдавер [и др.], // Імунологія.- 2011.-Т.32, №3. – С.122-124.
5. Immunosuppression by mesenchymal stem cells: mechanisms and clinical applications / S. Ghannam C, Bouffi, F.Djouad F., [et al.,] // Stem Cell Res. Ther.- 2010.-V.1, №2. (Published online 2010)
6. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived /R.Hass, C. Kasper, S Bohm, R. Jacobs // Cell Commun Signal.-2011.-V.9, №12 [Published online] P.1-27.
7. IL6 dependent PGE2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis/C.Bouffi, C.Bony, G.Courties [et al] // Plos one.- 2010.-V.5,№1-P.1-19.
8. Inflammatory cytokine-induced adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in mesenchymal stem cells are critical for immunosuppression/ G. Ren, X. Zhao , L. Zhang [et al.] //J..Immunol.2010.-V.184,№5.-P.2321- 2328.
9. Different mechanical response of mesenchymal stem cells on fibroblasts to tumor-secreted soluble factors/ D.J. Mc Grail., D. Ghosh ., M.R Dawson// PLoS One-2012.-V.7,№3 e 33248
10. Mesenchymal stem cells a double – edged sword in regulating immune responses/ W.Li., G. Ren ., Y.Huang., et al.,// Cell Death Differ.- 2012.-V.19, N9.-P.1505-1513
11. Механизмы антипролиферативного действия мезенхимальных стволовых клеток у пациентов с рассеянным склерозом /М.М. Зафранская, Д.Б. Нижегородова, М.Ю. Юркевич, [и др.]//Мед.иммунологія.2011.-Т13, №2-3.- P.237-246.

12. The potential benefit of stem cell therapy after stroke: an update / S.Banerjee., D.A. Williamson., N.Habib et al.,// Health. Risk Manag. -2012.-V.8.-P.569-580
13. Adipose tissue-organotypic culture system as promising model for studying adipose tissue biology and regeneration/ S,Toda ., K. Uchihashi ., S Aoki ., [et al.,]// Organogenesis-2009.-V.5,№2.-P.50-56
14. *Baer P.C.* Adipose-derived mesenchymal stromal stem cells: tissue localization, characterization and heterogeneity/ P.C. Baer., H.Geiger.H.// Stem.Cells.Int.-2012: 812693.
15. *Шварц В.* Физиологическая и патологическая роль рецепторов врожденной иммунной системы жировой ткан.// Патол. физиолог. и эксперим.терапия.-2010.-№3.-С.45-51
16. *Айзенштадт А.Л.*, Изменения содержания ICAM1 на поверхности мезенхимальных стволовых клеток в ответ на действие провоспалительных цитокинов/ А.Л. Айзенштадт, Д.А. Могиленко, В.Б.Климович// Мед. иммунология. 2011.-Т.3, № 4-5.-С304
17. Comparative analysis of the immunomodulatory properties equine adult derived mesenchymal stem cells / D. D. Carrade., M.W. Lame., M.S. Ken // Cell Mol. -[2012 V.4, №1.-P.1-11.
18. Mesenchymal stem cells for treatment of CNS injury/ M. Azari, L. Mathias, E.Ozturk [et al.] // Curr.Neuropharmacol.- 2010,V.8,№4.-P.316-323.
19. *Zinoker S.* Rat mesenchymal stromal cells inhibit T cell proliferation? But not cytokine production through inducible nitric oxide synthase/ S. Zinoker , J.T. Vaage // Front. Immunology.-2012.-V.3.-P.62
20. Human mesenchymal stem cells protect human islets from proinflammatory cytokines/ T. Y. Yeung, K.L. Seelinger., T. Kin [et al.,] PLoS One.-2012.-V.7№5 e38189
21. Mesenchymal stem cells as immunomodulators in a vascularized composite allotransplantation/ Y-R.Kuo, Ch-Ch Chen, Sn. Goto etal.,// Clin.Dev.Immunol.-2012; 2012:-e854846
22. Comparative analysis of the immunomodulatory properties equine adult derived mesenchymal stem cells / D. D. Carrade., M.W. Lame., M.S. Ken // Cell Mol. -[2012 V.4, №1.-P.1-11.
23. Neurotrophic features of human adipose tissue – derived stromal cells: in vitro and in vivo studies/ W. Lattanzi , M.C. Geloso , N. Saulhier, et al., // J.Biotechnol.-2011; 2011 468705.
24. Pro-inflammatory phenotype of perivascular adipocytes: influence of high fat feeding/ T.K.Chatterjee L.L Stoll, G.M. Denning.[et al]. // Cire.Res.-2009. –V.104,№4. –P.541-549

РЕЗЮМЕ

ІМУНОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КЛІТИН СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЇ ФРАКЦІЇ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ

Лісяний Н. І., Гнедкова І.О, Гнедкова М. О., Шмельова Г.А.
ДУ «Інститут нейрохірургії ім акад. А.П. Ромоданова», Київ

Для вирішення завдань клінічної регенераторної медицини широко використовують клітини стромально- васкулярної фракції (СВФ), виділені з жирової тканини, що містять МСК. Було вивчено дію клітин СВФ на проліферативну відповідь лімфоцитів. Встановлено, що додавання клітин адгезивної фракції після 24 і 72 годин культивування пригнічувало проліферативну відповідь лімфоцитів в сингенній, алогенній і ксеногенній системах практично в два рази. Супернатанти СВФ клітин 72 годин культивування спричиняли достовірний супресорний ефект на активовані мітогеном ксеногенні лімфоцити людини і стимулюючий ефект на проліферативну відповідь лімфоцитів миші в алогенній системі. У зв'язку з цим необхідно враховувати різні варіанти дії МСК на імунокомпетентні клітини багато в чому залежні від рівня продукції ними прозапальних і антизапальних цитокінів.

SUMMARY

IMMUNOLOGICAL PROPERTIES THE CELLS OF STROMAL VESSEL FRACTION FROM ADIPOSE TISSUE

N.I. Lysyany, I.A.Gnedkova, M.A.Gnedkova, A. A. Shmeleva
GD "Romodanov Neurosurgery Institute", Kyev

The cells of stromal vessel fraction (SVF) isolated from adipose tissue and containing mesenchymal stem cells (MSC) are used widely by clinic regenerative medicine for solving some problems.. The influence of the cells SVF on proliferative response of the lymphocytes have been studied. The addition of the cells of adhesive fraction after 24 and 72 hours of the cultivation suppressed the proliferative response of the lymphocytes in singenic, allogenic and xenogenic systems two times practically. The supernatantes of SVF cells cultivated for 72 hours showed certain suppress effect on the xenogenic lymphocytes man activated by mitogen and stimulating effect on the lymphocytes of mice in the allogenic system. These findings indicate that it is necessary to take account of the different variations of influence MSC on the immunocompetent cells depending upon the level of pro-inflamed and anti-inflamed cytokines produced by them.