

цины. Также исследуется возможность использования СВФ в лечении острой реакции «трансплантат против хозяина», хронической аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуры, ревматоидного артрита, болезни Крона и других заболеваний.

**Карамова А.Э.¹, Воротеляк Е.А.²,
Альбанова В.И.¹, Нефедова М.А.¹,
Мончаковская Е.С.¹**

¹ ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России

² ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН
karamova@cnikvi.ru

ВРОЖДЕННЫЙ БУЛЛЕЗНЫЙ ЭПИДЕРМОЛИЗ. ДИАГНОСТИКА. ТЕРАПИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ АЛЛОГЕННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

ВВЕДЕНИЕ. врожденный буллезный эпидермолиз (ВБЭ) — это группа генодерматозов, обусловленная мутациями в генах структурных белков дермо-эпидермального соединения, которые приводят к образованию пузырей и/или эрозий в ответ на незначительную механическую травму. Выделяют 4 основных типа и 31 клинический подтип ВБЭ. Тяжелые подтипы заболевания характеризуются наличием длительно не заживающих эрозий и язв, которые могут сохраняться на коже от 1 месяца до нескольких лет.

ЦЕЛЬ. Оценить безопасность и эффективность терапии методом внутрикожного введения 21 до 50 лет (4 мужчин и 11 женщин): 5 больных с пограничным буллезным эпидермолизом (ПогрБЭ) и 10 больных с рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом. Всем больным диагноз установлен клинически и подтвержден методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования (ИАК). У всех больных были выбраны длительно незаживающие эрозии для введения препарата аллогенных фибробластов в концентрациях 5×10^6 кл/мл, 10×10^6 кл/мл и 20×10^6 кл/мл. В аналогичные эрозии проводились инъекции с раствором 2% альбумина или 0,9% раствора физиологического раствора. Оценка эффективности терапии проводилась через 2 нед. после проведенного лечения, изменения экспрессии структурных белков дермо-эпидермального соединения проводилось методом ИАК.

РЕЗУЛЬТАТЫ. После введения 5×10^6 кл/мл препарата фибробластов 4 больным с РДБЭ у больных с первоначальными размерами эрозий 2×3 см (у трех больных) и 3×4 см через 14 дней наблюдалась полная эпителизация дефектов. У больной с размером эрозии 2×2 см через 14 дней наблюдалось незначительное уменьшение размера эрозии. 1 больной РДБЭ проведено лечение в разных концентрациях 10×10^6 кл/мл и 20×10^6 кл/мл на основе альбумина и 20×10^6 кл/мл на основе физиологического раствора. Через 14 дней после введения 10×10^6 кл/мл на основе физиологического раствора наблюдалась полная эпителизация эрозии, а после введения 10×10^6 кл/мл и 20×10^6 кл/мл на основе физ. раствора наблюдалось незначительное уменьшение размеров эрозий. 2 больным РДБЭ с эрозиями, схожими по размеру, (3×4 см и 3×5 см) проведены инъекции фибробластов в концентрации 20×10^6 кл/мл. Через 14 дней у обоих больных наблюдалось сокращение площади эрозий более, чем в 2 раза. После 2-крат-

ного введения 20 млн кл/мл фибробластов наблюдалось незначительное сокращение размеров эрозии. В результатах ИАК после введения различных концентраций фибробластов и контрольных препаратов более выраженное повышение экспрессии отмечалось после введения фибробластов в концентрации 20×10^6 кл/мл.

ВЫВОДЫ. Полученные данные указывают на то, что метод внутрикожного введения фибробластов может являться эффективным и безопасным в лечении длительно незаживающих эрозий при пограничном и дистрофическом врожденном буллезном эпидермолизе.

**Еремичев Р.Ю.¹, Макаревич О.А.¹,
Кулебякин К.Ю.^{1,2}, Александрушкина Н.А.¹,
Макаревич П.И.¹**

¹ Институт регенеративной медицины
МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова

² Факультет фундаментальной медицины
МГУ им. М.В. Ломоносова
romaneremichev@gmail.com

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ IN VITRO

Слизистая оболочка матки (эндометрий) женщины репродуктивного возраста обладает уникальной для человека способностью к ранозаживлению путем регенерации во время менструации [1]. Для осуществления данного процесса сохранившимся клеткам необходимо заместить часть утраченных таким образом, чтобы полностью восстановить нормальную структуру эндометрия. Во время менструации они подвергаются воздействию различных стимулов, в том числе паракринных. Известно, что менструальная кровь отличается по составу от периферической и может быть определена как отделяемое из раны [2]. Мы предположили, что в менструальной крови содержатся уникальные растворимые факторы, необходимые для регенерации эндометрия после повреждения в ходе менструации. Для проверки данной гипотезы мы выделили мезенхимные стромальные клетки эндометрия (эМСК) центрифугированием менструальной крови на 15% йодиксаноле при 500 g в течение 40 мин. Полученные эМСК культивировали в среде DMEM/F-12 с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (ФБС) в стандартных условиях (37°C , 5% CO_2). На 4 пассаже был определен иммунофенотип клеток: CD73+, CD90+, CD105+, CD146+/-, CD45-, CD14-, CD20-, CD34-, HLA-DRII-. На 7 пассаже от того же донора одновременно получали сыворотку периферической крови (СПК) и сыворотку менструальной крови (СМК). После разведения образцов DMEM/F12 и выравнивания концентрации белка объемная доля СПК и СМК в полученных средах составила 10% и 9,3% соответственно. В течение 5 сут. эМСК культивировали с добавлением СМК, СПК или ФБС. Оценку морфологии клеток осуществляли с использованием системы прижизненной съемки Incucyte ZOOM. При культивировании эМСК с ФБС или СПК клетки были более распластанными, имели неровные края и зернистость цитоплазмы вокруг ядра. При культивировании с СМК в первые 72 ч. клетки приобретали веретенообразную форму, с вытянутыми заостренными концами и более ровными краями. Зернистость цитоплазмы вокруг ядра практически

отсутствовала. После 72 ч. культивирования, по достижении 100% конfluenceности клетки теряли веретенообразную форму, становясь полигонально-звездчатыми. Края оставались ровными. Значительная часть клеток уменьшалась в размере. Полученные данные позволяют утверждать, что в СМК содержатся уникальные растворимые факторы, изменяющие морфологию ЭМСК. Возможно, феномен, полученный нами *in vitro*, отражает события, происходящие *in vivo* при ранозаживлении эндометрия путем регенерации во время менструации.

Литература:

1. Maybin, J.A. and H.O.D. Critchley, Menstrual physiology: implications for endometrial pathology and beyond. *Hum Reprod Update*, 2015. 21(6): p. 748-61.

2. van der Molen, R.G., et al., Menstrual blood closely resembles the uterine immune micro-environment and is clearly distinct from peripheral blood. *Hum Reprod*, 2014. 29(2): p. 303-14.

Финансирование исследования: *Работа выполнена в рамках госзадания МГУ и с использованием оборудования, приобретенного в рамках Программы Развития МГУ им. М.В. Ломоносова.*

**Чаленко Я.М., Собянин К.А.,
Сысолятины Е.В., Лаврикова А.Я.,
Ермолаева С.А.**

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
dremolaeva@mail.ru

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ФАКТОРА РОСТА ГЕПАТОЦИТОВ ДЛЯ УСКОРЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТОЗЕ

Острый гепатоз (острая токсическая дистрофия печени) чаще всего является следствием тяжелых токсических отравлений, в том числе, алкоголем. Начало заболевания сопровождается увеличением печени и нарушением ее функций, при прогрессировании болезни происходит развитие тяжелой печеночной недостаточности. В тяжелых случаях возможен летальный исход, а в более легких случаях заболевание переходит в хроническую форму. Регенерация печени при остром гепатозе координируется набором факторов роста, среди которых центральную роль играет фактор роста гепатоцитов (HGF). Рецептор фактора роста гепатоцитов (HGFR) контролирует пролиферацию и подвижность гепатоцитов, а также клеток эндотелия и ряда эпителиальных клеток. Терапевтическое использование рекомбинантного HGF затруднено вследствие необходимости посттрансляционной модификации белка и малой биодоступности. Фактор инвазии бактерии *Listeria monocytogenes* InIB специфически связывается с HGFR через LRR-домен, приводя к активации рецептора. Целью работы была оценка возможности использования InIB для регенерации печени при экспериментальном остром гепатозе. Мышам линии BALB/c интрагастрально был введен 50% раствор CCl₄ в оливковом масле (4,5 мл/кг). HGFR-связывающий домен InIB был клонирован из клинического штамма *L. monocytogenes*. Очищенный препарат белка, обозначенного InIB321/15, введен внутривенно на 4-й и 7-й день в дозе 1 мг/кг. Биохимические, морфологические и гистологические параметры печени изучены на 7, 11, 15, 18 и 21 дни. В качестве контроля использовали

рекомбинатный HGF. По сравнению с контрольными животными, не получающими лечения, у животных, получавших InIB 321/15 и HGF, наблюдалось уменьшение массы печени и восстановление биохимических показателей, начиная с 7-х сут. Уровень аланинаминотрансферазы (ALT) у мышей, получивших препарат InIB 321/15, достиг нормы на 15-й день, в то время как у мышей, получавших препарат HGF — на 18-й. Гистологические данные находились в соответствии с морфологическими и биохимическими показателями. *In vitro* анализ эффекта InIB 321/15 на клетки HepG-2 и HUVEC показал, что InIB 321/15 в концентрации 7 мкМ стимулирует автофосфорилирование HGFR и активность нижележащих путей: в частности, наблюдалось фосфорилирование Erk1/2 киназы. Митогенная активность InIB 321/15 была показана на указанных клетках по увеличению митотического индекса (19,6 и 5,8, соответственно), что превышало показатели, полученные для HGF (13,6 и 3,6, соответственно). Обработка InIB 321/15 приводила к перестройкам цитоскелета и увеличению подвижности клеток. В целом, полученные результаты показывают, что бактериальный агонист HGFR, белок InIB 321/15, стимулирует регенерацию печени при остром гепатозе, воздействуя на сигнальные пути, контролируемые рецептором HGFR.

Финансирование исследования: *РНФ № 16-15-00091.*

Жидкова О.В., Ездакова М.И.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН
flain-fish@yandex.ru

ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КАК АКТИВАТОР МИГРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) рассматривают как перспективный инструмент терапии воспалительных заболеваний и травм, благодаря их способности дифференцироваться в различные клеточные типы, длительному культивированию *in vitro* и наличию иммуномодулирующих свойств. При системном введении МСК до сих пор не удалось достичь значительного уровня их сайт-специфической миграции. Предполагается, что механизмы миграции МСК в область повреждения подобны таковым у лейкоцитов. Вероятно, эндотелиальные клетки (ЭК) могут влиять на подвижность МСК и способность к миграции. Провоспалительные цитокины, синтезируемые иммунными клетками в области повреждения, приводят к активации эндотелия. Активированный эндотелий обладает высокой паракринной активностью и синтезирует цитокины с плейотропным действием ИЛ-6 и ИЛ-8. Целью данной работы являлось изучение паракринного влияния эндотелиальных клеток на подвижность МСК. МСК выделяли из стромально-васкулярной фракции жировой ткани здоровых доноров и культивировали в стандартных условиях. Эндотелиальные клетки (ЭК) получали из пупочной вены и также культивировали при стандартных условиях. Для получения кондиционированной среды (КС) ЭК активировали ФНО-альфа (10 нг/мл), через сутки среду заменяли на свежую, инкубировали 24 ч., затем КС собирали и хранили при -30°C. Способность к ненаправленной миграции МСК определяли в модели «рана». Для этого на монослой МСК