

Предварительно был проведен эксперимент для выбора оптимального способа активации МН. МН инкубировали в КС от СКЛ постоянно, либо преактивировали, в течение разных промежутков времени и в разном соотношении КС/ростовая среда. Каждые 24 ч. оценивали активацию и жизнеспособность МН. Исходя из полученных данных, было решено преактивировать МН в течение 24 ч. в среде от 3-дневной СКЛ в соотношении КС/полная ростовая среда 1:1. После преактивации МН отмывали и добавляли к МСК для контактного взаимодействия. В сокультуре поддерживалась высокая жизнеспособность МСК, не изменялся трансмембранный потенциал митохондрий МСК и внутриклеточное содержание АФК. Активность лизосомального компартмента МСК снижалась в 2 раза. При сокультивировании МСК с МН резко возрастал уровень ИЛ-6, ИЛ-4 и МСР-1, снижалась продукция ИЛ-8. В незначительных количествах были обнаружены ФНО альфа, MIG и ИЛ-10. После взаимодействия с МСК доля CD69+ МН снижалась, а экспрессия HLA-DR несколько увеличивалась. В 3 раза увеличивалась доля CD163+ МН и интенсивность экспрессии этого антигена, тогда как CD86 не экспрессировался. Описанные изменения цитокинового профиля и экспрессии поверхностных маркеров характерны для противовоспалительного фенотипа МН. Таким образом, при взаимодействии с клетками врожденного иммунитета жизнеспособность аллогенных МСК не снижалась, не изменялись функциональное состояние внутриклеточных компартментов и уровень АФК. При взаимодействии МСК проявляли выраженные иммуномодуляторные свойства и смещали фенотип МН в сторону противовоспалительного. Эти данные указывают на способность МСК модулировать процессы воспаления на ранних этапах, сохраняя при этом свое функциональное состояние.

Финансирование исследования: *Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН «Интегративная физиология» и Стипендии Президента РФ СП-3502.2015.4*

Градов О.В., Яблоков А.Г.

ФГБУН «Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе» РАН
o.v.gradov@gmail.com

МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРИИ НА ЧИПЕ КАК ИНСТРУМЕНТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ И СИНТЕТИЧЕСКОГО МОРФОГЕНЕЗА

Исследования дифференциации стволовых клеток на чипе, входящие в тренд с середины 2000-х гг. [1], привели к выводу о необходимости многофакторного исследования отклика в подобных системах, ведущего к девиациям в пролиферации и дифференциации клеток. Были предложены методики электробиофизического или цитозлектрофизиологического контроля, основанные на измерении импеданса и емкости [2, 3]. Последние реализуемы, в частности — в трассирующем определенных клетки режиме, на КМОП-чипах [3], однако в качестве аналитического сигнала выступает не оптический сигнал, как в КМОП-матрицах и оптических линейках, а электрофизические переменные. Нами в 2012 г. были внедрены КМОП-чипы / КМОП-лаборатории на чипе, на которых удавалось наблюдать гистогенез, регенерацию, а также экспериментальный морфогенез [4–7],

используя шпирен-методы и спекл-методы контроля под различными углами облучения и фиксации аналитического сигнала образца [7, 8]. В настоящей работе предлагается совместить электрофизические / электрофизиологические и оптические методы регистрации активности клеток на чипе, в частности — с использованием преобразователей электрофизических переменных редокс-сигналлинга в оптические переменные. Как показывает практика, для различных стадий и культур клеток, культивированных в различных условиях, а также различающихся по критериям направленной дифференциации, характерны корреляционно различающиеся совокупности сигналов отклика. Исходя из данных, приводимых в постере, предлагается, доказываемся и демонстрируется возможность использования мультипараметрических и конвертирующих КМОП-лабораторий на чипе в качестве инструмента исследований в области экспериментальной регенеративной медицины и синтетического морфогенеза. В качестве одного из приложений гибридного анализа рассматривается планарный патч-кламп на чипе (планарная патч-кламп-спектрометрия), имплементируемый параллельно с оптической регистрацией, дающий возможность привязки данных о дифференциации клеток к данным функциональной каналомики развития.

Литература:

1. Ni X. F. et al. // *Microelectronic Engineering*. — 2008. — Т. 85. — № 5. — С. 1330-1333.
2. Lei K. F. et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. — 2014. — Т. 51. — С. 16-21.
3. Prakash S. B., Abshire P. // *Biosensors and Bioelectronics*. — 2008. — Т. 23. — № 10. — С. 1449-1457.
4. Нотченко А. В., Градов О. В. // *Журнал радиоэлектроники*. — 2012. — № 2. — Ст. 10.
5. Градов О. В., Нотченко А. В. // *Морфология*. — 2012. — Т. 6, № 1. — С. 5–19.
6. Notchenko A. V., Gradov O. V. // *Visualization, Image Processing and Computation in Biomedicine*. — 2013. — Vol. 2, no. 1. — DOI: 10.1615/VisualizImageProcComputatBiomed.2013005968
7. Notchenko A. V., Gradov O. V. // *Visualization, Image Processing and Computation in Biomedicine*. — 2013. — Vol. 2, no. 1. — DOI: 10.1615/VisualizImageProcComputatBiomed.2013005967
8. Oganessian V. A., Notchenko A. V., Gradov O. V. // *Journal of Physical Chemistry & Biophysics*. — 2015. — Vol. 5, no. 3. — P. 75.

Финансирование исследования: *Работа поддержана грантом РФФИ, номер проекта 16-32-00914 До 2016 года работы велись в инициативном порядке без привлечения финансирования из фондов.*

Грибанов И.И.¹, Забелин М.В.¹, Астрелина Т.А.¹, Ульянов А.А.², Покровский К.А.³, Сафонов А.С.¹, Соколов А.А.³, Самойлов А.С.¹

¹ ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России

² ЗАО «Центральная поликлиника Литфонда»

³ Городская клиническая больница № 67
jan-caim@mail.ru

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ КОНДИЦИОННОЙ СРЕДОЙ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ХРОНИЧЕСКИХ АНАЛЬНЫХ ТРЕЩИН

ВВЕДЕНИЕ. Лечение хронической анальной трещины остается одной из нерешенных проблем современной колопроктологии. Одним из методов

лечения является использование внутрисфинктерных инъекций ботулинического токсина, действие которого сохраняется в течение 4–8 мес., однако полное заживление анальной трещины происходит не у всех пациентов. Известно, что при культивировании мезенхимальных стволовых клеток (МСК) кондиционная среда (КС) обладает биологической активностью и может оказывать лечебное действие.

ЦЕЛЬ. изучение эффективности и безопасности лечения хронических анальных трещин ботулиническим токсином совместно с инстилляциями кондиционной средой мезенхимальных стволовых клеток (КС МСК).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. В исследование включены 2 группы пациентов с хронической анальной трещиной: группа с КС МСК (108 пациентов: 67 женщин и 51 мужчина, средний возраст пациентов составил 48.9 ± 10.5 лет) и контрольную группу (109: 58 женщин и 51 мужчина, средний возраст пациентов составил $46,3 \pm 8,5$ лет). Пациентам группы с КС МСК проводилось лечение с использованием интрасфинктерного введения препарата ботулинического токсина с инстилляциями кондиционной среды МСК. Пациентам контрольной группы проводилось стандартная терапия. Проводили клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования. Кондиционную среду для лечения собирали при культивировании МСК на 3–4 пассаже. Оценку МСК проводили согласно стандартам ISCT.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В результате лечения в течение 21 дня в группе пациентов с КС МСК отмечалось быстрое снижение болевого синдрома, нормализацией внутрианального давления и заживлением дефекта анодермы в течение 21 дня у 108 (93%) пациентов по сравнению с контрольной группой 76 (73,1%) ($p = 0,03$). В течение 12 мес. после лечения положительные результаты сохранялись в группе с КС МСК у 78 (75,8%) пациентов по сравнению с контрольной группой у 64 (68,8%) ($p = 0,048$). Неудовлетворительные результаты лечения (рецидив заболевания, наличие стриктуры анального канала, рубцовой деформации перианальной области, свищей, недержания газов и кишечного содержимого) наблюдались в группе с КС МСК у 3 (2,8%) пациентов по сравнению с контрольной группой у 8 (8,6%) пациентов ($p = 0,047$). Нежелательных явлений и реакций у пациентов на инсталляцию КС МСК не отмечали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таким образом, представлены результаты безопасности и эффективности лечения хронических анальных трещин ботулиническим токсином совместно с КС МСК.

Григорьев Т.Е., Луканина К.И., Антипова К.Г., Загоскин Ю.Д., Крашенинников С.В., Чвалун С.Н.

НИЦ «Курчатовский институт»
timgrigo@yandex.ru

ВЫСОКОПРИСТЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Регенеративная медицина – наиболее активно развивающаяся область современной медицины. Трудно переоценить социальный и экономический эффект применения искусственных органов для трансплантации и тестирования новых лекарственных и косметических средств. Значительные успехи в молекулярной и клеточной биологии сместили медицинские методики в область восстановительной медицины. Однако предстоит решить еще множество задач. Одна из них это матрикс – «скелет» будущего органа или ткани. Применение матриксов натурального происхождения, аллогенных или ксеногенных, вызывает ряд технических и юридических проблем иммунного ответа, источника исходного биоматериала, возможных проблем с биомеханикой матрикса. Разработка синтетического матрикса позволит решить эти проблемы и довести операции с применением таких клеточных продуктов до рутинного уровня. Матрикс должен быть изготовлен из биосовместимого разлагаемого или неразлагаемого природного или синтетического полимера, иметь соответствующую морфологию и настраиваемые физико-химические и механические характеристики. С применением технологий сублимационного формования была проведена разработка получения высокопористых материалов на основе биоразлагаемых полимеров природного (хитозан, коллаген) и синтетического (полилактид) происхождения. Путем варьирования параметров кристаллизации растворителя перед сублимационной сушкой были получены материалы с диаметром пор от 20 до 120 мкм. Применение методик температуроиндуцированного фазового расщепления позволило получить скаффолды с мультимодальным распределением по диаметру пор. Были получены материалы с анизотропными порами, изучено влияние морфологии и структуры материалов на их физико-механические и биологические свойства. Для выявления влияния молекулярной массы полимера на структуру и свойства использовали полилактиды с молекулярной массой 50–450 кДа, хитозаны с молекулярной массой 50–600 кДа. Степень кристалличности полилактида в полученных материалах была определена на основании данных дифференциальной сканирующей калориметрии. Обнаружено существенное изменение характера термограмм в случае пористых материалов. Степень кристалличности полимера в губчатых материалах при этом примерно одинакова и несколько ниже (32–40%), чем максимальная (50–55%) степень кристалличности поли-L-лактида. Степень кристалличности возможно определена режимом заморозки раствора перед сублимацией. Температура плавления снижается в случае пористых образцов.

Финансирование исследования: *Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ 17-03-01361 и 15-29-01252.*