ЗАКЛЮЧЕНИЕ. КБАК и ККМ, полученных от доноров с индуцированной активацией регенерационных процессов, сопоставимо воспроизводят увеличение МА клеток печени и почек здоровых реципиентов, и могут быть использованы для индукции регенераторных процессов в поврежденных органах.

Финансирование исследования: *Госзадания Минздрава.*

Горкун А.А.[1,2], Зурина И.М.[1,2], Шпичка А.И.[2], Королева А.В.[3], Кошелева Н.В.[1,4], Тимашев П.С.[2], Бутнару Д.В.[2], Репин В.С.[1,5], Сабурина И.Н.[1,5]

[1] ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»
[2] Институт регенеративной медицины ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России
[3] Ганноверский лазерный центр
[4] Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова
[5] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России
stgork@gmail.com

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНГИОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА СФЕРОИДОВ ММСК ПК И СКЖТ В ФИБРИНОВОМ ГЕЛЕ

АКТУАЛЬНОЙ ПРОБЛЕМОЙ регенеративной медицины остается быстрое восстановление кровеносной системы при повреждении тканей и органов, а также создание de novo эффективной системы микроваскуляризации, обеспечивающей кровоснабжение биоэквивалентов. Одним из перспективных подходов к решению данного вопроса может стать использование трехмерных культур (сфероидов) аутологичных клеток в сочетании с биопечатью. В качестве источников аутологичных эндотелиальных предшественников и мультипотентных стромальных клеток для получения полноценного капиллярного русла могут быть использованы: Вартонов студень пупочного канатика и подкожная жировая ткань человека.

ЦЕЛЬЮ данного исследования было проведение анализа ангиогенного потенциала индуцированных сфероидов, образованных мультипотентными мезенхимными стромальными клетками пупочного канатика (ММСК ПК) и стромальными клетками жировой ткани (СКЖТ). Сфероиды из ММСК ПК и СКЖТ человека получали в стандартных условиях (37°С; 5% CO_2) 3D культивирования в течение 7сут. на агарозных микропланшетах, приготовленных с помощью форм 3DPetriDishes (Microtissue, USA). Эндотелиальную дифференцировку индуцировали добавлением фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Через 7 сут. часть сфероидов фиксировали для анализа синтеза CD31,Flk-1 и виментина. Часть сфероидов помещали в немодифицированный и модифицированный фибриновые гели, приготовленные с помощью добавления тромбина к фибриногену в соотношении 0,2 U на 1 мг. Модифицировали фибриноген путем добавления к нему 0,0'-бис[2-(N-сукцинимидилсукциниламино)этил]поли(этиленгликоль) в молярном соотношении 5 к 1. Фоторегистрацию осуществляли в приборе для прижизненной цейтраферной микроскопии (ChipManTechnologies, Finland). После индукции дифференцировки сфероиды как из ММСК ПК, так и из СКЖТ кроме виментин+ клеток содержали субпопуляцию CD31+/Flk-1+ клеток. Через 24 ч. после помещения сфероидов ММСК ПК и СКЖТ в гель, наблюдали активную клеточную миграцию в виде тяжей в обоих типах геля. Через 7 сут. CD31+ клетки обеих культур формировали разветвленную сеть тубулоподобных структур, соединяющую отдельные сфероиды. Мезенхимные виментин+ клетки мигрировали разрозненно и прикреплялись к тубулоподобным структурам. В отличие от модифицированного геля, сфероиды ММСК ПК и СКЖТ в течение 3 сут. активно резорбировали немодифицированный фибриновый гель и оседали на поверхность культурального пластика, формируя монослой. При анализе данных, полученных при фоторегистрации, было также установлено, что модифицированный фибриновый гель способствовал образованию большего числа ветвлений в новообразованной сети. Таким образом, было показано, что 3D культивирование ММСК ПК и СКЖТ в индукционной среде обеспечивает эндотелиальную дифференцировку части клеток культуры, подтвержденную синтезом маркеров эндотелиальных клеток (CD31, Flk-1) и способностью к формированию сети тубулоподобных структур in vitro. Клетки сфероидов, в отличие от суспензии клеток, в течение 7 сут. создают упорядоченную сеть, представленную как эндотелиальными, так и мезенхимными компонентами. При этом было выявлено, что модифицированный фибриновый гель является более стабильным субстратом, чем немодифицированный гель, и обеспечивает формирование более разветвленной капилляроподобной сети. Полученные данные имеют фундаментальное и прикладное значение для разработки технологий получения микроциркуляторного русла с помощью сфероидов из аутологичных клеток пациента.

Горностаева А.Н., Бобылева П.И., Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б.

ГНЦ РФ — Институт медико-биологических проблем РАН
HindIII@yandex.ru

ВЛИЯНИЕ КЛЕТОК ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МСК

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) являются перспективным инструментом для регенеративной медицины благодаря трофической, иммуномодуляторной активности, а также низкой иммуногенности. В настоящее время взаимодействие с клетками врожденного иммунитета, в особенности, «обратные эффекты» иммунных клеток на МСК, остаётся малоизученным. Моноциты играют ведущую роль в воспалительной реакции, регулируя реакции адаптивного иммунитета и способствуя активации иммуномодуляторных свойств МСК. В связи с этим изучение взаимодействия МСК с моноцитами представляется особенно актуальным. В данном исследовании особое внимание было уделено «двусторонним эффектам» в контексте этих взаимодействий. В исследовании использовали МСК из жировой ткани человека и моноциты (МН) из периферической крови здоровых добровольцев, полученные с помощью магнитной сепарации по антигену CD14. Для стимуляции МН использовали кондиционированную среду (КС), полученную в результате 72 ч. инкубации смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ). КС содержала провоспалительные медиаторы, такие как ИЛ-8, ФНО-альфа и ИЛ-6.