

**Оценка биологической активности комбинированного генотерапевтического лекарственного препарата для лечения ишемии нижних конечностей *in vivo* и *in vitro*.**

**Климович Полина Сергеевна**

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия

E-mail: lex2050@mail.ru

Ангиогенез - процесс формирования кровеносных сосудов за счёт пролиферации и миграции эндотелиальных клеток.[1] Основа терапевтического ангиогенеза - стимуляция роста и ремоделирования сосудов в ишемизированных тканях с помощью введения рекомбинантных ангиогенных факторов, их генов или прогениторных клеток, способных продуцировать ангиогенные факторы и факторы роста или дифференцироваться в клетки сосудов. Введение рекомбинантных факторов стимулирует процессы ангиогенеза, но использование генетических конструкций эффективнее, так как обеспечивает продолжительную экспрессию трансгена. Стабилизация вновь сформированных сосудов происходит за счет взаимодействия эндотелиальных клеток с перицитами и за счет продукции Ang-1. [2]

В нашей лаборатории проводятся исследования комбинированного генотерапевтического лекарственного препарата, содержащего две плазмидные конструкции, кодирующие оптимизированные последовательности генов HGF и AGP для лечения ишемии нижних конечностей. Он способен увеличивать продукцию двух факторов роста HGF и Ang-1, один из которых стимулирует формирование новых сосудов и оказывает антиапоптотическое действие, а второй их стабилизирует. Результаты наших исследований по применению генных препаратов на модели ишемии тканей у животных, оказываются эффективнее по сравнению с моногенной терапией.

Проведено изучение разрабатываемого препарата *in vitro*: оценена биологическая активность ростовых факторов, секретлируемых клетками HEK293 после трансфекции их препаратом. Обнаружено, что их присутствие стимулирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, мезенхимных стромальных клеток жировой ткани, а также увеличивает способность эндотелиальных клеток формировать капилляро-подобные структуры. Присутствие факторов HGF и Ang-1 увеличивает миграцию сосудистых и гладкомышечных клеток из эксплантов в Матригель, формирование капилляро-подобных структур на модели трёхмерной эксплантной культуры сосудистого колечка мышцы *ex vivo*. Исследование генотоксических свойств показало, что препарат не вызывает образование ДНК-комет в мезенхимальных клетках и эпителии.

*In vivo* показано, что препарат обладает высокой терапевтической активностью: при введении в ишемизированные мышцы вызывает длительную продукцию факторов роста, стимулирует восстановление перфузии тканей кровью, васкуляризацию, уменьшение некроза. При внутримышечном введении не диссеминирует, обеспечивая локальный эффект. Таким образом, проведено изучение специфической активности препарата *in vivo* и *in vitro*, выявлены механизмы его стимулирующего воздействия на реваскуляризацию ишемизированных тканей, что способствует сохранению их структуры и функции, а также препарат не является генотоксичным.

**Источники и литература**

- 1) Парфенова ЕВ, Ткачук ВА. Терапевтический ангиогенез: достижения, проблемы, перспективы. Кардиологический вестник. 2007
- 2) Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. Nature. 2011.

#### **Слова благодарности**

Выражаю слова благодарности руководителю кафедры биохимии и молекулярной медицины Ткачуку Всеволоду Арсеньевичу за предоставленную возможность участвовать в данной работе. Благодарю своего научного руководителя Рубину Ксению Андреевну, коллег Сёмину Екатерину Владимировну, Долинкина Андрея Олеговича за помощь в работе.