

Дифференциальная оценка цитокинового профиля у пациентов с атеросклерозом на системном и локальном уровне

Воробьева Дарья Александровна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоорганической химии, Москва, Россия

E-mail: vorobyeva-daria2015@yandex.ru

Воспаление играет важную роль в атерогенезе, приводя к таким осложнениям как инфаркт миокарда и ишемический инсульт. Однако локальные воспалительные процессы в бляшке мало изучены. Ранее мы разработали методику культивирования эксплантов атеросклеротических бляшек *ex vivo*, которая позволила сохранить структуру и жизнеспособность ткани в течение 3 недель. В процессе культивирования в эксплантах обнаруживаются Т-клетки, макрофаги, а также продуцируются цитокины.

Для сравнения системного цитокинового профиля и локальной продукции цитокинов в бляшках мы провели скрининг 41 цитокина с помощью технологии xMAP Lumineх в плазме крови 28 пациентов с атеросклерозом и в кондиционированной среде от эксплантов их атеросклеротических бляшек. Чтобы нивелировать разницу при сравнении плазмы и кондиционированной среды, необходим внутренний контроль из наиболее стабильно экспрессируемых цитокинов, представленный на детектируемом уровне во всех образцах. В рамках динамического диапазона во всей выборке были представлены 3 цитокина: PDGF-AA, CCL22, CXCL10. Для них был рассчитан коэффициент парной вариации по аналогии с методом Vandesompele и соавт. [1]. Наиболее стабильно экспрессируемой парой оказались CCL22 и CXCL10 ($V=1.24$), они использовались для нормализации данных.

Для количественного анализа были отобраны цитокины с экспрессией в пределах динамического диапазона в более чем 60% образцов: CCL11, CCL4, PDGF-AA, PDGF-AB/BB, CCL5, sCD40L, TNF-а. При сравнении нормализованных данных достоверно повышенной ($p<0.05$, критерий Вилкоксона) в бляшке относительно плазмы оказалась представленность CCL4 (0.353 vs 0.035) и TNF-а (0.048 vs 0.023). Достоверно пониженной в бляшке относительно плазмы оказалась представленность CCL5 (0.072 vs 0.224), PDGF-AB/BB (0.011 vs 0.448), sCD40L (0.013 vs 0.449), CCL11 (0.072 vs 0.224). PDGF-AA не демонстрировал различий в нормализованном уровне представленности.

Таким образом, нами предложен способ нормализации данных xMAP по внутренним контролям для одновременной работы с плазмой крови человека и кондиционированной средой от атеросклеротической бляшки. Сравнение уровней представленности провоспалительных цитокинов в двух видах материала позволило выявить те из них, что продуцируются бляшкой, но не выходят в свободную циркуляцию, согласно современным представлениям о формировании градиента цитокинов при их обратимом связывании с гликокаликсом / внеклеточным матриксом или встраивании в мембрану эндотелия. При этом продукция свободно циркулирующих цитокинов, возможно, не ассоциирована непосредственно с атеросклеротическими бляшками и не позволяет формировать градиенты для миграции новых иммунных клеток.

Проект поддержан грантом РФФИ №20-75-10085.

Источники и литература

- 1) Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F. et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol* 3, research0034.1 (2002).