

Сравнение моделей зрелых адипоцитов человека на основе линейной иммортализованной и пулированной первичной культур мезенхимальных стромальных/стволовых клеток

Научный руководитель – Стафеев Юрий Сергеевич

Масников Д.В.¹, Мичурина С.С.², Мамонтова Е.Д.³

1 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: masnikov.dv@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, *E-mail: svetlana_michurina@rambler.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоорганической химии, Москва, Россия, *E-mail: elizaveta.m3@mail.ru*

Жировая ткань (ЖТ), помимо функционирования в качестве депо для хранения энергии, также служит в качестве эндокринного органа, секретирующего различные растворимые факторы. Основными метаболическими нарушениями, сопутствующими ожирению, являются инсулинорезистентность и гиперлипидемия, которые являются важнейшими факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Следовательно, существует явная необходимость в разработке новых фармацевтических препаратов для предотвращения развития и лечения ожирения, а также его осложнений. Доклинические исследования эффективности и безопасности различных химических или биологических фармацевтических агентов требуют релевантных *in vitro* моделей. Целью данной работы является сравнение моделей зрелых адипоцитов человека на основе линейной иммортализованной культуры мезенхимных стромальных клеток ЖТ (МСК ЖТ) ASC52Telo и пулированной первичной культуры МСК ЖТ здоровых доноров.

С помощью метода проточной цитометрии были определены профили экспрессии поверхностных маркеров МСК ЖТ. Как ASC52Telo, так и первичные МСК ЖТ здоровых доноров имели фенотип CD140b+CD105+CD90+CD73+NG2+CD14-CD45-, что соответствует мезенхимальному фенотипу. Далее проводили адипогенную дифференцировку клеток по модифицированному протоколу Zebisch и соавт. с последующими оценками количества липидных включений (окрашивание красителем Oil Red O с фазово-контрастной микроскопией) и экспрессии адипогенных маркеров PPAR γ и FABP4 методом иммуноблоттинга. Анализ количества липидных включений продемонстрировал сниженную эффективность дифференцировки у линии ASC52Telo по сравнению с МСК ЖТ здоровых доноров. Данные результаты подтверждаются анализом экспрессии адипогенных маркеров: экспрессия FABP4 существенно выше в зрелых адипоцитах, полученных из МСК ЖТ здоровых доноров, чем из ASC52Telo. Для определения физиологической релевантности модели зрелых адипоцитов мы провели оценку инсулиновой чувствительности методами оценки активационных фосфорилирований инсулинового сигнального каскада (иммуноблоттинг, белки IRS-1, Akt, AS160) и инсулин-стимулируемого захвата [3H]-2-дезоксиглюкозы. Полученные результаты свидетельствуют о намного более высокой инсулиновой чувствительности адипоцитов, полученных из МСК ЖТ здоровых доноров, по сравнению с адипоцитами, полученными из ASC52Telo (более сильная стимуляция инсулином захвата глюкозы, более выраженная активация каскада).

Данное исследование позволяет предполагать, что на настоящий момент линия ASC52Telo не способна заменить использование пулированных культур МСК ЖТ здоровых доноров в качестве релевантной модели для тестирования препаратов для коррекции метаболизма. Пулированная культура МСК ЖТ по-прежнему сохраняет свои недостатки, а именно

зависимость от вариабельности между донорами, однако, линейная иммортализованная культура МСК ЖТ ASC52Telo не демонстрирует необходимого потенциала для метаболических исследований.

Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда №20-75-00010.