

Микровезикулы клеток линии НК-92 изменяют фенотипические характеристики эндотелиальных клеток

Научный руководитель – Соколов Дмитрий Игоревич

Маркова К.Л.¹, Березкина М.Э.², Тыщук Е.В.³, Гребенкина П.В.⁴

1 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: kseniyabelyakova129@gmail.com*; 2 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: berezkina@internet.ru*; 3 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: tyshhuk.elizaveta@gmail.com*; 4 - Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: grebenkinap@gmail.com*

Введение. Микровезикулы (МВ) - субклеточные структуры, размером 150-1000 нм, высвобождаемые клетками во внеклеточную среду. Предполагают, что МВ способны передавать «биологическую информацию» клеткам и участвовать в межклеточных коммуникациях. Взаимодействия между эндотелиальными клетками (ЭК) и НК-клетками лежат в основе различных процессов, протекающих в организме человека, как при физиологических, так и патологических условиях. Предполагают, что МВ НК-клеток опосредуют функциональную активность естественных киллеров. В связи с этим, изучение влияния МВ НК-клеток на изменение свойств и функций ЭК представляется актуальным.

Цель исследования. Оценить влияние МВ клеток линии НК-92 на изменение фенотипических характеристик ЭК линии EA.hy926.

Материалы и методы. Источником МВ служили клетки линии НК-92. МВ выделяли при помощи метода дифференциального центрифугирования. Для стандартизации и количественной оценки МВ производили измерения содержания белка в них по методу Бредфорда. Контроль размера выделяемых везикул проводили при помощи спектрометра Zetasizer NanoZS. Для изучения влияния МВ клеток линии НК-92 на фенотип ЭК линии EA.hy926 МВ с ЭК, культивировали 24 часа при 37 °С и 5% CO₂. Спустя сутки ЭК отмывали раствором Хенкса без CaCl₂, снимали с планшета раствором версена и обрабатывали моноклональными антителами к CD31, CD119, CD54, CD45, CD34, VEGFR1, VEGFR2, CD105 или изотипическими антителами. Оценку экспрессии молекул производили при помощи проточного цитофлуориметра FACS Canto II. Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 10.

Результаты. После инкубации ЭК линии EA.hy926 с МВ клеток линии НК-92, было выявлено присутствие ЭК с фенотипом CD45+, при этом интенсивность экспрессии ЭК CD45 также была повышена после их инкубации в присутствии МВ по сравнению с интактными ЭК. Также инкубация ЭК с МВ клеток линии НК-92 приводила к снижению количества ЭК, экспрессирующих молекулы VEGFR1, CD34, CD31, CD119. Однако интенсивность экспрессии VEGFR1, CD31 и CD119 ЭК не изменялась. Снижение количества CD34+ЭК после инкубации с МВ клеток линии НК-92 характеризовалось повышенной интенсивностью экспрессии ЭК данного рецептора по сравнению с интактными ЭК линии EA.hy926. Установлено, что количество CD105+ЭК не изменялось после инкубации в присутствии МВ клеток линии НК-92, однако интенсивность экспрессии CD105 клетками линии EA.hy926 была снижена. Также, не было отмечено различий в количестве CD54+ЭК, при этом интенсивность экспрессии CD54 на ЭК была выше после их инкубации с МВ клеток линии НК-92 по сравнению с интактными ЭК.

Выводы. МВ NK-клеток модулируют фенотипические характеристики ЭК линии EAhv926, в том числе за счет переноса несвойственной для них молекулы CD45. Таким образом, МВ образуемые клетками линии NK-92, способны изменять свойства, поведение и функциональную активность ЭК.

Работа поддержана государственным заданием № АААА-А19-119021290116-1.

Авторы выражают благодарность научному руководителю д.б.н. Соколову Д.И.