

## Динамика экспрессии генов про- и антиангиогенного факторов на фоне применения ядросодержащих клеток пуповинной крови в экспериментальной модели неоваскулярной ретинопатии

П.В. Белецкая<sup>1</sup>, Ю.А. Демин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования

## Dynamics of Gene Expression of Pro- and Antiangiogenic Factors at the Background of Application of Cord Blood Nucleated Cells in Experimental Model of Neovascular Retinopathy

P.V. Beletskaya<sup>1</sup>, Yu.A. Demin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

<sup>2</sup>Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkov, Ukraine

Использование препаратов криоконсервированной кордовой крови оказывает положительное влияние на клинические синдромы патологических процессов, связанных с неоваскуляризацией [A. Dahlmann-Noor, 2010]. На сегодняшний день выявлено большое количество эндогенных факторов, регулирующих процесс неоваскуляризации, основным активатором которого является VEGF (*Vascular endothelium growth factor*), а ингибитором – PEDF (*Pigment epithelium derived growth factor*) [G. Gao, 2001].

Работа проведена на четырех группах экспериментальных крыс, по 7 особей в каждой. В качестве модели неоваскулярной ретинопатии использовали бринзоламид-индуцированную [Ю.А. Демин, П.В. Белецкая, 2013]. Ретинопатию вызывали у животных 1, 2 (контроль – 13-е сутки) и 3 (контроль – 45-е сутки) групп, 4 – интактная группа. На 13-е сутки эксперимента крысам 1 (основной) группы однократно интравитреально вводили препарат ядросодержащих клеток пуповинной крови (ЯДК ПК) в дозе 0,0125 мл (100 000 клеток). Уровень экспрессии генов VEGF и PEDF в образцах сетчатки глаз крыс определяли полимерно-цепной реакцией в реальном времени (RT-PCR).

В интактной группе животных определялись одинаково низкие уровни экспрессии генов как VEGF, так и PEDF (0,062 и 0,065 соответственно). Во 2 группе было выявлено резкое увеличение экспрессии гена ангиогенного фактора и незначительное повышение антиангиогенного (2,878 и 0,099 соответственно), в 3 группе – нарастание экспрессии PEDF (1,165) с преобладанием VEGF. В основной группе животных установлено резкое повышение и доминирование PEDF по сравнению с VEGF (1,875 и 0,199 соответственно).

Таким образом, сетчатая оболочка глаза крыс в норме продуцирует определенный уровень VEGF и PEDF. Соотношение этих факторов такое, что они уравновешивают друг друга, поддерживают нормальное развитие и функционирование сетчатки. На фоне неоваскуляризации ишемизированной сетчатки увеличивается экспрессия гена VEGF, в ответ на который в дальнейшем, по нашему мнению, увеличивается PEDF. Однако количества последнего недостаточно для блокирования пролиферативных процессов. После однократной интравитреальной инъекции препарата ЯДК ПК отмечены увеличение экспрессии гена PEDF и относительное снижение VEGF. Это свидетельствует о подавлении активности процесса неоваскуляризации в сетчатой оболочке экспериментальных животных.

The use of cryopreserved cord blood preparations has a positive effect on clinical symptoms of pathological processes associated with neovascularization [A. Dahlmann-Noor, 2010]. To date a large number of endogenous factors was found, which regulate neovascularization, the main activator of which is VEGF (*vascular endothelium growth factor*), and the inhibitor is PEDF (*pigment epithelium derived growth factor*) [G. Gao, 2001].

This research was performed in four groups of experimental rats, by seven animals in each group. Brinzolamide-induced model of neovascular retinopathy was applied [Yu.A. Demin, P.V. Beletskaya, 2013]. Retinopathy was induced in the animals of group 1, 2 (control, day 13) and 3 (control, day 45), group 4 was intact. On day 13 of the experiment the rats of group 1 (main) received a single intravitreal injection of cord blood nucleated cells (CB NCs) preparation in a dose of 0.0125 ml (100 000 cells). Real-time PCR (RT-PCR) was implemented to assess VEGF and PEDF genes expression in the samples of rat eye retina.

The intact group of animals had similar low levels of gene expression of both VEGF and PEDF (0.062 and 0.065, respectively). In group 2 we found a sharp increase in angiogenic factor gene expression and a slight increase of antiangiogenic gene expression (2.878 and 0.099, respectively), in group 3 we revealed rise in PEDF expression (1.165), and the prevalence of VEGF was kept. The main group of animals showed a sharp increase and dominance of PEDF if compared with VEGF (1.875 and 0.199, respectively).

Thus, the rat eye retina normally produces a certain level of VEGF and PEDF. The ratio of these factors is such that they balance each other, and maintain a normal development and function of retina. On the background of retinal neovascularization and ischemia the VEGF gene expression increases, and we believe the following PEDF elevation as a response to the latter. However, the amount of the PEDF is insufficient to block the proliferative processes. After a single intravitreal injection of CB NCs preparation we have found an increase in PEDF gene expression and a relative VEGF decrease, that testified in favor of suppression of neovascularization activity in retina of experimental animals.

