

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова
Факультет фундаментальной медицины

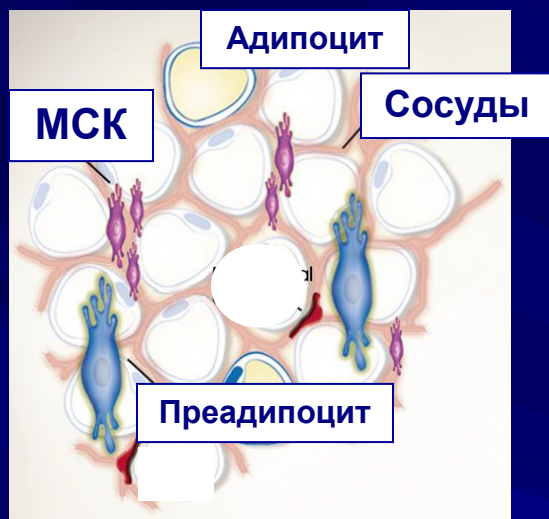


**Влияние возраста пациентов на
ангиогенные свойства
мезенхимальных стволовых клеток
жировой ткани**

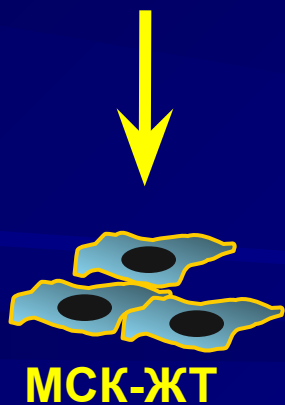
Докладчик:
Ефименко Анастасия Юрьевна

Москва - 2011

Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани (МСК-ЖТ) стимулируют рост кровеносных сосудов



Жировая ткань



Произдукция ангиогенных факторов роста VEGF, HGF, bFGF, Angpt1 и др.

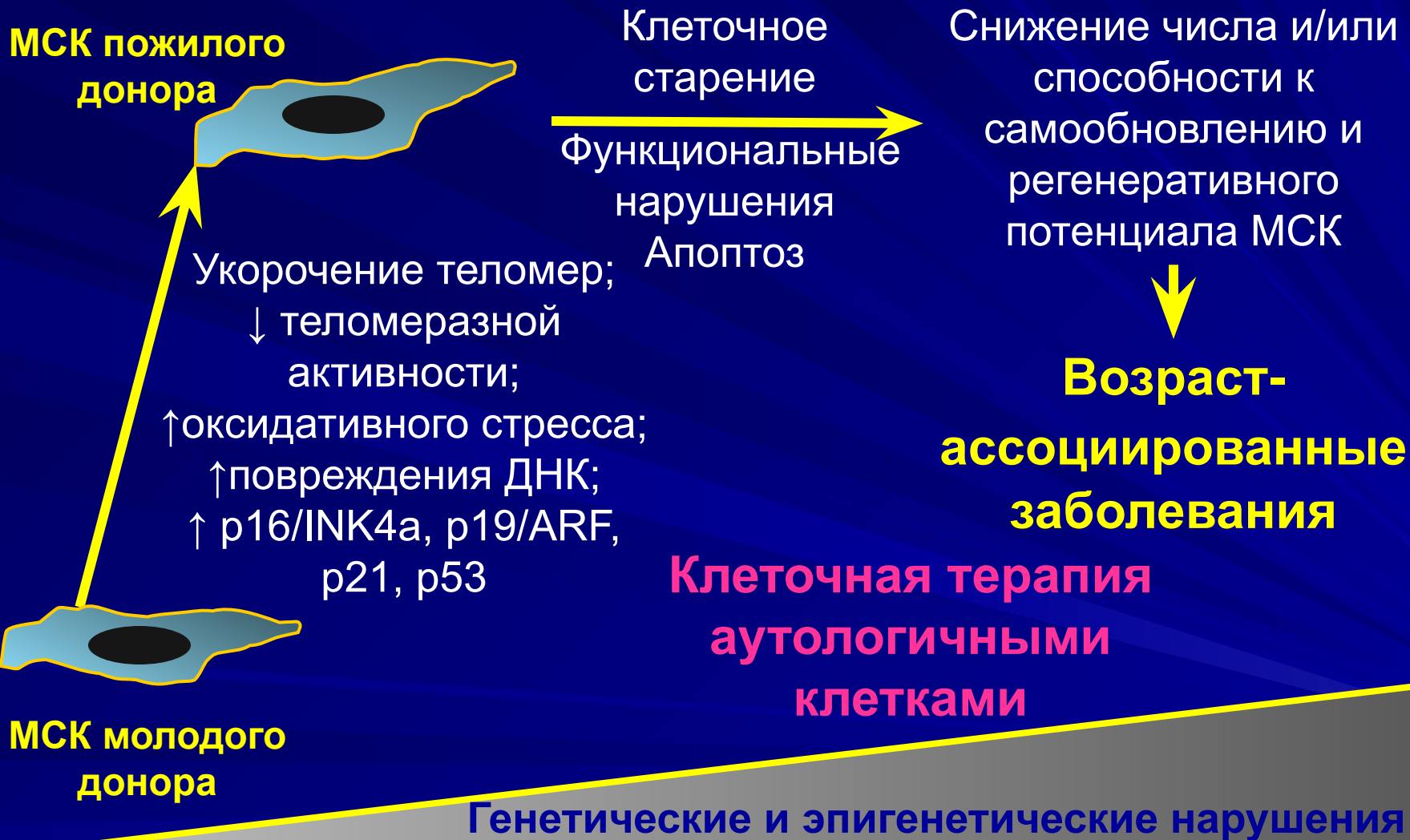


иРА, плазмин, матриксные металлопротеиназы

Стабилизация новообразованных сосудов



Старение МСК



Цель работы - оценить влияние возраста на ангиогенные свойства мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани пациентов без кардиологических заболеваний и больных ишемической болезнью сердца.

Задачи

- Сравнить иммунофенотип, пролиферативную активность и накопление маркеров старения в МСК-ЖТ пациентов разного возраста с ишемической болезнью сердца (ИБС) и без нее.
- Оценить содержание ангиогенных факторов (VEGF, PlGF, HGF, ангиопоэтина-1, ангиогенина и тромбоспондина-1) в кондиционированной среде и ангиогенную активность суммарных продуктов секреции МСК-ЖТ пациентов разного возраста с ИБС и без нее.
- Проанализировать профиль экспрессии генов, кодирующих факторы, которые участвуют в регуляции ангиогенеза, в МСК-ЖТ пациентов разного возраста с ИБС и без нее.

Пациенты

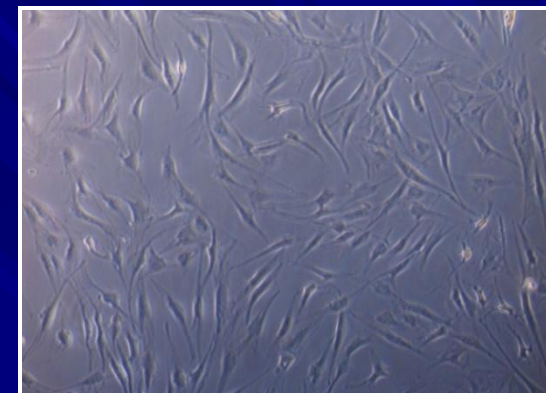
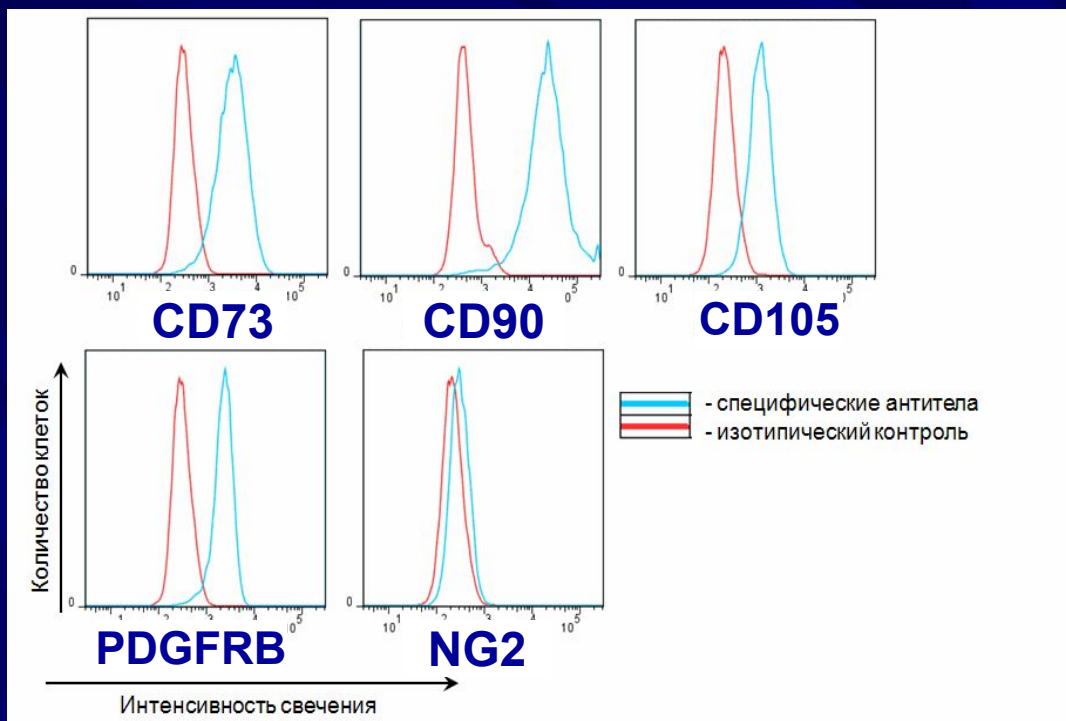
1. Пациенты без ИБС (n=31):

- 2-12 лет (n=4, средний возраст $7,3 \pm 5,4$ лет)
- 35-55 лет (n=14, средний возраст $42,3 \pm 7,1$ года)
- Старше 60 лет (n=13, средний возраст $66,2 \pm 6,8$ лет)

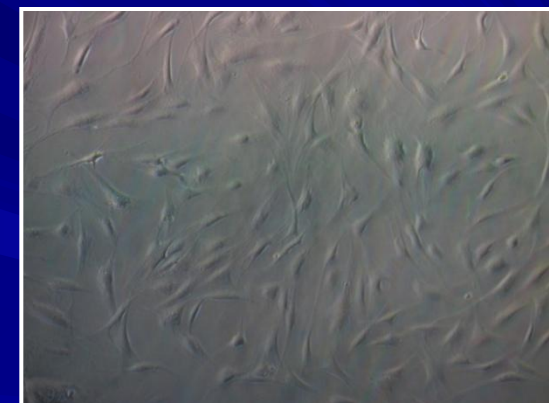
2. Пациенты с ИБС (n=31):

- 44-48 лет (n=6, средний возраст $46,0 \pm 1,67$ лет)
- 52-58 лет (n=10, средний возраст $55,4 \pm 1,9$ лет)
- Старше 60 лет (n=15, средний возраст $68,9 \pm 4,2$ лет)

Морфология и иммунофенотип МСК-ЖТ не различаются у пациентов разного возраста



Пациент К., 2,5 года



Пациент Д., 61 год

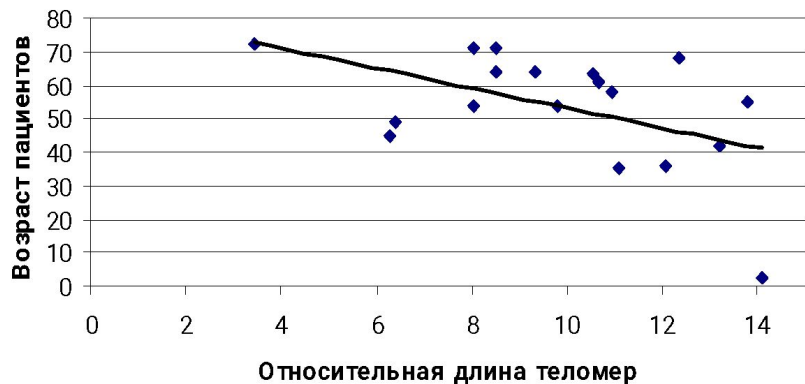
CD73 (>85%),
CD90 (>95%),
CD105 (>95%),
CD14 (<10%),
CD34 (<5%),
CD45 (<2%),
CD79 (<10%)
PDGFRB (>80%),
NG2 (>95%)

Маркеры	42-48 лет	Старше 60 лет
CD90	97 (96; 98)%	96 (95; 97)%
CD73	92 (88; 95)%	93 (92; 94)%
CD105	>99%	>99%
PDGFRB	83 (82; 84)%	85 (83; 88)%
NG2	>99%	>99%

С возрастом снижается доля активно пролиферирующих клеток и длина теломер в МСК-ЖТ

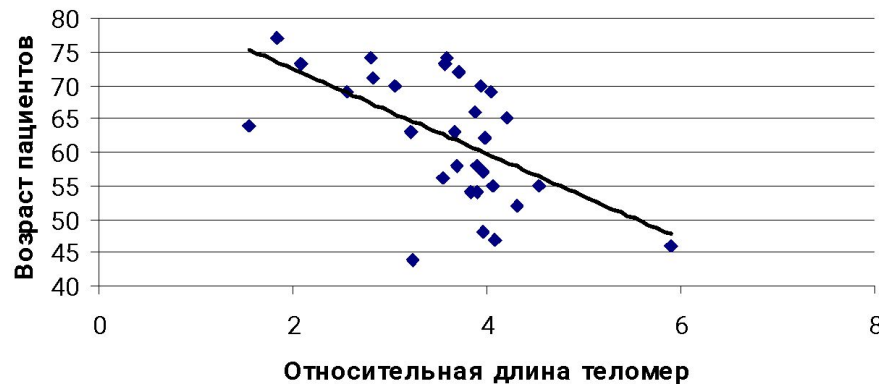
Пациенты без ИБС

$r = -0,47, p=0,03$



Пациенты с ИБС

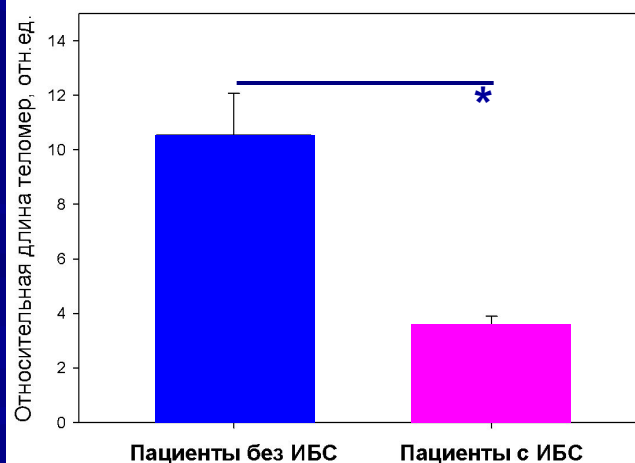
$r = -0,6, p=0,006$



$r=0,8, p=0,006$

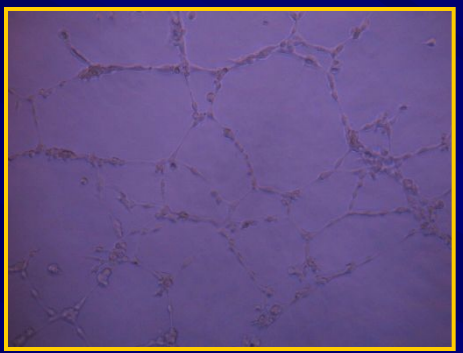
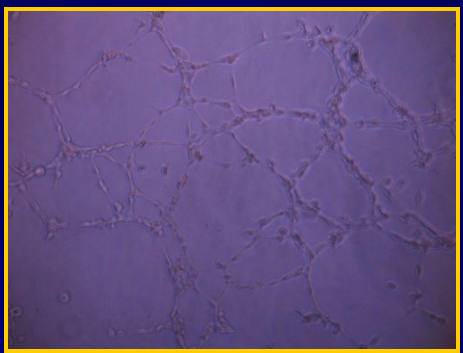
Относительная длина теломер в МСК-ЖТ пациентов старше 60 лет

Доля клеток, поделившихся более 10 раз за 5 дней



Ангиогенная активность суммарных продуктов секреции МСК-ЖТ снижается с возрастом

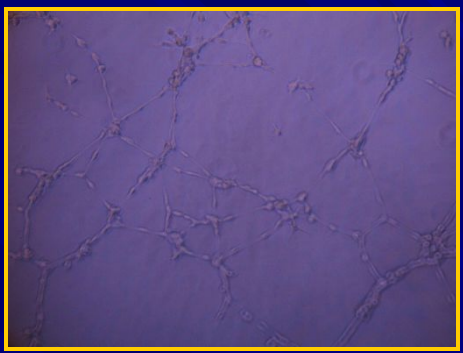
Пациенты без ИБС



Пациент К.,
2,5 года

Пациентка М.,
71 год

Пациенты с ИБС



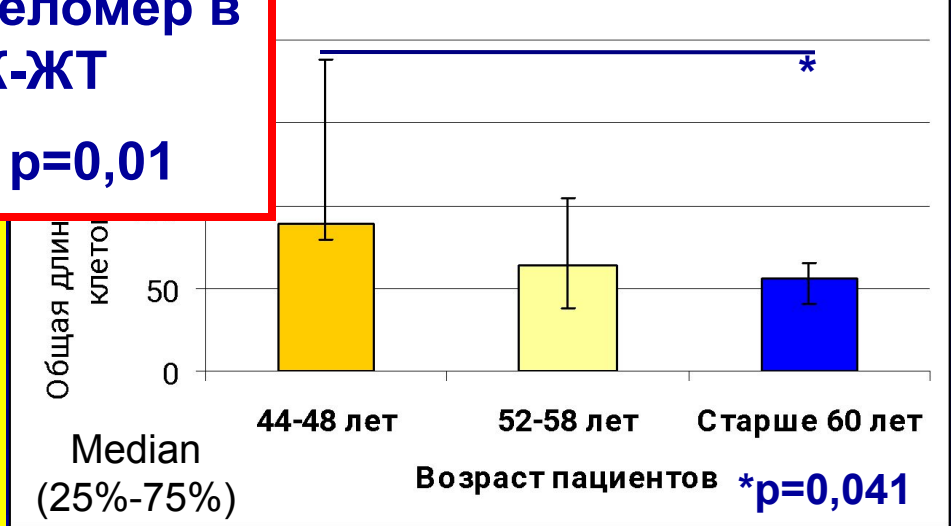
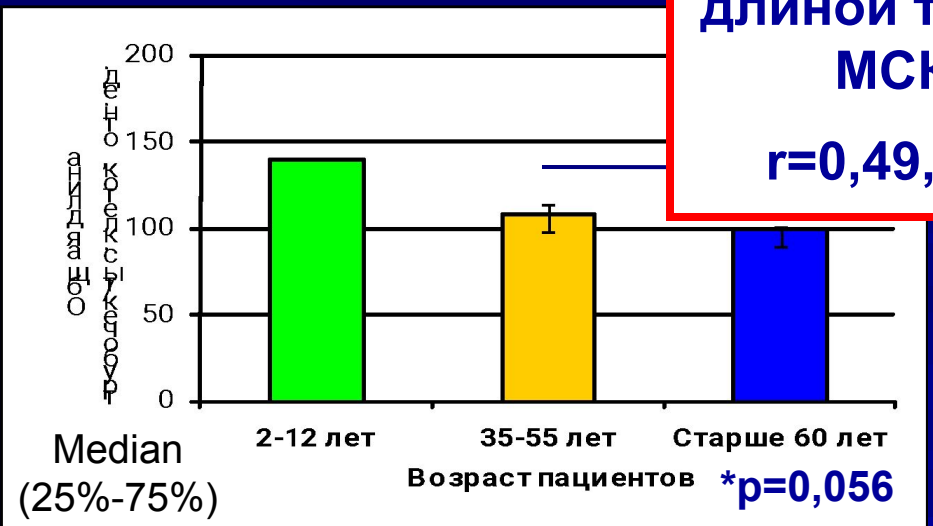
Пациент Н.,
44 года

Пациент Г.,
70 лет

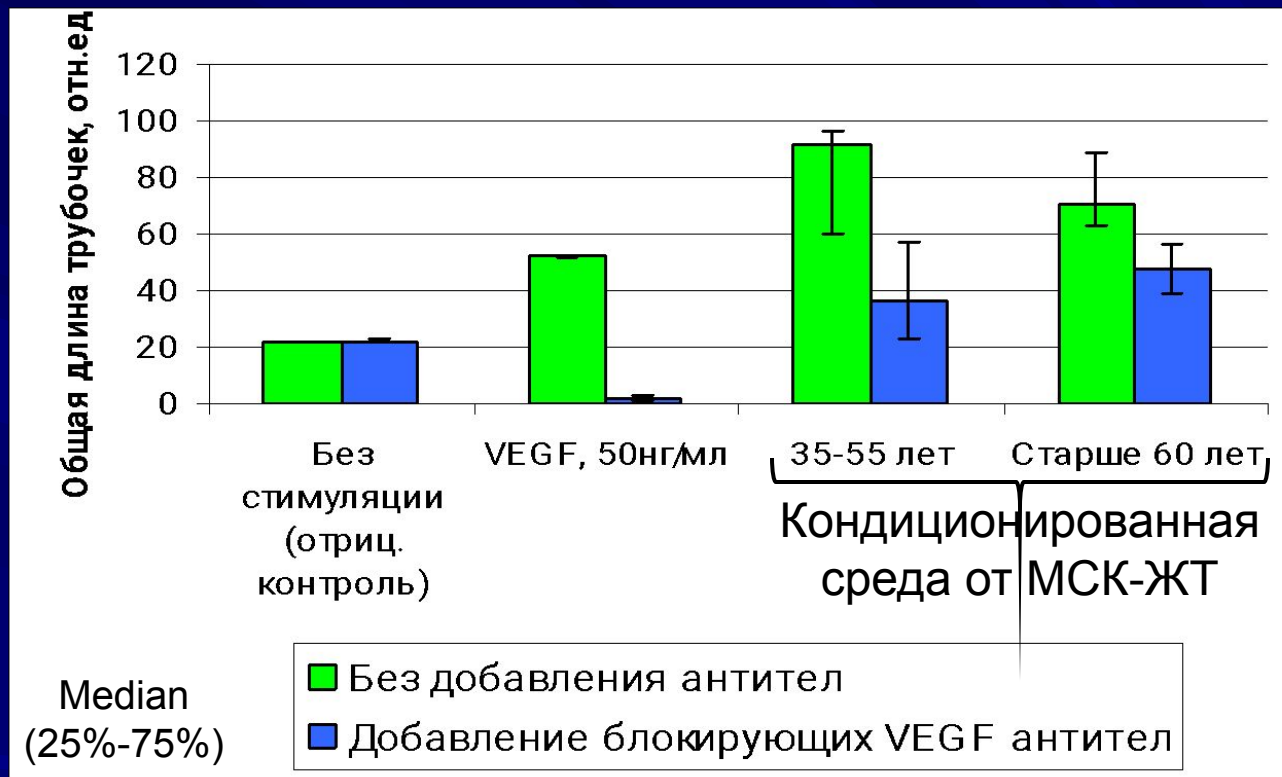
$r=-0,68, p=0,01$

Корреляция с
длиной теломер в
МСК-ЖТ
 $r=0,49, p=0,01$

$r=-0,53, p=0,03$



Вклад VEGF в ангиогенную активность суммарных продуктов секреции МСК-ЖТ снижается в клетках с укороченными теломерами



Корреляция между степенью подавления с помощью блокирующих VEGF антител (%) и длиной теломер в МСК-ЖТ
 $r=0,46$, $p=0,09$

Содержание проангиогенных факторов роста в кондиционированной среде от МСК-ЖТ снижается с возрастом: пациенты без ИБС



Содержание проангиогенных факторов роста в кондиционированной среде от МСК-ЖТ снижается с возрастом: пациенты с ИБС

VEGF

PIGF

Ангиогенин

$r=-0,37, p=0,09$

$r=-0,59, p=0,004$

Ангиопоэтин-1

HGF

Корреляция с ангиогенной активностью суммарных продуктов секреции
 $r=0,79, p=0,004$

$r=-0,72, p=0,001$

Корреляция с длиной теломер в МСК-ЖТ
 $r=0,71, p=0,001$

$r=-0,44, p=0,07$

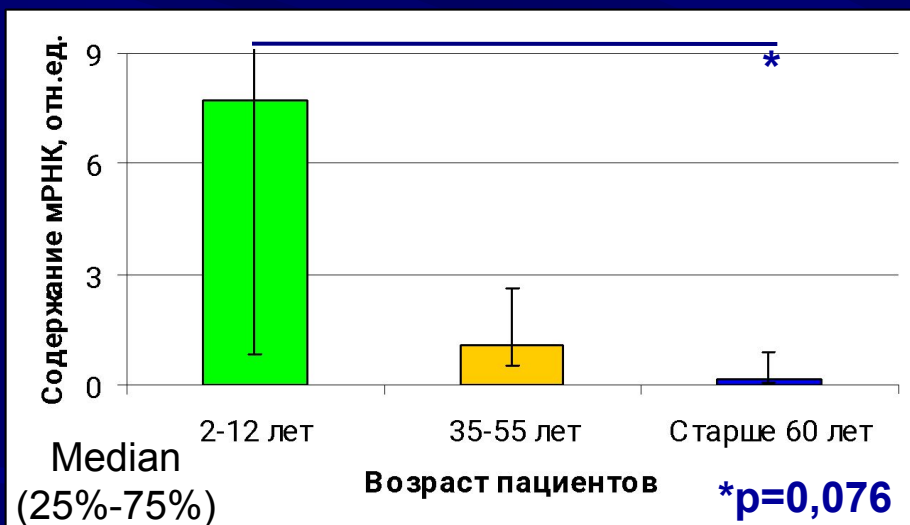
Содержание белка в кондиционированной среде от МСК-ЖТ, нг/млн.клеток

Возраст пациентов

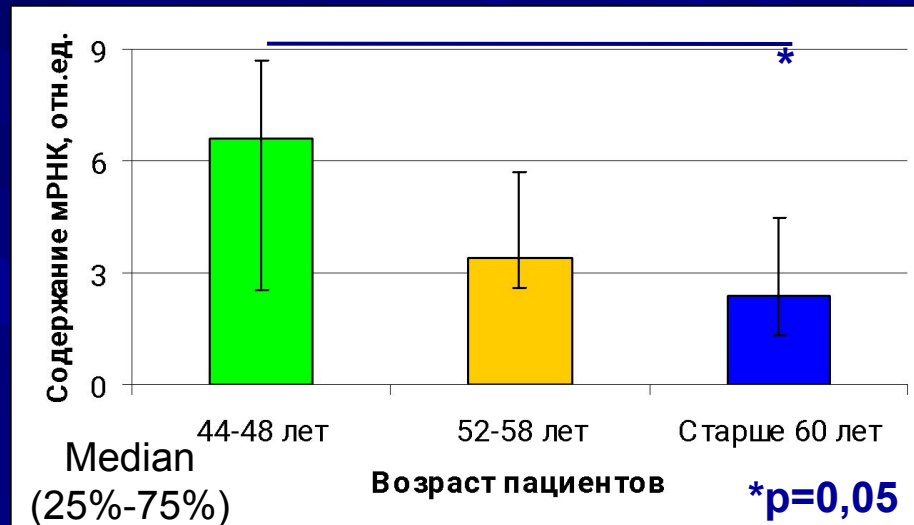
Содержание мРНК генов факторов, регулирующих ангиогенез, в МСК-ЖТ пациентов разного возраста

PIGF

Пациенты без ИБС



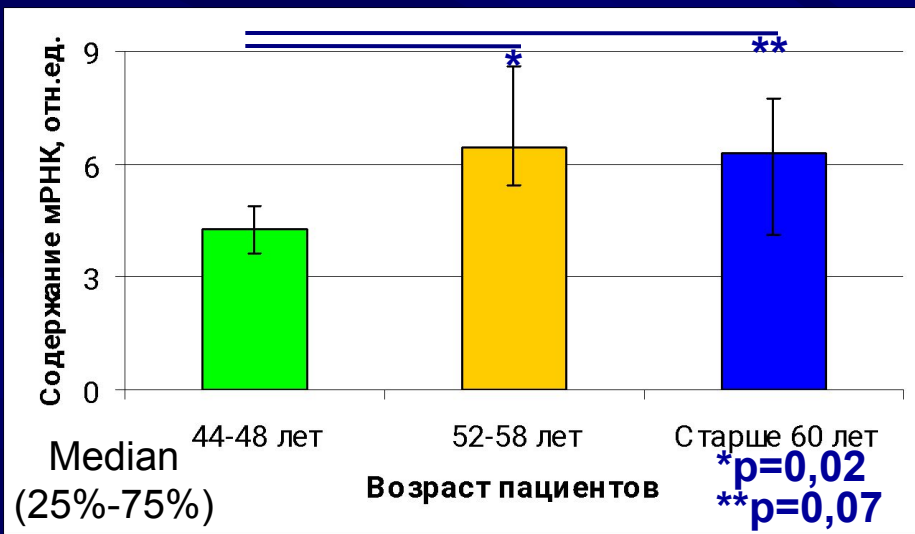
Пациенты с ИБС



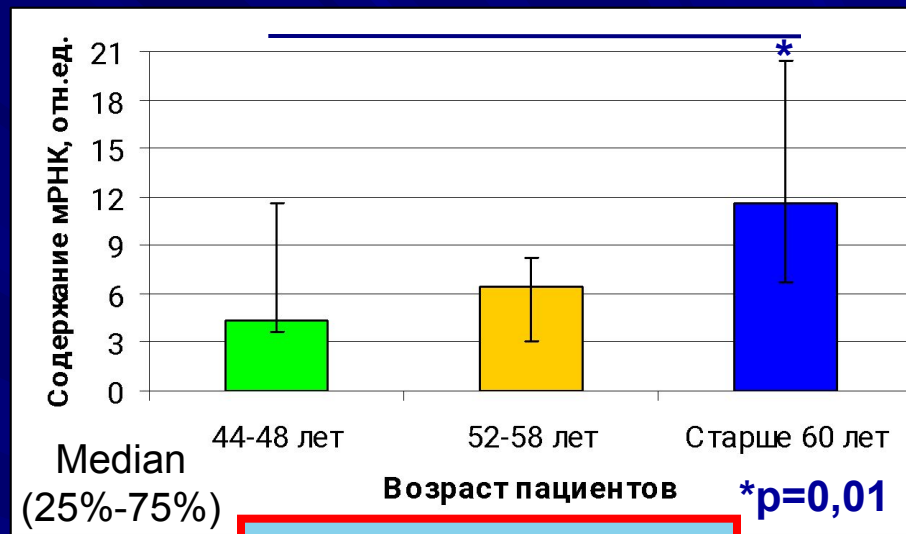
HGF

С возрастом происходит активация системы урокиназы в МСК-ЖТ, особенно в группе кардиологических больных

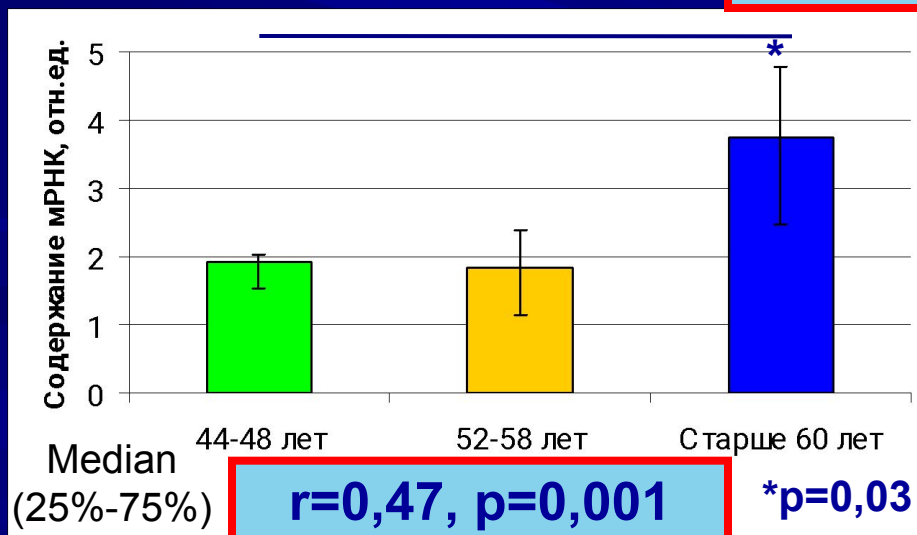
uPA



uPAR



PAI-1



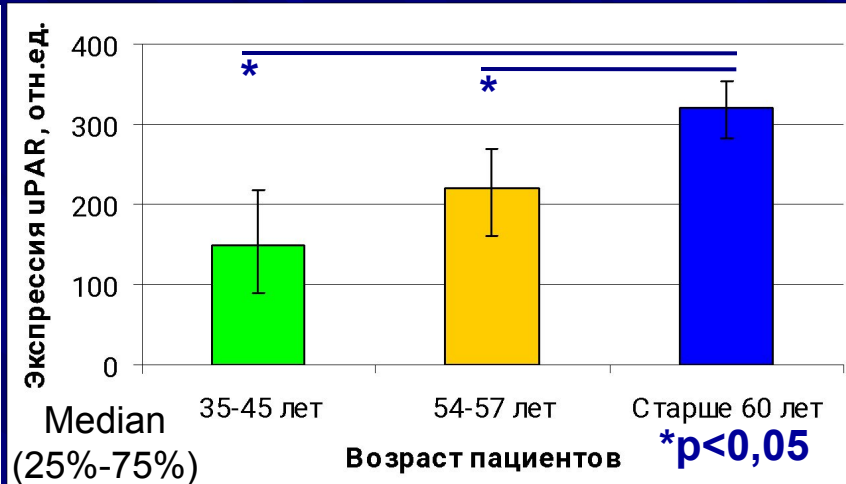
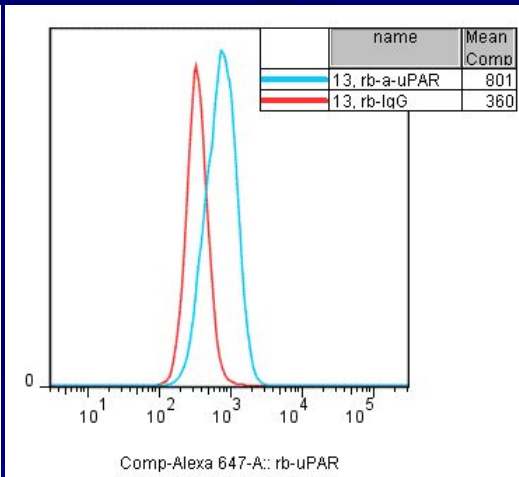
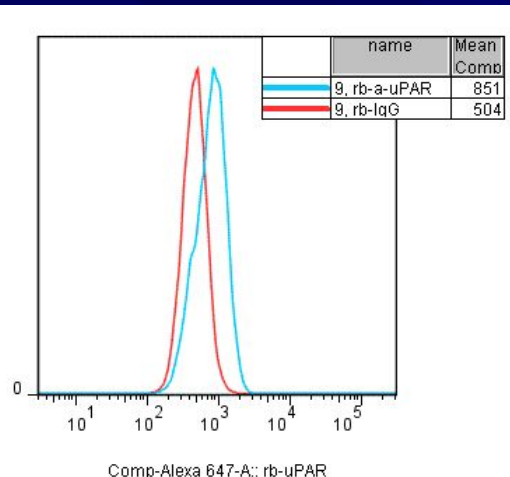
$r=0,46, p=0,001$

$r=0,47, p=0,001$

*p=0,03

С возрастом происходит активация системы урокиназы и металлопротеиназ в МСК-ЖТ

Экспрессия uPAR на поверхности МСК-ЖТ увеличивается с возрастом

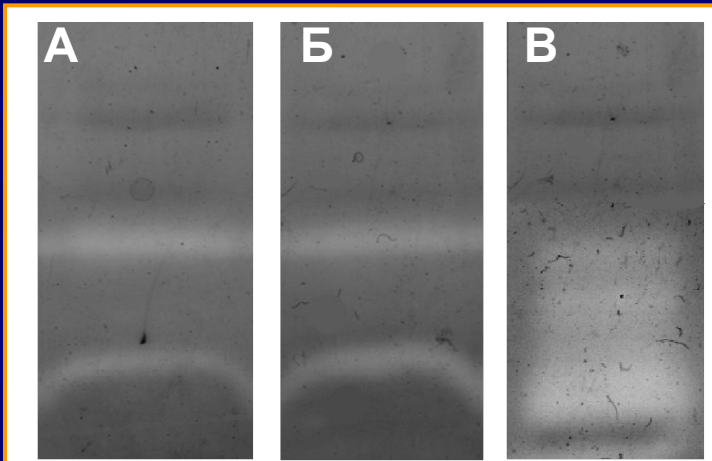


Пациентка П., 36 лет

Пациентка М., 71 год

r=0,65, p=0,01

В МСК-ЖТ пожилых пациентов повышается содержание и активность ММП-2 и ММП-9



- ← 92 кДа – ММП-9
- ← 84 кДа – ММП-9а
- ← 72 кДа – ММП-2
- ← 64 кДа – ММП-2а

А – пациент К., 2,5 года

Б – пациент П., 52 года

В – пациентка Д., 73 года

Заключение

МСК-ЖТ молодого
пациента

Накопление
маркеров
старения

МСК-ЖТ пожилого
пациента

uPA, плазмин,
ММП

Продукция
ангиогенных
факторов роста
VEGF, PlGF, HGF,
Angpt1, ангиогенина

Активация системы
uPA, матричных
металлопротеиназ

Гипоксическое
прекондиционирование

Введение генетических
конструкций



Благодарности

- Моим соавторам Джояшвили Н.А., Старостиной Е.Е.
- Моим научным руководителям Парфеновой Елене Викторовне и Калининой Наталье Игоревне
- Коллективу кафедры биохимии и молекулярной медицины ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова

Спасибо за внимание!

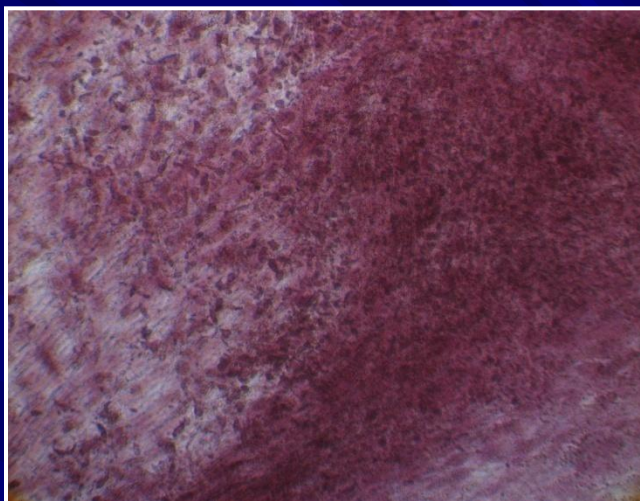
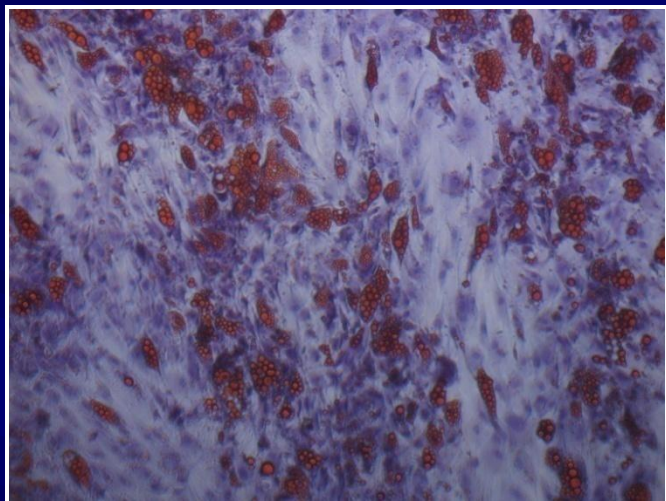
Критерии исключения (общие)

- наличие аутоиммунной патологии;
- наличие злокачественных новообразований, в том числе в анамнезе;
- наличие острых или хронических воспалительных заболеваний;
- сахарный диабет в фазе декомпенсации;
- длительная гормональная или антибиотикотерапия;
- анемия (гемоглобин ≤ 10 г/дл) и гематологические заболевания;
- острые нарушения мозгового кровообращения или черепно-мозговая травма в предшествующие 12 месяцев.

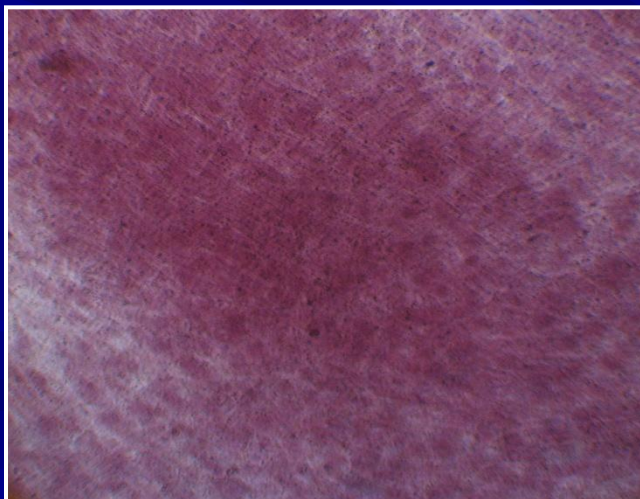
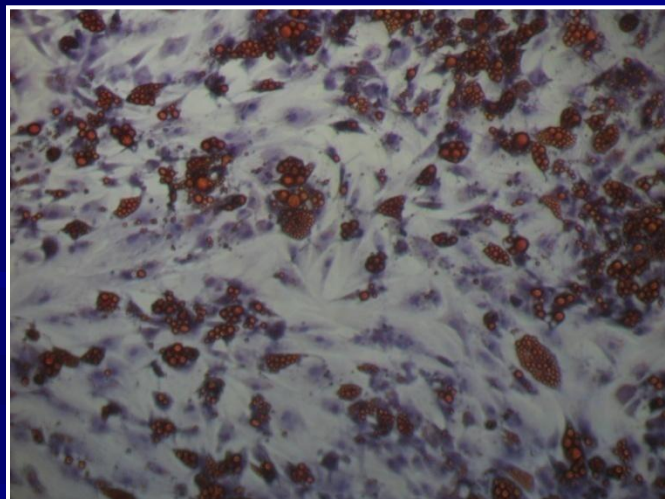
Специальные критерии исключения (пациенты без ИБС)

- наличие сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе инфаркта миокарда (ИМ) или миокардита в анамнезе;
- клинические признаки стенокардии;
- клинические признаки сердечной недостаточности;
- нарушения ритма сердца, такие как пароксизмальная или постоянная форма мерцательной аритмии, частая желудочковая экстрасистолия, пароксизмальная желудочковая тахикардия, блокада левой ножки пучка Гиса;
- выраженные гиперлипидемии.

Дифференцировка МСК-ЖТ

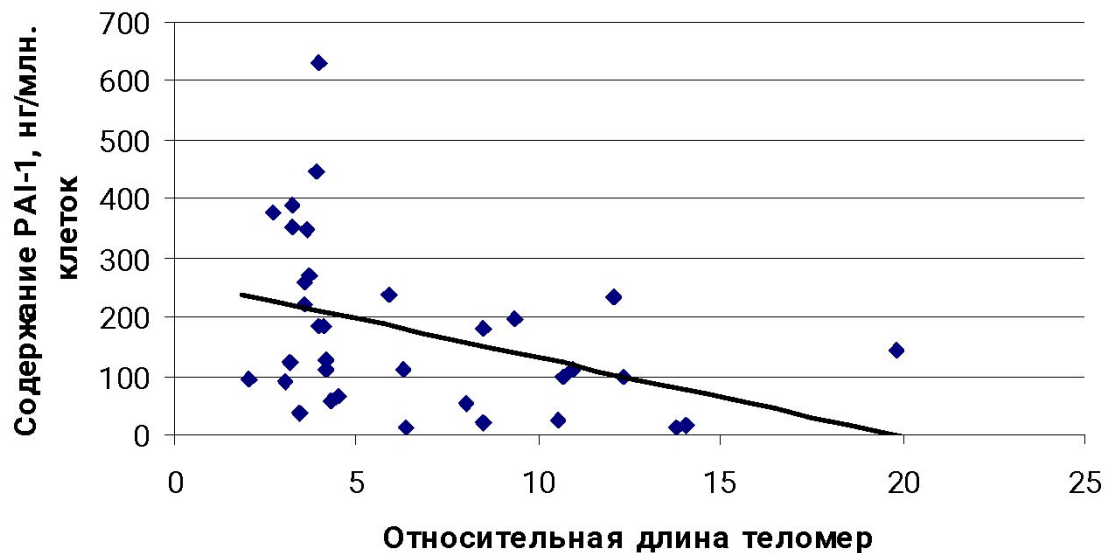


Пациентка П.,
36 лет



Пациентка Г.,
63 года

Содержание PAI-1 в кондиционированной среде и содержание мРНК PAI-1 обратно коррелируют с длиной теломер в МСК-ЖТ



$r = -0,54, p=0,01$

$r = -0,41, p=0,02$

