

Выводы. Полученные экспериментальные данные позволяют сделать вывод, что хроническая антенатальная алкоголизация оказывает отдаленное повреждающее действие на гистоструктуру экзокринной части поджелудочной железы, выражающееся атрофическими изменениями паренхимы, что подтверждается снижением основных морфометрических показателей во всех возрастных группах опытных животных.

Литература

1. Зиматкин, С. М. Алкогольный синдром плода / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь. – Минск: Новое знание, 2014. – 208 с.
2. Бонь, Е. И. Отдаленные последствия антенатальной алкоголизации / Е. И. Бонь [и др.] // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – Т.18, № 4. – С. 17–22.
3. Можейко, Л. А. Механизмы повреждения ацинарных клеток поджелудочных железы при остром алкогольном панкреатите / Л. А. Можейко // Весці Нац. акад. навук Беларусі. – Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16(1). – С. 108–116.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕНТИВИРУСНОЙ ТРАНСДУКЦИИ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК

Мухаметшина А.С., Мигас А.А., Шман Т.В.

Республиканский научно-практический центр
детской онкологии, гематологии и иммунологии

Актуальность. Активное использование генетически модифицированных естественных киллерных клеток (НК) ограничено методологическими трудностями доставки генетического материала в эти клетки и затрудняет разработку иммунотерапии на основе НК-клеток. Одним из используемых методов модификации является лентивирусная трансдукция. Однако, его использование ограничено выходом трансдуцированных клеток. Вирус, полученный из векторной кассеты VSV-G, классически используемой для создания химерных антигенных рецепторов для CAR-T-клеток, неэффективно трансдуцирует НК-клетки. Чтобы повысить эффективность трансдукции НК-клеток, мы исследовали альтернативные псевдотипированные белки. Псевдотипированный лентивирусный вектор оболочки бабуина BaEV-TR показывает более высокую эффективность трансдукции. Он связывает входные рецепторы натрий-зависимого переносчика нейтральных аминокислот ASCT-1 и ASCT-2 и широко экспрессируется в гемопоэтических линиях. Таким образом, использование альтернативных псевдотипов лентивирусов позволит

решить многие принципиальные вопросы и определить пути получения достаточного количества генетически модифицированных НК-клеток.

Цель. Сравнить эффективность трансдукции НК-клеток двумя вариантами лентивирусных частиц на основе векторных кассет BaEV-TR и VSV-G.

Материалы и методы исследования. Использовали мононуклеары периферической крови двух здоровых доноров. Первичную культуру НК-клеток получали с помощью набора для деплеции CD3, после чего клетки культивировали в полной питательной среде PRMI-1640 с добавлением 500 МЕ ИЛ-2 за 72 ч до трансдукции; также использовали два лентивирусных вектора с разными оболочечными плазмидами; в первом варианте использовали рMD2.G, кодирующую поверхностный гликопротеин G вируса везикулярного стоматита VSV-G; во втором, BaEV-TR, кодирующем модифицированный оболочечный гликопротеин ретровируса бабуина. В оба варианта были включены плазмиды psPAX2, содержащие гены gag-pol и pUltra, кодирующие ген репортерного белка EGFP.

НК-клетки высевали в культуральный планшет в концентрации 2×10^{-5} клеток/мл с 200 МЕ ИЛ-2 и 10 мкг вектофузина в 0,5 мл среды. К клеткам добавляли вирусные частицы в количестве, необходимом для достижения множественности инфекции 1, 5, 10. Далее проводили центрифугирование при 800 g, 90 мин, 37 °C. После трансдукции вируса клетки инкубировали при 37°C, меняли среду через 24 часа. Уровень трансдукции определяли с помощью проточной цитометрии по экспрессии репортерного белка EGFP через 72 часа.

Результаты. Мы сравнили эффективность трансдукции первичных НК-клеток с двумя вариантами лентивирусных частиц на основе векторных кассет BaEV-TR и VSV-G. Проценты трансдуцированных клеток для множественности заражения 1, 5, 10 с использованием VSV-G и BaEV-TR составляли 0,28%, 1,5%, 2,8% и 50%, 62%, 70% соответственно. Рецептором для VSV-G является липидный рецептор низкой плотности LDL-R, который практически не экспрессируется ни в покое, ни в активированных НК-клетках [1], что объясняет полученную нами низкую скорость трансдукции. В то же время в ответ на активацию НК-клеток ИЛ-2, ИЛ-12 и ИЛ-21 рецепторы шерсти павиана – ASCT-1 и ASCT-2 сверхэкспрессируются, что приводит к повышению эффективности трансдукция BaEV-TR [1] и отражена в наших результатах.

Выводы. Процент НК-клеток, трансдуцированных лентивирусным вектором на основе векторной кассеты BaEV-TR, выше, чем вектором на основе векторной кассеты VSV-G, который в дальнейшем может быть использован для иммунотерапии на основе модифицированных НК-клеток.

Литература

1. Отдельное подмножество высокопролиферативных и лентивирусных векторных (LV)-трансдуцибельных НК-клеток. Определить готовое подмножество для адаптивной клеточной терапии / R. Bari [et al.] // Иммунол. – 2019. – № 1. – С. 2001.

КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ИШЕМИИ И ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ПОЧЕК ЛАКТОФЕРРИНОМ И ЕГО КОМПЛЕКСАМИ С ПАНТЕНОЛОМ И ВИТАМИНОМ Д

**Надольник Л.И., Титко О.В, Катковская И.Н.,
Полубок В.Ч., Гуринович В.А.**

Институт биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси

Актуальность. Ишемические и реперфузионные воздействия могут являться причиной острого повреждения почек в клинических ситуациях: при сосудистой хирургии, хирургии почек, трансплантологии и кардиохирургии, включая коронарное шунтирование [1].

Одним из перспективных направлений терапии ишемически-реперфузионных повреждений почек является фармакологическое пре- и посткондиционирование. В экспериментальных и клинических исследованиях показано, что предварительное введение перед выполнением аортокоронарного шунтирования эритропоэтина приводит к уменьшению тяжести острого повреждения почек [2]. Безусловно, исследование механизмов ишемического/реперфузионного (И/Р) повреждения почек и разработка эффективных фармакологических средств их защиты являются актуальными направлениями биохимии и фармакологии.

Цель. Оценить защитные эффекты лактоферрина и его комплексов с пантенолом и витамином Д при моделировании ишемии и ишемии/реперфузии почек у крыс.

Материалы и методы исследования. Исследования выполнены на самках крыс массой 200-240 г. Ишемию и ишемию/реперфузию (И/Р) моделировали путем наложения зажимов на сосудистый пучок почек. Продолжительность ишемии составляла 30-40 минут, реперфузии – 120 минут. Операция проводилась под 2,8% хлоральгидратным наркозом при его внутрибрюшинном введении в дозе 350 мг/кг. Хирургические манипуляции осуществлялись с соблюдением всех правил асептики.