

Экзосомы как межклеточные переносчики химерного транскрипта BCR-ABL (p210) и потенциальные маркеры минимальной остаточной болезни у пациентов с хроническим миелоидным лейкозом

Научный руководитель – Бархатов Ильдар Мунерович

Парфененкова А.Н.¹, Кремлев А.А.²

1 - Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: Anna.Parfenenkova@pharminnotech.com*; 2 - Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: 1994kremlev@gmail.com*

Экзосомы - микровезикулы, размеры которых не превышают 150 нм [1]. Они способны выступать в качестве межклеточных переносчиков генетической информации и могут быть причастны к ложноположительным результатам определения минимальной остаточной болезни у рецидивирующих пациентов, перенесших хронический миелоидный лейкоз.

Цель: Оценка потенциального вклада экзосом в результаты определения минимальной остаточной болезни посредством горизонтального переноса химерного транскрипта BCR-ABL p210 на мезенхимные стромальные клетки (МСК) костного мозга здоровых доноров в модели *in vitro*.

Материалы и методы: Экзосомы выделяли из конденсированной среды культуры клеток хронического миелоидного лейкоза линии К-562 методом дифференциального ультрацентрифугирования. Выделенные частицы были проанализированы с помощью метода лазерного корреляционного спектроскопии. Для проверки стабильности частиц и способности их взаимодействия с биологическими системами был определен Дзета-потенциал. Эксперимент по переносу химерного транскрипта проводился в 24-луночном планшете, концентрация МСК - 200000 клеток/мл. Клетки инкубировали 24 часа при 37°C, 5% CO₂. После этого вносили 300 мкл бессывороточной питательной ростовой среды с экзосомами (с порядка 70*10⁶ клеток на лунку) и инкубировали клетки в течение 24 часов при тех же условиях. Кокультивирование К-562 и МСК проводили в 24-луночном планшете с полупроницаемыми перегородками (диаметр пор - 0,4 мкм) при аналогичных условиях.

Результаты: Наибольшее количество везикул в пробе соответствует размерам экзосом. Результаты исследования 15-ти образцов показали, что распределение среднего размера проб по диаметру находится в диапазоне от 51,8 до 107,0 нм со средним значением 78,96±20,03 нм. Дзета-потенциал соответствует стабильным частицам и в среднем равен -29,3±7,4 мВ.

По результатам Real-Time ПЦР содержание химерного транскрипта BCR-ABL в экзосомах колебалось в интервале от 44,42 до 863,79 копий/мл кондиционной среды со значением медианы 154,42 копий. После кокультивирования К-562 и МСК относительное содержание BCR-ABL в клетках-реципиентах стало равным от 0,03 до 11,4 % относительно ABL с медианой в 0,29%.

В результате трансфекции экзосомами относительное содержание химерного транскрипта в МСК здоровых доноров (n=9) находилось в интервале от 0,01 до 15,88 % с медианой 0,11%, что соответствует положительному результату при определении МОБ и доказывает их непосредственное участие в переносе.

Выводы: Таким образом, была доказана возможность горизонтального переноса мРНК гена BCR-ABL (p210) тирозинкиназы с высокой активностью в микроокружение с помощью экзосом *in vitro*. Количественная оценка данного транскрипта соответствует по-

ложительному результату определения минимальной остаточной болезни по стандартам лабораторной диагностики.

Источники и литература

- 1) Shah R., Patel T., Freedman JE. Circulating Extracellular Vesicles in Human Disease // New England Journal of Medicine. 2018. Vol. 379(10). P. 958-966. DOI: 10.1056/NEJMra1704286.