

ЛИТЕРАТУРА

1. Viteri, B. Hematuria and Proteinuria in Children / B. Viteri, J. Reid-Adam // Pediatrics in Review. – 2018. – Vol. 39, №12. – P. 573–587; DOI: <https://doi.org/10.1542/pir.2017-0300>.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ИСТОЧНИКОВ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКЗОСОМАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ

Жартун Е.С.¹, Нижегородова Д.Б.²

Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова
Белорусского государственного университета¹,
Белорусская медицинская академия последипломного образования²

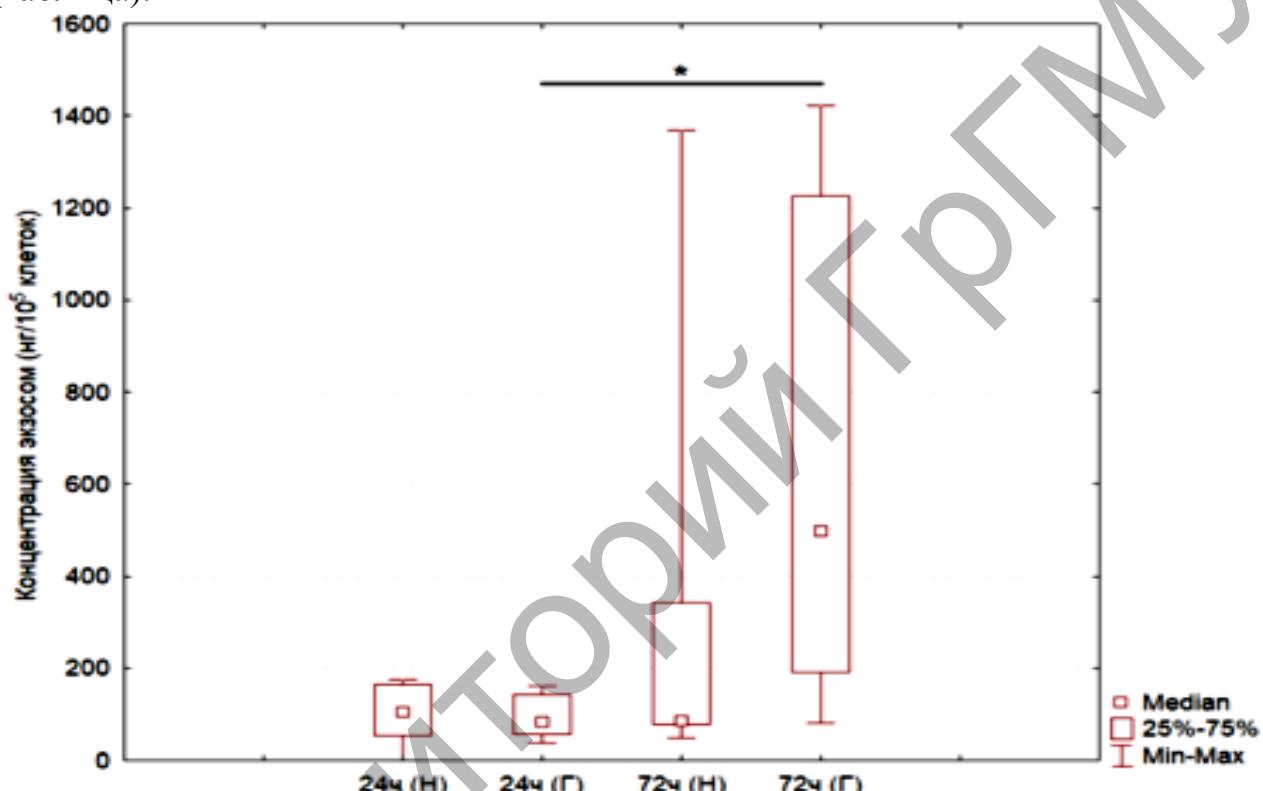
Актуальность. Кондиционная среда или ее отдельные компоненты, в частности – экзосомы, опосредуют многие биологические функции мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) [1]. Актуальность изучения экзосомальной фракции обусловлена ее высокой стабильностью, отсутствием риска иммунного отторжения, репаративными, противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами [2]. Однако, до сих пор остаются открытыми вопросы оптимальных методов и условий получения экзосом из ММСК.

Цель. Получить экзосомальную фракцию из кондиционной среды ММСК костного мозга (КМ) и жировой ткани (ЖТ) здоровых доноров различными способами выделения и определить концентрацию экзосом в условиях нормоксии и гипоксии культуры ММСК.

Методы исследования. Материалом исследования явились ММСК КМ (n=4) и ЖТ (n=4), культивируемые в полной культуральной среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 1% L-глютамина, 1% антибиотика-антимикотика в CO₂-инкубаторе или в анаэробных условиях с использованием Anaerocult-A mini. Экзосомы выделяли из кондиционной среды ММСК с помощью набора ExoPREP или рутинным методом трехэтапного центрифугирования. Количество экзосом определяли набором для иммуноферментного анализа ExoTEST и фотометром SUNRISE. Статистический анализ выполняли в программе STATISTICA 8.0.

Результаты и их обсуждение. При выделении экзосом с помощью набора ExoPREP и рутинном трехэтапном центрифугировании не выявлено статистически значимых различий в количестве экзосом в 24-часовых культурах ММСК как в условиях нормоксии (97,59 [77,2; 119,43] и 104,45 [48,31; 154,55], соответственно), так и при гипоксии (133,73 [25,85; 218,77] и 83,35 [73,98; 123,73], соответственно). В связи с этим, последующие экзосомальные фракции получали способом рутинного центрифугирования. Установлено, что через 72 часа культивирования концентрация экзосом

увеличивалась в условиях гипоксии с 83,35 [73,98; 123,73] нг/10⁵ клеток до 380,95 [120,14; 1027,46] нг/10⁵ клеток ($p=0,04$, рисунок), как в культурах ММСК КМ ($p=0,01$), так и ЖТ ($p=0,03$), в то время как в условиях нормоксии концентрация экзосом повышалась только в ММСК ЖТ ($p=0,01$, таблица). Показано, что в 24-часовых культурах уровень экзосом в ММСК КМ был сопоставим с таковым в ММСК ЖТ не зависимо от условий культивирования, в то время как в 72-часовых культурах в условиях гипоксии концентрация экзосом увеличивалась в культурах ММСК КМ по сравнению с ММСК ЖТ ($p=0,01$) при отсутствии количественных различий в условиях нормоксии (таблица).



Примечание: Н - культивирование ММСК в условиях нормоксии, Г - культивирование ММСК в условиях гипоксии

Рисунок – Динамика концентрации экзосом (нг/10⁵ клеток) в кондиционной среде ММСК костного мозга и жировой ткани, культивируемых в условиях нормоксии и гипоксии

Таблица – Концентрация экзосом (нг/10⁵ клеток) в кондиционной среде ММСК костного мозга и жировой ткани, культивируемых в условиях нормоксии и гипоксии

Источник ММСК	24 часа		72 часа	
	Нормоксия	Гипоксия	Нормоксия	Гипоксия
Костный мозг	117,07 [58,67; 175,47]	99,93 [37,29; 162,56]	81,85 [29,19; 101,00]	959,87 [497,55; 1422,19]
Жировая ткань	99,27 [24,16; 152,39]	83,35 [78,39; 109,82]	341,99 [163,73; 886,81]	192,24 [100,14; 645,90]

Примечание: указаны медианы и промежуточки [25%; 75%]

Выводы. Наиболее оптимальным способом получения экзосом является рутинное трехэтапное центрифугирование кондиционной среды, полученной от 72-часовой культуры ММСК в условиях гипоксии. Условия культивирования не оказывают влияния на секрецию экзосом в 72-часовой культуре ММСК ЖТ, однако культивирование ММСК КМ в условиях гипоксии приводит к значимому увеличению продукции экзосом, что необходимо учитывать при выборе оптимального источника ММСК и их использовании при

иммунообусловленной патологии, сопровождающейся гипоксическими состояниями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mendt, M. Mesenchymal stem cell-derived exosomes for clinical use / M. Mendt, K. Rezvani, E. Shpall // Bone Marrow Transplant. – 2019. – Vol. 54, № 2. – P. 789-792.
2. Hypoxia and extracellular vesicles: A review on methods, vesicular cargo and functions / N. Bister [и др.] // J. Extracell. Vesicles. – 2020. – Т. 10, № 1. – С. e12002.

ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА И ГИПЕРГЛИКЕМИИ НА СОДЕРЖАНИЕ АНТИКОАГУЛЯНТНЫХ ПРОТЕИНОВ С И S У ДЕТЕЙ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА В СТАДИИ КЛИНИКО-МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ДЕКОМПЕНСАЦИИ

Жемойтяк В.А.¹, Васько Т.П.², Лещинская М.Р.²

Гродненский государственный медицинский университет¹,
УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница»²

Актуальность. Патологическое состояние – склонность к тромбозу – может быть обусловленное комбинацией факторов тромбогенного риска. Среди причин тромбозов, кроме избытка в кровотоке клеток крови (эритроциты, тромбоциты, лейкоциты), нарушений взаимодействия сосудистой стенки с тромбоцитами, важное значение имеет снижение концентрации и активности факторов противосвертывающей системы крови – антитромбина (АТ) III, протеина С и протеина S. Есть данные о влиянии протеина S на чувствительность к инсулину.

Ряд факторов, негативно действующих на клеточные мембранны, способны изменять активность протеинов и специфических эндотелиальных рецепторов для протеина С. Хроническая гипергликемия повышает гликозилирование белковых компонентов клеточных мембран. Развитие острых и поздних осложнений сахарного диабета (СД) опосредовано прямым воздействием метаболических нарушений на сосудистую стенку, усилением неферментного гликозилирования белков, нарушением функции печени и эндотелиальной дисфункцией

Цель. Выявление особенностей реагирования антикоагулянтной системы крови по уровню С и S протеинов на фоне метаболического ацидоза и гипергликемии у детей с сахарным диабетом 1 типа в стадии клинико-метаболической декомпенсации (кетоацидоза).

Методы исследования. Нами обследовано 36 детей (11 мальчиков и 25 девочек) с СД 1 типа в стадии клинико-метаболической декомпенсации. Возраст обследуемых – от 7 до 17 лет. Кроме общеклинического обследования проводилось исследование КОС, коагулограммы с определением уровня